

Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije
Univerzitet odbrane Republike Srbije

DOKTORSKA TEZA

**Povezanost serumskih vrednosti adipokina sa težinom
povrede, kliničkim tokom i ishodom zarastanja nakon
frakture dugih kostiju u dece**

Mentor:

Doc. dr sci. Srđan Starčević

Kandidat:

Prim. mr sci. Zoran D. Paunović

septembar 2019.

S a d r ž a j:

1.0 UVOD.....	4
1.1 EMBRIONALNI RAZVOJ DUGIH KOSTIJU	4
1.2 KARAKTERISTIKE DEČJE KOSTI	6
1.3 STVARANJE KOŠTANOG TKIVA.....	10
1.4 TIPOVI KOSTI.....	11
1.5. KONTROLNI MEHANIZMI KOŠTANOG RASTA	12
1.6 VASKULARIZACIJA DEČJE KOSTI.....	14
1.7 PRELOMI DUGIH KOSTI U DEČJEM UZRASTU	15
1.8 PRELOMI SPECIFIČNI ZA DEČJI UZRAST	18
1.8.1 Najčešći prelomi u dečjem uzrastu	20
1.8.2 Klinička slika i dijagnoza	20
1.8.3 Lečenje	21
1.8.4 Zarastanje preloma	21
1.8.5 Remodelovanje	24
1.9 ADIPOKINI I NJIHOV UTICAJ NA METABOLIZAM KOSTI.....	26
1.9.1 Referentne vrednosti leptina i adiponektina u dece	31
1.10 UTICAJ INFLAMATORNIH CITOKINA NA LONGITUDINALNI KOŠTANI RAST	32
2.0 HIPOTEZA	33
2.1 CILJEVI.....	33

3.0 MATERIJAL I METODE	34
3.1 VRSTA STUDIJE	34
3.2 UZORKOVANJE	34
3.3 PROTOKOL ISTRAŽIVANJA	35
3.4 VARIJABLE KOJE SE MERE U STUDIJU	36
3.5 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	36
4.0 REZULTATI.....	37
4.1 FORMIRANJE KALUSA	37
4.2 ANATOMSKA LOKALIZACIJA POVREĐENE KOSTI	45
4.3 VRSTA PRELOMA I VREDNOSTI CITOKINA.....	51
4.4 ORTOPEDSKA TERAPIJA	54
4.5 DUŽINA IMOBILIZACIJE	59
5.0 DISKUSIJA	64
6.0 ZAKLJUČAK	72
7.0 LITERATURA	74

1.0 UVOD

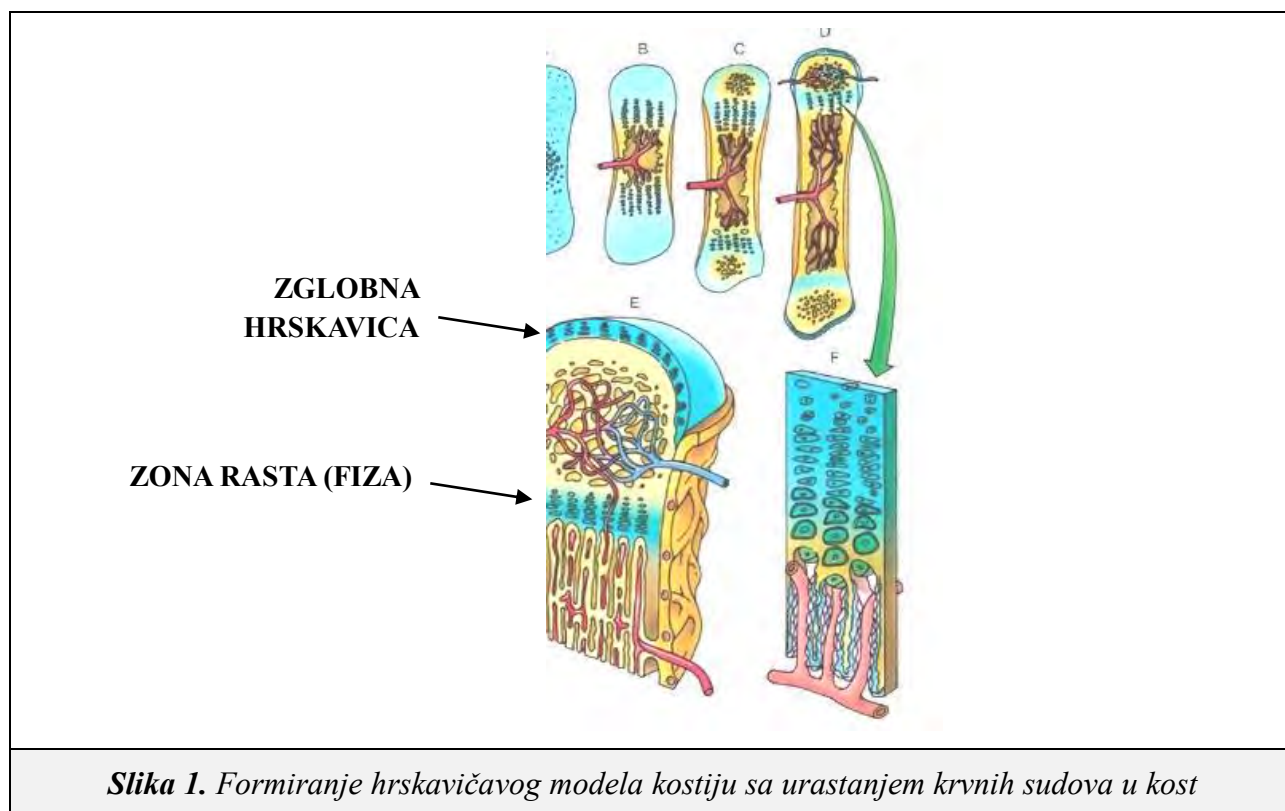
1.1 EMBRIONALNI RAZVOJ DUGIH KOSTIJU

Razvoj skeleta se sastoji od tri izvora [1]:

- a) **Kranijalnih ćelija iz neuralnog grebena** - iz kojih nastaju pljosnate kosti i klavikula,
- b) **Somita** - iz kojih nastaje aksijalni skelet,
- c) **Mezodermalnih lateralnih ploča** - iz kojih nastaju duge kosti apendikularnog skeleta.

Razvoj dugih kostiju ekstremiteta počinje formiranjem mezenhimalnih modela kostiju za vreme 5. nedelje embrionalnog razvoja i to kondenzacijom mezenhimalnih ćelija i pojavom pupoljaka ekstremiteta. U daljem toku razvoja mezenhimalne ćelije postižu visoku ćelijsku gustinu i u toku 6. nedelje embrionalnog razvoja mezenhimalni koštani model se pretvara u hijalini hrskavičavi model hondrifikacijom. Diferencijacijom mezenhimalnih ćelija koje potiču iz lateralne ploče mezoderma, postaju hondrociti i počinje proces enhondralne osifikacije koja je karakteristična za duge kosti ekstremiteta. Proces osifikacije ili osteogeneza počinje 6-7. nedelje embrionalnog razvoja i nastavlja se do 25. godine života. Enhondralna osifikacija se sastoji iz zamene hijaline hrskavice koštanim tkivom. Ona podrazumeva način stvaranja kostiju iz primarnog hrskavičavog modela. Hondrociti proliferišu brzo i proizvode ekstracelularni matriks da bi formirali hrskavičavi model kosti. Ovaj model uključuje hijalinu hrskavicu koja formira oblik buduće kosti kao i okolnu membranu – perihondrijum. Hondrociti najpre hipertrofišu blizu centra koštanog modela i stvaraju kolagen X i fibronectin, koji se ugrađuju u matriks, koji inače proizvode. Matriks kalcifikuje i dolazi do apoptoze hondrocita što stvara pukotine u hrskavičavom modelu kosti u koje urastaju krvni sudovi.

Krvni sudovi koji su urasli u hrskavičavi model dalje proširuju pukotine i formiraju medularni kanal (*slika 1*). Takođe, krvnim sudovima se dopremaju i osteogene ćelije koje izazivaju transformaciju perihondriuma u periostijum.



Osteoblasti zatim formiraju koštanu ploču ispod periostijuma u području dijafize, što se naziva periostni kolar ili primarni centar osifikacije. Primarni centar osifikacije se javlja pri put u 8. nedelji embrionalnog razvoja a do 12. nedelje je prisutan na svim dugim kostima ekstremiteta. Primarni centri osifikacije svih kostiju su prisutni na rođenju. Dok koštano tkivo zamenjuje hrskavičavo u predelu dijafize, hrskavica nastavlja da prolifериše prema krajevima kostiju povećavajući dužinu istih. Te proliferativne regije u stvari predstavljaju zone rasta kostiju ili fize koje obezbeđuju rast kostiju u dužinu posle rođenja i u ranoj mladosti. Modeli kostiju gornjih ekstremiteta se pojavljuju pre modela donjih ekstremiteta a okoštavanje se odvija po proksimalno distalnom redosledu. Na rođenju dijafize kostiju kod dece su uglavnom okoštale ali epifize su još uvek hrskavičave. Posle rođenja, slični procesi okoštavanja se pojavljuju i u epifizama i formiraju se sekundarni centri okoštavanja u prvim godinama života [2]. Prvi sekundarni centar osifikacije se javlja poslednje nedelje intrauterinog razvoja i to na kolenu, tačnije na distalnom femuru i proksimalnoj tibiji. Osifikacija epifize se odvija radijalno a samo artikularne površine i zone rasta ostaju hrskavičave.

1.2 KARAKTERISTIKE DEČIJE KOSTI

Dečija kost se bitno razlikuje od kosti odraslih. Ima znatno veću elastičnost i otpornost na stres i sklona je plastičnoj deformaciji. Periost dečijih kostiju je deblji i labavije pričvršćen za kost nego kod odraslih. U toku rasta dolazi do promene građe i funkcije kosti. Različita urođena (osteogenesis imperfecta, osteopetrosis) ili stečena (smanjena upotreba, myelomenngocele) oboljenja utiču na kapacitet i formiranje pojedinih delova kosti. Skelet dece je stalno promenjiva veličina. Podlozan je stalnim strukturnim i funkcionalnim promenama. Njegov rast i razvoj kontroliše niz faktora kao što su unutrašnji (genetski) i spoljni (uticaji okoline). Dečija kost sadrži i zonu rasta – fizu, koja predstavlja slabu tačku prilikom dejstva sile [3]. Oštećenja zone rasta mogu da dovedu do akutnog ili hroničnog poremećaja rasta dečje kosti. Razlikuju se četiri glavna morfološko-funkcionalna segmenta dečije kosti: dijafiza, metafiza, fiza i epifiza. Svaki od ovih segmenata nastaje i menja se procesom enhondralnog okoštavanja. Na dijafizama i metafizama ono je potpomognuto intramembranoznim i periostalnim procesom stvaranja kosti. Najzad, procesom remodelacije, iz ovih celina, nastaje zrela, kortikalna i spongiozna kost odraslih. Svaki od segmenata ima karakterističan način lomljenja kao i specifičnosti zarastanja [3].

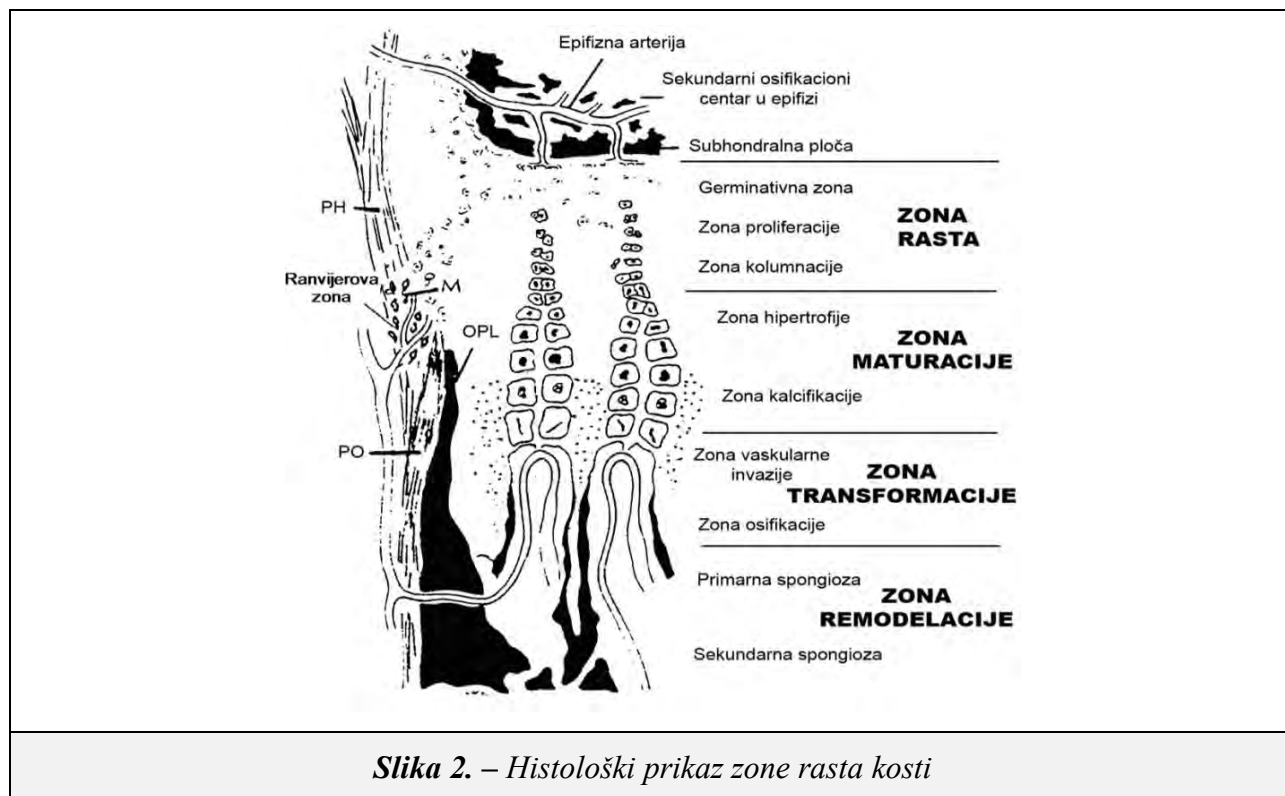
Dijafiza kosti kod mlađe dece dobro je vaskularizovana i na poprečnom preseku ima porozan, sunderast izgled. Sa rastom dolazi do povećanja čvrstine i smanjenja poroznosti. Zbog toga se karakteristike preloma i zarastanja dijafiznih preloma menjaju uzrastom. Dijafiza je najveći deo duge kosti. Nastaje periostalnim, membranoznim okoštavanjem endhondralnog modela. Na rođenju dijafize su građene od laminarne kosti koja nema Haverzovih sistema. Periostalnom aktivnosti vrši se membranozna apozicija kosti i njeno proširenje, a endostalnom aktivnosti remodeliranje sa formiranjem koštane šupljine i koštane srži. Sazrevanjem lamelarna kost sa osteonom koji se konstantno remodelira postaje osnovni nalaz u dijafizi.

Metafiza je tanja i poroznija od susedne dijafize jer u njoj postoje trabekularne šupljine. U ovim šupljinama se nalaze fibrovaskularni elementi koji povezuju unutrašnji prostor spongioze sa subperiostalnim prostorom metafize. Metafize su prošireni deo kosti na krajevima dijafize koji karakterišu smanjenje debljine kortikalne i povećanje trabekularne kosti. Procesima osteolitičke, osteoklastičke i osteoblastičke aktivnosti u njoj se odigrava formiranje primarne spongioze i remodeliranje i stvaranje mnogo zrelije sekundarne spongioze. Njen korteks se progresivno tanji prema fizi i znatno je porozniji. Kroz pore prolaze fibrovaskularni elementi koji spajaju metafizarnu srž sa subperiostalnim prostorom. Ove anatomske karakteristike utiču na specifičnost preloma u metafizarnom regionu.

U periodu brzog rasta dugih kostiju u epifizarnom delu metafize nalazi se zona primarne spongioze u susjedstvu sa zonom hipertrofičnih ćelija fize sa pretežno longitudinalnom orijentacijom trabekula. Usporenjem rasta u adolescentnom periodu ili kod metafiza kratkih kostiju nalazi se uglavnom horizontalna orijentacija trabekula. Varijacije trabekularne orijentacije utiču na otpornost metafiza na stres i predisponiraju neke specifične prelome.

Fiza se drugačije zove hrskavica ili ploča rasta, jer je njena glavna funkcija enhondralni rast kosti u dužinu i širinu. Otvorene ploče rasta su karakteristika nezrelog skeleta. Zatvaranjem fize prestaje i rast kosti u dužinu. Ono se javlja u određenom uzrastu za svaku pojedinačnu kost. Na longitudinalnom preseku zone rasta, nezavisno od ravni (frontalna ili sagitalna), razlikuju se funkcionalne i morfološke zone koje nastaju zbog sukcesivnih promena u veličini, obliku, orijentaciji i funkciji hondrocita. Fiza je najosetljivija upravo u zoni rasta. Sekundarna spongioza je sunderasta i amortizuje sile koje deluju na kost. Od nje se dalje nastavlja metafiza kosti [3,4]. Fiza ili hrskavica rasta ili spojna ploča je najvažniji deo endohondralne osifikacije [5,6,7,8]. Osnovna njena funkcija je brzi, integrisani longitudinalni i dijametralni rast. Makroskopski postoje dva osnovna tipa ploče rasta: *diskoidni* i *sferični*. Većina primarnih fiza dugih kostiju su diskoidne. One su incijalno, uglavnom transverzalno postavljene. Kasnije pod dejstvom biomehaničkog stresa i odgovarajućeg rasta fize poprimaju trodimenzionalan oblik zadržavajući osnovnu pločastu prirodu. Sa metafizarne strane pojavljuju se hrskavičava ispupčenja koja se označavaju kao mamilarni nastavci. Ovi nastavci i promena kontura fize povećavaju unutrašnju stabilnost fize naročito prema klizanju i rotaciji. Mnoge fize zadržavaju svoj osnovni oblik tokom rasta, a kod nekih se dešavaju velike promene oblika kao kod proksimalne i distalne fize femora i proksimalne fize humerusa. Pod dejstvom sila dešavaju se i određene adaptivne histološke promene tako da izvesne epifize dobijaju građu tenzionih fiza odnosno apofiza. Takođe neke apofize mogu da sadrže diskoidnu ploču rasta što je karakteristika epifiza. S obzirom da se kroz fize prelamaju tenzione i kompresione sile u različitom stepenu sa sekundarnim adaptivnim promenama ispravnije je govoriti o pretežno epifizarnoj i pretežno apofizarnoj strukturi. Rezultatna tenzionih sila pojedinih mišića neretko se javlja kao sila kompresije na istu fizu. Histološke razlike među pojednim fizama dolaze od stepena sazrevanja fize i različitog stresa. Varijacije se ogledaju u broju ćelija u svakoj zoni, u visini fiza, razlikama Ranvijerove zone i specifičnim modifikacijama ćelija kao što su zamena hipertrofične fibrikartilaginoznom zonom. Stalne promene građe i oblika fiza tokom rasta utiču na njihovu osetljivost na traumatu. Osnovna citoarhitektonika fiza ostaje karakteristična i nepromenjena od fetalnog života do skeletnog sazrevanja [9,10,11,12]. Ona se histološki deli u četiri zone: germinativna, proliferativna (sloj palisada), hipertrofična i zona enhondralne osifikacije (*slika 2*).

U germinativnoj zoni odigravaju se mitoze ćelija u longitudinalnom i trasverzalnomo smeru. Prva i druga zona imaju obilan ekstracelularni matriks i veliki stepen mehaničke otpornosti. Sloj hipertrofije i transformacije ćelija, ima oskudan ekstracelularni matriks. Strukturalno je slabo mesto. Sa metafizarne strane se nalazi zona osifikacije. S obzirom na njenu građu i prelaz dve mehaničke zone ona je najslabije mesto i zbog toga najčešće zahvaćeno prelomom u predelu fize. U nekim stanjima ili bolestima (rahitis np) hipertrofični sloj je proširen i kao mehanički nestabilan predisponira akutni ili hronični deplasman epifize. Kako se prelom dešava kroz hipertrofični sloj, germinativni epitel ostaje uz epifizu i najčešće nije povređen. Prelomi u predelu spojne hrskavice mogu dovesti do oštećenja zone rasta direktnom povredom ili indirektno preko prolaznog ili trajnog oštećenja vaskularizacije. Fizu treba razlikovati od epifize ili sekundarnog osifikacionog centra. Fiza je spojena i sa metafizom Ranvijerovom zonom i LaCroix-ovim prstenom. Ranvierovu zonu čine klinasto postavljene germinativne ćelije koje se nastavljau na fizu i doprinose njenom dijametralnom rastu [13]. U Ranvierovoj zoni se nalazi tri vrste ćelija: osteoblasti, hondrociti i fibroblasti. Osteoblasti formiraju koštani sloj prema metafizi. Hondrociti doprinose dijametralnom rastu, a fibroblasti ograničavaju zonu i povezuju za okolni perihondrijum. LaCroix je fibrozna struktura koja se nastavlja fibroblastima Ranvierove zone i periostom ka metafizi. Ona predstavlja jaku mehaničku potporu hrskavično-koštanom delu fize [14].



Epifize se nalaze na oba kraja svih dugih kostiju, izuzev na metakarpalnim, metatarzalnim i kostima falanga prstiju, koje imaju epifizu samo na jednom kraju. Sve epifize su na rođenju potpuno hrskavičave, i nazivaju se hondroepifize, osim distalne epifize femura, u kojoj već na rođenju postoji sekundarni centar okoštavanja. Centri okoštavanja se pojavljuju određenim hronološkim redom specifičnim za svaku kost. Rastom i transformacijom sekundarnog centra okoštavanja, hrskavica epifize do kraja rasta biva potpuno zamenjena koštanim tkivom, koje ostaje pokriveno samo tankim slojem zglobne hrskavice. U toku rasta, spoljašnju površinu epifize čini zglobna hrskavica ili perihondrijum. Perihondrijum se neprimetno stapa sa periostom u nivou Ranvijerove zone fize i igra ulogu u centrifugalnom proširenju fize. U normalnim okolnostima artikularna hrskavica nema sposobnosti kalcifikacije i osifikacije. S druge strane artikularna hrskavica nema reparativni osteogeni odgovor koji je neophodan za zarastanje kosti. Mišićna vlakna, ligamenti i tetive se mogu pripajati direktno na perihondrijumu, koji je čvrsto spojen s epifiznom hrskavicom sa druge strane, što doprinosi nastanku određenih specifičnih epifiznih preloma. Sa druge strane perihondrijum prelazi neprimetno u periost i na taj način ojačava biomehanički epifizo-metafizarni spoj. Iako se u početnoj fazi histološki teško razlikuje zglobna hrskavica od preostalog dela hrskavice ipak se kasnije uspostavljaju dva tipa hrskavice epifize koje se razlikuju fiziološki i biomehanički [15,16]. Pojavom koštanih struktura unutar hondroepifize (sekundarni osifikacioni centar ili sekundarno osifikaciono jezgro) one prelaze u hondroosalne epifize. Sekundarni centar osifikacije se pojavljuje u vremenu koje je karakteristično za pojedine epifize i postepeno se proširuje do kompletne zamene hrskavice u vreme koštanog sazrevanja. Samo zglobna hrskavica ostaje i posle završenog sazrevanja. Osifikacioni centar ne samo da se širi već se i modelira tako da prema fizi ostaje vidljiva subhondralna ploča, paralelna sa metafizom, radiografski transparentna. Kod nekih hondroepifiza postoje varijacije u pojavi i razvoju osifikacionih centara što može praviti teškoće u dijagnostici povreda u tom regionu. Pojava i razvoj osifikacionih centara predstavlja složen biomehanički kompleks. Promena statodinamike odnosno povećane rigidnosti epifize utiče na osetljivost na prelome predela epifiza, fize i metafiza [17].

Apofize nastaju na mestima pripoja snažnih tetiva za kost, kao odgovor na snažne sile istezanja. Apofize rastu delimično apozicijom kosti, a delimično iz svoje fize, ali ne doprinose longitudinalnom rastu kosti. Karakteristične povrede apofiza su avulzivne frakture, koje nastaju iznenadnom, prekomernom, mišićnom kontrakcijom [3,4,18]. Zbog veće elastičnosti, dečija kost je u stanju da apsorbuje više energije od kosti odraslih, pre nego što popusti i slomi se. U toku dejstva sile koja je manja od sile elastičnosti kosti, kost se, posle privremene deformacije, a nakon prestanka dejstva sile, vraća u prvobitni oblik.

Ukoliko je sila veća od sile elastičnosti kosti, ali nedovoljna da izazove prelom, dolazi do trajne plastične deformacije, koja se ne popravlja posle prestanka dejstva sile. Veće sile dovode do popuštanja kosti i preloma [3,4,18]. Plastična deformacija je odgovorna za nastanak preloma karakterističnih samo za dečiji uzrast [19].

Periost kod dece je debelo fibrozno tkivo koje omotava kost. On je labavo vezan u predelu dijafiza, a čvrsto u predelu metafiza. U predelu fiza i epifiza on se nastavlja na perihondrijum. Periost obezbeđuje tenziju kosti; jači je nego kod odraslih i teže i ređe puca na mestu preloma. Izuzetno su retke cirkumferentne rupturi periosta, pa zato on obezbeđuje neku vrstu futrole koja olakšava redukciju i održava stabilnost preloma. Periostalnim okoštavanjem pospešuje se zarastanje, a u nekim slučajevima to zarastanje je dijagnostički znak preloma koji nisu bili na drugi način verifikovani. Periost dečje kosti je biološki aktivan i ima veliki osteogeni potencijal [20, 21], a prožimaju ga mnogobrojni mišićni pripoji, što omogućava koordinisan rast mišića i kostiju.

1.3 STVARANJE KOŠTANOG TKIVA

Mišićno-skeletno tkivo nastaje od programiranog kondenzovanog mezenhimnog tkiva. Od izvesnih grupisanih ćelija mesenhimnog tkiva nastaje fibrocelularno tkivo koje direktnom osifikacijom prelazi u membranozne kosti - **membranozno** okoštavanje. Na taj način formiraju se primarni osifikacioni centri koji se dalje brzo šire i pokrivaju relativno velika polja koja štite fetus od stresa. Tako se formiraju kosti glave lica i deo ključne kosti.

Transformacijom mezenhimalnog modela u kartilaginozni, a zatim prelaskom u osifikovane strukture nastaju cevaste kosti. Progresivan, integrisan proces zamene preegzistirajućeg mesenhimnog i hrskavičnog modela koštanim tkivom označava se **endhondralnom** osifikacijom. Kada se formira osifikacioni centar sa odgovarajućom nutritivnom arterijom osifikacija progresivno napreduje prema krajevima kosti. Prvobitno formirana kost ima trabekularnu građu i obložena je slojevima laminarne kosti periostalnog porekla koja pripada membranoznoj osifikaciji. Ta dva tipa osifikacije nalaze se u osnovi primarnog razvoja svake kosti. Svaka kost može u svom daljem razvoju imati izdvojena ili izmešana polja oba tipa osifikacije. Enhondralno nastale kosti imaju membranozno osifikacioni deo koji se stvara apozicijom od periosta. Takođe, membranozno nastale kosti mogu rasti i izduživati se enhondralnim procesom [22,23,24,25]. Započeti osifikacioni proces se jednako širi ka krajevima kosti sužavajući hrskavičavi deo tako da na kraju trećeg meseca gestacije dobije oblik fize.

Kosti se izdužuju na nivou fiza procesom endhondralne osifikacije. Proces remodeliranja se odvija tokom preostalog fetalnog života. Metafize se progresivno šire kao posledica radijalnog širenja fize i epifiza. Aktivno remodeliranje odvija se u njenom centralnom i perifernom delu. Spajanjem trabekularne kosti osifikacionog jezgra sa laminarnom kosti periosta formira se dijafiza. Periostalni prsten prati razvoj osifikacionih jezgara, prednjačeći u početku, a zatim se održava na nivou zone hipertrofičnih ćelija hrskavice. U predelu fize periost može da stvara koštani prsten koji se označava kao LaCroix-ov fibroosalni prsten [26]. Periostalni prsten, periferni deo fize i fibrovaskularno tkivo čine Ranvierovu zonu koja je vrlo značajna za radijalno širenje fize [27]. Ona je prelazno tkivo između periosta i perihondrijuma koji čine anatomski kontinuitet, ali su funkcionalno različiti. Periostalni prsten ne obavlja celim obimom sve fize niti postoji kod svih kostiju, a naročito ne kod malih kostiju.

1.4 TIPOVI KOSTI

Različiti anatomske delovi dečje kosti imaju mikroskopski i makroskopski različite tipove kosti u pojedinim fazama rasta.

Fibrozna, nelamelarna, mrežasta kost

Koštano tkivo fibrozne kosti sadrži neregularni raspored kolagenih vlakana i lakunarnu distribuciju sa ograničenim stepenom organizacije matriksa. Normalno se nalazi u području primarne spongioze endhondralne osifikacije i na mestu pripoja tetiva i ligamenata. Najveći deo ove kosti na kraju biva zamenjen zrelijom lamelarnom kosti. Ona se nalazi u početnoj fazi formiranja kosti na mestu preloma ili blizu zapaljenja kao i u početnoj fazi formiranja kosti od periosta naročito kada je periost posebno stimulisan. Veći deo metafizarnog korteksa, naročito u ranom stadijumu i to bliže fizi ima fibrozni tip kosti. Fibrozna kost ima biomehaničke karakteristike koje se razlikuju od zrele kosti. Ona ima manju mogućnost fleksibilnosti i elastičnosti. Zbog toga i zbog manje jačine od lamelarne kosti na istu silu značajno se deformiše. Ona obezbeđuje dobru rezistenciju na biološki stres i dozvoljava brzi rast. Zbog njenih mehaničkih osobina ona predisponira specifične povrede kosti kao što su torus, prelom po tipu zelene grane i savijanje sa permanentnom plastičnom deformacijom.

Trabekularna kost

Trabekularna kost predstavlja trodimenzionalnu mrežu fibroznih koštanih ploča i stubića koja može da se nađe kod skeleta u toku rasta. Tipična je za vertebralne pršljene, sekundarne osifikacione centre i metafize dugih kostiju. Male kosti šake i stopala uglavnom se sastoje od ove kosti. S obzirom da se u metafizama odigrava intenzivna remodelacija kosti to se na dijafizarnoj strani nalazi manje trabekularne kosti a u dijafizama samo na unutrašnjoj površini korteksa. Vremenom se građa trabekularne kosti menja ali se trabekule u osnovi postavljaju tako da obezbede dobar prenos opterećenja. Najočitiji primer je raspored trabekula u glavi i vratu butne kosti [28, 29]. Trabekularna kost se progresivno orijentiše, organizuje i transformiše u zrelu lamelarnu kost koja obezbeđuje maksimum jačine sa minimalnim materijalom.

Laminarna kost

Ova kost je slojevita i sa biomehaničkog gledišta neodgovarajuća. Prošarana je mnogobrojnim krvnim sudovima. Nalazi se u inicijalnom metafizarnom i dijafizarnom korteksu. Progresivnim remodeliranjem prema biomehaničkim potrebama biva zamenjena sekundarnim osteonom.

Lamelarna kost

Lamelarna kost je zrela kost i sa biomehaničkog stanovišta odgovara zadatku. Karakterišu je kolagena vlakna raspoređena u različitim pravcima u svakoj lameli. Posebno je evidentna u osteonu gde se nalazi koncentrična orijentacija mnogobrojnih slojeva oko centralnog vaskularnog kanala. Najveći broj autora smatra da je lamela sastavljena od dva odvojena sloja kolagenih vlakana. U svakom sloju vlakna idu paralelno, a u odnosu na drugi sloj i stoje pod uglom od 90°. Lamelarna organizacija kosti određena je orijentacijom kolagenih vlakana.

1.5. KONTROLNI MEHANIZMI KOŠTANOG RASTA

Rast kosti treba razmatrati u sve tri dimenzije. **Apozicioni rast** dijafiza kao kombinacija periostalne osteogeneze i endostalne remodelacije detaljno je opisan ranije. Longitudinalan i dijametralan rast fiza ostvaruje se na bazi deobe ćelija germinativnog sloja i apozicionog rasta Ranvierove zone. Epifize rastu centrifugalno subhondralnim okoštavanjem. Rast kostiju je kontrolisan određenim fiziološkim i mehaničkim mehanizmima. Na fize utiču direktno ili indirektno različiti hormoni [30,31,32,33,34,35].

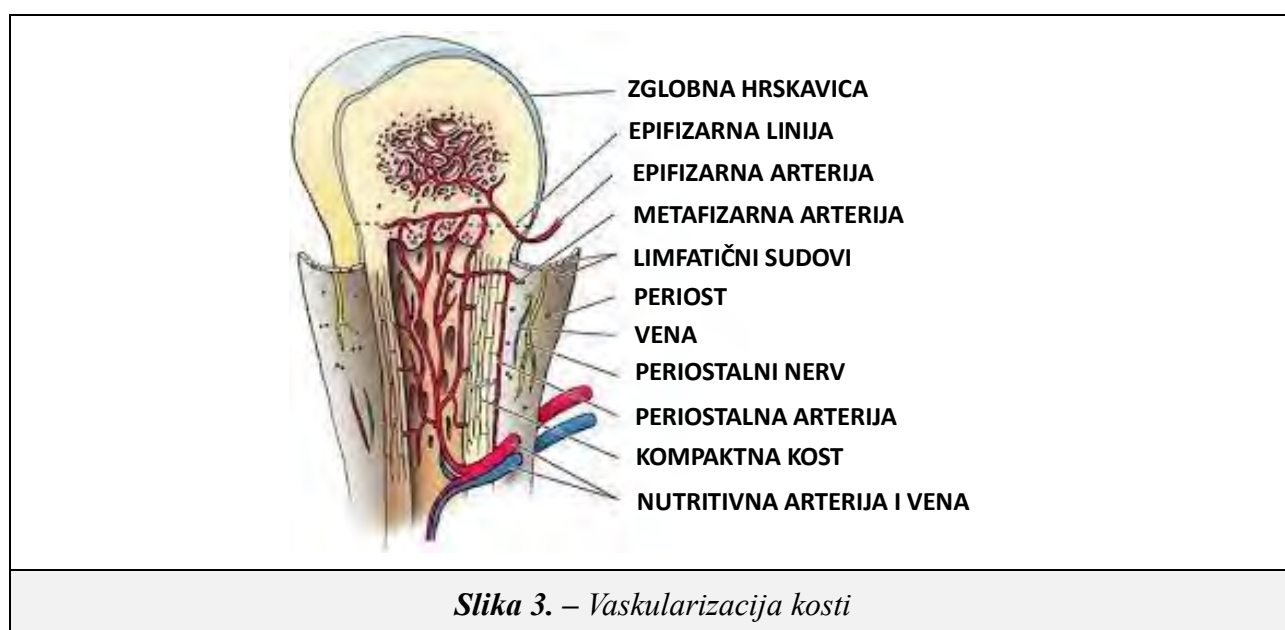
Tiroksin ima izuzetan stimulativni značaj u razvoju hrskavica fize i epifize, a znatno manji uticaj na osifikaciju. Hormon rasta podstiče ćelije germinativnog sloja na deobu i proširuje fizu. Tiroksin ima sinergičan efekat sa hormonom rasta na rast skeleta. Seksualni hormoni takođe utiču na rast fiza. Testosteron inicijalno stimuliše fizu na brzu deobu ćelija i dovodi do njenog proširenja, a na kraju dovodi do usporenja rasta i konsolidacije hrskavice [36]. Estrogen ima veći efekat na stimulaciju rasta već diferenciranog koštanog tkiva i može usporiti rast hrskavice. On deluje direktno ubrzanjem kalcifikacije matriksa i indirektno preko drugih hormona. Kao uzgredni efekat razvija se pričvršćivanje istanjenog periosta kolagenim vlaknima za kost i dodatno usporenje longitudinalnog rasta. Izgleda da steroidni hormoni nemaju direktnog uticaja na rast kosti već deluju indirektno preko hormona rasta i insulina [37]. Neodgovarajući balans hormona može predisponirati neke povrede skeleta kao što su epifiziolize [38]. Mehanički faktori utiču na rast preko tenzionih sila fize i periosta. Povreda periostalnog omotača ubrzava rast mehanički smanjenjem pritiska na fizu i povećanjem vaskularizacije [39,40,41,42,43,44,45].

Aktivnost pojedinih fiza cevastih kostiju i njihov doprinos u longitudinalnom rastu je različit [47]. Na osnovu proučavanja rasta i praćenja pojedinih fiza došlo se do njihovog procentualnog doprinosa u longitudinalnom rastu. On je relativno konstantan kod oba pola bez obzira na visinu dece. Za prognoziranje preostalog rasta i određivanje optimalnog vremena za hiruršku intervenciju neophodno je pored navedenih shema uključiti i stepen koštane zrelosti i ostale kliničke faktore. Kod devojčica nastupa ranije ubrzanje rasta pa se ranije postiže maksimalna dužina kostiju. Fizička, koštana zrelost i preostali rast kostiju su od velike važnosti u traumi dece i uvek se moraju imati na umu u tretmanu povreda. Postoji više načina za procenu koštane zrelosti. Radiografija šake je prikladna jer je tehnički laka i daje široku lepezu kostiju različitog tempa sazrevanja pogodnih za studiju. Najpopularniji metod je procena sazrevanja na osnovu serije filmova tipičnih za pojedine uzrastne grupe. Centri osifikacija pojedinih kostiju pokazuju velike varijacije. Da bi se smanjila mogućnost greške, treba upoređivati zrelost različitih kostiju [48,49,50,51,52]. Prelazak u adolescenciju se određuje pojavom osifikacije u kristi ilijačne kosti. Skeletno sazrevanje je različito u pojedinim geografskim širinama i rasama kao i kod različitih polova. Fiziološka epifiziodeza počinje ranije u devojčica nego u dečaka. Hronološki red prema pojedinim kostima je sličan kod oba pola. Sazrevanja kod devojčica javlja se unutar 6 meseci od menarhe ili u uzrastu od 12,5 godina [53]. Kod dečaka se ilijačna osifikacija pojavljuje od 14,5 godina. Zatvaranje ilijačne fize poklapa se sa prestankom longitudinalnog rasta dugih kostiju, mada kičma nastavlja još usporeno da raste do kraja druge decenije.

Prestankom rasta dolazi do fiziološkog zatvaranja fize koje se radiografski verifikuje. Lokalni činioci rasta kosti utiču na brži, ili sporiji rast kosti i čine ih: intramedularna trauma, strana tela u medularnom kanalu, arterio-venske fistule, okluzije nutritivnih arterija, deperiostiranje kosti zbog hirurških intervencija na njima, resekcija perifernih nerava, toplota, male doze radijacije, dugotrajna imobilizacija, mehanički pritisak, prelomi i osteotomije [54].

1.6 VASKULARIZACIJA DEČJE KOSTI

Dečja kost je dobro vaskularizovana (slika 3). Njena vaskularizacija se menja tokom rasta [55,56,57,58]. Metafize i dijafize dobijaju dvojni vaskularizaciju: (a) od periosta koji je dobro vaskularizovan i koji ima značajnu ulogu u osteogenezi i od (b) nutritivnih arterija koje se granaju u metafizi i dijafizi i imaju ulogu u endostalnom okoštavanju. Epifize opskrbljuju jedna ili više grana koje ih penetriraju i granaju se u hrskavici i centrima osifikacije. Smatra se da postoje dva anatomski i funkcionalno odvojena sistema cirkulacije: **epifizarni i metafizarni**. Epifizarna cirkulacija se menja shodno razvoju sekundarnog osifikacionog centra. U početku epifizarni sudovi ulaze u hondroepifizu i granaju se kroz sistem kanala u hrskavici. U osnovi su terminalni. Oni daju grane u obliku četkice za germinativni sloj fize. Manji sudovi mogu prolaziti kroz fizu i anastomozirati se sa metafizarnim krvnim sudovima. Ove anastomoze su češće kod velikih fiza i uglavnom su lokalizovane periferno. Porastom sekundarnog centra osifikacije broj anastomoza se smanjuje. Trajni ili prolazni poremećaj epifizarne cirkulacije dovodi do poremećaja rasta određene zone hrskavice što se u daljem manifestuje skraćanjem ili angulacijama [59].



Metafizarna cirkulacija potiče od nutritivne arterije koja snabdeva centralni deo metafize i od perihondralnih sudova koji napajaju njenu perifernu zonu i Ranvierov prsten. Osnovni sudovi se granaju i na kraju prave omče. U metafizi krvni sudovi idu između trabekula i u obliku kapilara dosežu do hipertrofične zone fize, prelaze u prošireni sinusoidni deo venske mreže i vraćaju se nazad. Prekid metafizarne cirkulacije nema uticaja na germinativni sloj i rast fize, ali je blokirana transforamcija hrskavice u kost što se manifestuje proširenjem ploče rasta. Ponovnim uspostavljanjem metafizarne cirkulacije dolazi do brze osifikacije proširenog dela fize i vraćanja normalnog izgleda. Poremećaj metafizarne cirkulacije skoro da nema nikakvog uticaja na longitudinalni i dijametralni rast kosti. Uticaj perihondralne vaskularne mreže na rast epifize, fize i metafize je varijabilan i zavisi od specifičnosti anatomije epifize i kapsule. Njen integritet je neophodan za apozicioni rast periferije fize. Njeno oštećenje kod nekih povreda, preloma, opekotina i zračenja može dovesti do lokalizovane ishemije sa sekundarnom epifiziodozom i angulacijom.

Fiza ima tri sistema odvojene vaskularizacije: od epifiza, od perihondralnog prstena i metafizarnih sudova. Svaki sistem fiziološki je odvojen. Epifizarna cirkulacija je obilna i neophodna za normalan rast germinativnog sloja fize. Poremećaj epifizarne cirkulacije dovodi do prolaznog ili trajnog prekida rasta. Centralni deo je osetljiviji na ishemiju nego periferni koji pokazuje izvesnu sposobnost oporavka za nastavak dijametralnog rasta [60,61]. Ishemija fize dovodi do različitog poremećaja rasta i različitih promena oblika fize [62].

1.7 PRELOMI DUGIH KOSTI U DEČJEM UZRASTU

Postoje brojne specifičnosti preloma kostiju kod dece koje treba poznavati kako bi se pravilno razumela pravila lečenja ovih preloma i njihova prognoza. Upravo te specifičnosti dečjeg skeleta uzrokuju brojne značajne razlike preloma kostiju kod dece i odraslih. Osnovna razlika je u građi ali i sposobnosti dečje kosti da raste. Dečja kost je poroznija ali i elastičnija. Lakše dolazi do preloma ali prelomi brže zarastaju a mogućnost remodelacije je veća. Prelom može da zahvati zonu rasta i tako da dovede do poremećaja rasta [63,64,65,66,67]. Rastom i razvojem organizacija kosti se menja, a njena veličina i jačina se povećavaju. Prelomi kroz fizu dešavaju se češće kod novorođenčadi i odojčadi i ponovo, kasnije u adolescentnom periodu [68,69,70]. To se dešava zbog nezrelosti fize ali i zbog dejstva hormona rasta (kod adolescenata). Anatomija dečje kosti može predisponirati izvesne prelome: prelazna zona između tankog korteksa metafiza i debelog korteksa dijafize predstavlja strukturalni diskontinuitet (na primer prelom distalne trećine radijusa).

Prelom može da nastane kao rezultat dejstva i kombinovanja različitih sila:

1. savijanja, gde fleksioni i ekstenzioni prelomi nastaju kao posledica prekomernog savijanja kosti,
2. torzije ili uvrtnja, gde dolazi do preloma kosti u vidu spiralne linije – spiralni prelom,
3. otrgnuća, kada nastaje avulzioni prelom kao posledica prekomerne kontrakcije mišića,
4. smicanja, kada postoji dejstvo dvaju sila različitih pravaca koji horizontalno deluju na kost,
5. direktne dinamičke sile, snažne direktne traume ili eksplozije,
6. prenapregnutost koštanog tkiva, kada nastaju marš ili stres frakture.

Na osnovu **anatomske lokalizacije** postoje različite varijacije preloma što se tiče mehanizma povređivanja, tipova preloma, dijagnostike a samim tim i lečenja:

- a) Dijafizarni prelomi nalaze se u predelu dijafize čije su osnovne karakteristike kompaktna kost i jak periost. Na ovom mestu dečja kost je najjača sa najdebljim korteksom te je neophodna veća sila koja bi dovela do preloma. Ove osobine se menjaju tokom rasta.
- b) Metafizarni prelomi su na mestu gde je trabekularna kost najmekša sa poroznim korteksom što je čini podložnom prelomima koji se dešavaju pod uticajem slabije sile nego kod dijafize. Ove osobine dozvoljavaju i specifičan kompresivni tip preloma.
- c) Fizarni prelomi obuhvataju sve prelome koji na bilo koji način zahvataju fizu. Osnovna njihova karakteristika da mogu uticati na rast u smislu usporenja ili prekida rasta, dela ili cele fize sa različitim posledicama u smislu deformacije ekstremiteta, poremećaja hoda ili slično. Različiti tipovi preloma spadaju u ovu grupu sa specifičnim tretmanom i različitom prognozom.
- d) Epifizarni prelomi se nalaze u hrskavičnom ili koštano-hrskavičnom delu epifize. Ovakvi prelomi mogu biti problematični za prepoznavanje i lečenje jer je dijagnostika otežana zbog radiotransparentnosti hrskavice.
- e) Artikularni prelomi su prelomi zglobnih površina i zahvataju hijalinu hrskavicu i subhondralnu kost. Njihova specifičnost je otežano zarastanje i neophodnost idealne repozicije uglavom operativnim putem. Neadekvatno lečenje ovakvih preloma može dovesti do inkongruencije (nepodudarnosti) zglobnih površina, kontraktura pa i invalidnosti.

- f) Epikondilarni prelomi se izdvajaju zbog mišićnih pripoja na mestu preloma, specifičnosti građe i tenzionih fiza.
- g) Subkapitalni prelom karakteriše metafizarna građa na mestu preloma lokalizovanog subkapitalno. To su uglavnom prelomi u predelu proksimalnog radijusa ili femura.
- h) Suprakondilarni prelomi su u suštini metafizarni, a specifična im je samo anatomska lokalizacija. Najčešći i jedan od najkarakterističnijih ovakvih preloma je suprakondilarni prelom humerusa.
- i) Transkondilarni prelomi pored specifičnog položaja oni su obično fizarni. Ovi prelomi zahtevaju najčešće otvorenu idealnu repoziciju .
- j) Interkondilarni prelomi zahvataju epifizu i artikularnu površinu. Ovi prelomi zahtevaju specifičnu, često hiruršku repoziciju. Uglavnom su to prelomi u nivou lakta, kolena i skočnog zgloba.

Prema izgledu prelomne linije možemo razlikovati različite tipove preloma, što uglavnom zavisi od sila koje deluju na kost.

Longitudinalni prelom je onaj kod koga linija preloma prati uzdužnu osovinu kosti. Češći je u kasnom detinjstvu. Dobro zarasta. Izaziva ga uglavnom aksijalno opterećenje ili direktno dejstvo velike sile.

Transverzalni prelom je onaj kod koga linija preloma ide poprečno u odnosu na osovinu kosti. Tipičan je za metafize mada se često nalazi u predelu dijafize i epifize. Kod ovakvih preloma obično dolazi do pomeranja koštanih fragmenata posle repozicije pa često zahtevaju sekundarni rad. Postoji mala prelomna površina i značajna nestabilnost fragmenata što može dovesti do pomeranja koštanih fragmenata usled dejstva mišića.

Kosi prelom. Linija je kosa u odnosu na osovinu. Često je po tipu zelene grane. Mogući problemi su sa repozicijom a povremeno i sa održanjem fragmenata.

Spiralni prelom. Prelomna linija se spušta i okružuje osovinu kosti. Pogađa češće noseće kosti starije dece i butnu kost dece koja su tek prohodala. Zarastanje je obično dobro, a kalus je obilan.

Impaktirani prelomi pogađaju prvenstveno metafize. Kod njih dolazi do nabijanja trabekula i poroznog korteksa. Obično nema problema sa repozicijom niti sa održanjem položaja fragmenata.

Kominutivni prelomi su retki kod mlađe, a češći kod starije dece. To su prelomi gde je delovala direktna sila i uzrokovala lomljenje kosti u više fragmenata.

Segmentni prelomi nastaju na dugim kostima ekstremiteta na više nivoa.

1.8 PRELOMI SPECIFIČNI ZA DEČJI UZRAS

Porodajni prelomi - Prelomi nastali usled porođaja predstavljaju poseban entitet, a nastaju kao posledica dejstava sile za vreme porođaja. Iako postoje na rođenju, često se previde i dijagnostikuju tek njihove komplikacije (paralize nerava, infekcije i dislokacije). U kliničkoj slici dominiraju bol, otok, deformitet i odsustvo pokreta. Najčešći su prelomi klavikule, humerusa i femura koji nikada ne zahtevaju hirurško lečenje [54].

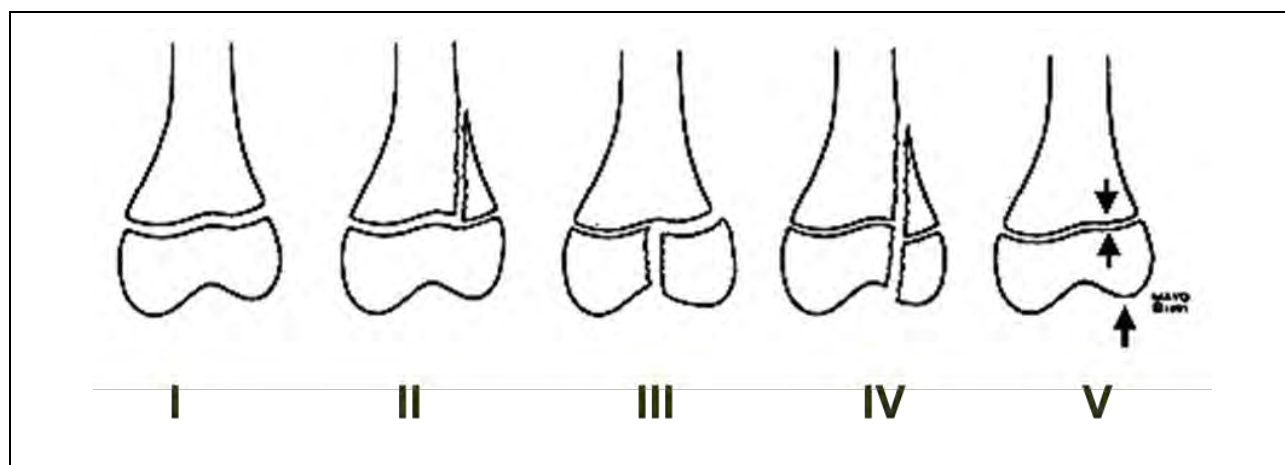
Savijanje kosti – To je plastična deformacija kosti koja nastaje pod dejstvom sile. Pogađa prvenstveno mlađi uzrast. Najčešće se dešava kod fibule i kostiju podlaktice. Kod dece preko četiri godine se preporučuje redukcija plastičnog deformiteta, naročito kada prelazi 20° angulacije, kada je klinički evidentan ili kada ometa pokrete prosupinacije podlaktice. Korekcija krivine nije uvek laka, naročito ako parna kost nije polomljena. Često je potrebna opšta anestezija i sila koja pritiska na vrh krivine nekoliko minuta [71]. Plastična deformacija ulne se često nalazi kod iščašenja radiusa. Prelomi savijanja („bend“ ili „bending“) nastaju kao posledica izuzetne elastičnosti dečije kosti, kao i mogućnosti njene plastične deformacije. Ovi prelomi nastaju ukoliko sila koja deluje ne pređe silu elastičnosti kosti.

Torus ili kompresivni metafizni prelomi („buckle“ ili „torus“) su oni kod kojih su zahvaćene isključivo metafize dugih kostiju.

Prelomi po tipu „zelene grane“ („green stick“) su dobili naziv prema radiografskom izgledu preloma. Nastaju usled dejstva sile, nakon što kost pretrpi plastičnu deformaciju, uz očuvan korteks sa jedne strane i karakterističani su isključivo za dečiju kost. Usled dejstva sile dolazi do pucanja korteksa sa jedne strane i krivljenja kosti, dok sa suprotne strane korteks ostaje intaktan ili plastično deformisan.

Kod ovakvih preloma periost je uglavnom očuvan, ili bar na konkavnoj strani, što je posledica njegove debljine i labave veze sa kosti. Najčešće je zahvaćena podlaktica koja se lako reponira i brzo zarasta [3,4,18].

Epifiziolize predstavljaju poseban entitet koji se javlja samo kada su zone rasta duge kosti (fize) otvorene ili delimično otvorene. Postoji više klasifikacija za ovu vrstu preloma kod dece, ali najpraktičnija i najviše primenjena je klasifikacija po Salteru i Harrisu [54]. Prema ovoj podeli postoji šest tipova preloma koji zahvataju zonu rasta i koji su šematski prikazani (slika 4).



Slika 4. Klasifikacija epifizioliza po Salteru i Harrisu

tip I – linija preloma kroz zonu rasta

tip II – linija preloma kroz zonu rasta i metafizu

tip III – linija preloma kroz zonu rasta i epifizu (zglobni prelom)

tip IV – linija preloma kroz metafizu, zonu rasta i epifizu (zglobni prelom)

tip V – kraš povreda fize usled kompresije

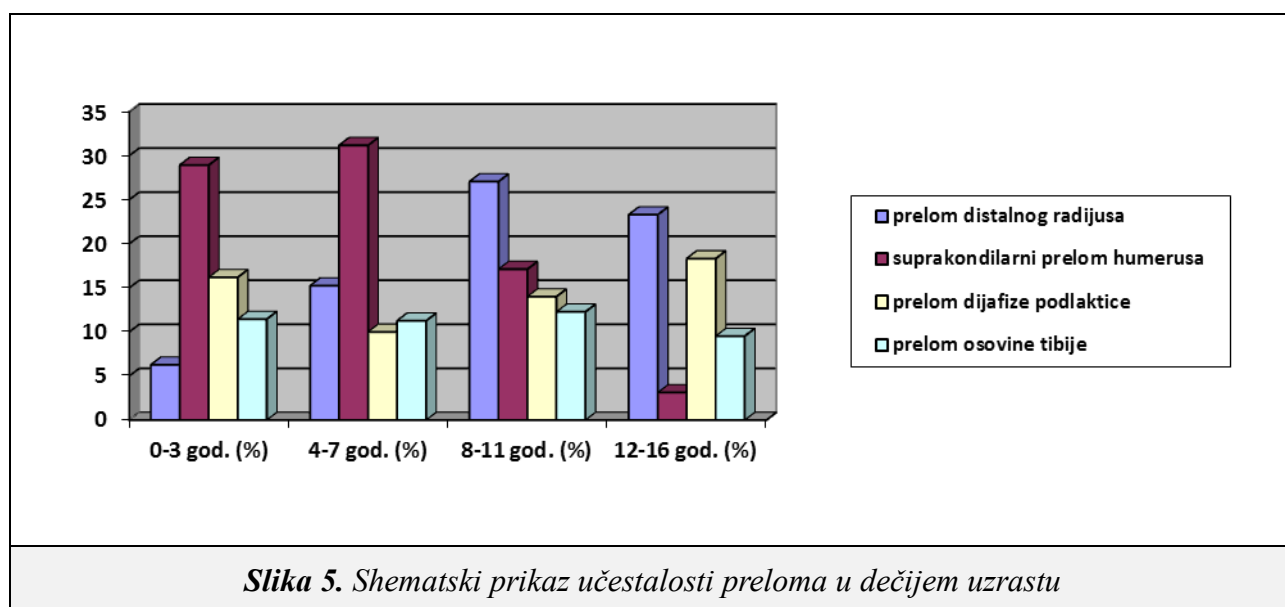
Delimični prelom distalne epifize tibije („Tillaux“) je tipičan za adolescentni uzrast, odnosno za doba u kome dolazi do postepenog zatvaranja zone rasta [72]. Najčešće se javlja između 14 i 16 godina, nešto ranije kod devojčica, a zahvata distalnu potkolenicu, odnosno distalnu zonu rasta tibije. Usled parcijalnog zatvaranja distalne epifize tibije (medijalnog dela) dolazi do preloma lateralnog dela epifize sa ili bez pomeranja. Ovakvi prelomi uglavnom zahtevaju hiruršku repoziciju i osteosintezu [72,73].

Patološki prelomi nastaju na bazi izmenjenih kostiju. Karakteristične su koštane ciste kod dece koje mogu biti juvenilne ili aneurizmalne. Cista na kosti se često (zbog povrede) dijagnostikuje kao uzgredni radiografski nalaz.

Najčešći su prelomi cista na proksimalnom humerusu, ili vratu femura. Lečenje ovih preloma se bitnije ne razlikuje od preloma ovih kostiju bez ciste. U toku reparacije i remodelovanja kosti posle preloma može da dovede do spontanog ispunjavanja ciste koštanom masom, a samim tim i do potpunog izlečenja ciste [18].

1.8.1 Najčešći prelomi u dečjem uzrastu

Prelomi kostiju nezrelog skeleta razlikuju se od onih koji nastaju na zrelom skletu. Povrede skeleta čine između 10 i 15 % svih povreda kod dece. Povrede zone rasta (fize) čine 15% svih povreda skeleta kod dece. Povrede zglobova i ligamenata su kod dece ređe jer usled dejstva sile najpre se povređuje fiza [72].



1.8.2 Klinička slika i dijagnoza

U kliničkoj slici preloma dominiraju: bol, otok i deformitet uz odsustvo funkcije ekstremiteta. Kod otvorenih preloma narušen je integritet kože. Dijagnoza se uglavnom postavlja na osnovu, često nepouzdanih heteroanamnestičkih podataka dobijenih od roditelja. Pored dobro uzete anamneze, kliničkim pregledom se postavlja sumnja na prelom, a radiografija je uglavnom dovoljna za postavljanje konačne dijagnoze. Radiografija se izvodi u dve ili više projekcija. U cilju utvrđivanja tipa preloma i stepena dislokacije fragmenata, ponekad je potrebno učiniti dopunsku dijagnostiku – kompjuterizovanu tomografiju (CT) ili nuklearnu magnetnu rezonanciju (NMR).

Prilikom postavljanja dijagnoze i pri tumačenju radiografskih snimaka treba obratiti pažnju na zone rasta koje su otvorene, kao i na jezgra osifikacije epifiza kostiju koji često mogu da dovedu do nepravilnog tumačenja promena i postavljanja pogrešne dijagnoze [16,19,54].

1.8.3 Lečenje

Lečenje preloma kod dece je specifično i znatno se razlikuje od lečenja preloma kod odraslih. Ono zavisi od uzrasta deteta, vrste i mesta preloma. Uglavnom se primenjuju zatvorene, manuelne ortopedske repozicije sa gipsanom imobilizacijom koje daju najbolje rezultate. U slučajevima kada je nemoguće postići zadovoljavajuću repoziciju zatvorenim putem, primenjuju se minimalno invanzivne procedure, kao što su perkutane fiksacije (pinovanje) ili intramedularne fiksacije. U poslednje vreme u širokoj je primeni intramedularna fiksacija elastičnim klinovima od titanijuma (ESIN). U slučajevima kada je to neophodno, primenjuje se otvorena hirurška repozicija i osteosinteza kao i kod odraslih pacijenata [54,72,73,74].

1.8.4 Zarastanje preloma

Zarastanje preloma se vrši u tri faze (*slika 6*):

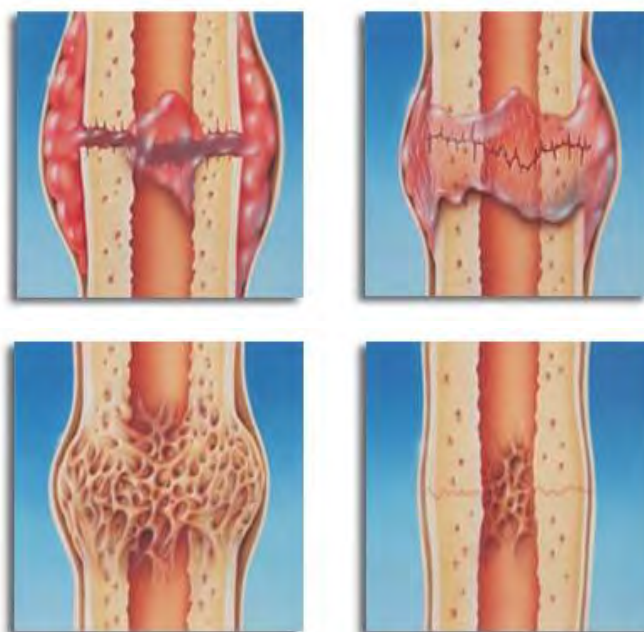
Faza inflamacije je prva faza koja nastupa odmah nakon povrede. U ovoj fazi dolazi do krvarenja iz koštanih fragmenata, periosta i povređenih mekih tkiva. Hematom se širi subperiostalno, sve do Ranvierove zone, ali ne i u subperihondralni deo kosti. Kod intraartikularnih epifiza, dolazi i do krvarenja u zglobni prostor. Krvni sudovi ivičnih delova koštanih fragmenata u manjoj ili većoj meri (2 mm - 2 cm) izumiru, što pokreće proces nespecifične inflamacije. Potom dolazi do organizacije hematoma tako što fibrovaskularno tkivo zamenjuje koagulum kolagenim vlaknima i elementima koštanog matriksa, koji mineralizuju i daju nezrelu, *laminarnu kost*. Karakteristično je za decu da je periost jak i da se lakše odljubljuje od kosti, pa se ispod njega duž dijafize i metafize nakuplja više krvi što kasnije dovodi do obilnijeg formiranja kosti u toku zarastanja. To nije slučaj kod preloma epifiza kod kojih se nastali hematom prazni u zglob, a sinovijalna tečnost dodatno nepovoljno utiče na proces zarastanja. Povreda kosti i krvnih sudova oko preloma dovodi do *ishemije i nekroze* izvesne zone kosti u blizini preloma. Resorpcija nekrotične kosti doprinosi da frakturna linija postaje šira 2 do 3 nedelje posle preloma.

Hematom i ishemična kost provociraju normalni biološki inflamatorni proces. S obzirom na karakteristike vaskularizacije, dečja kost ima intenzivniji (zbog hiperemije) vaskularni odgovor nego kost odraslih. Za zarastanje preloma naophodno je prisustvo funkcionalne vaskularizacije. Krajevi kosti imaju pasivnu ulogu u zarastanju dajući izvesnu stabilnost. Proces premošćavanja je mnogo komplikovaniji. Intenzivan, aktivan proces zamene i remodeliranja nezrele kosti kao i velika biološka, osteogena aktivnost periosta imaju u procesu zarastanja dečje kosti značajno mesto. Inicijalni ćelijski reparativni proces sastoji se u organizaciji hematoma na mestu preloma [75,76]. Fibrovaskularno tkivo zamenjuje hematom kolagenim vlaknima i elementima matriksa koji mogu formirati primarni kalus. Inicijalna invazija i deoba ćelija odigravaju se oko oštećenih krajeva kosti [77]. U ranom stadijumu mastociti imaju značajnu ulogu. Ćelijska aktivnost počinje istovremeno u medularnom predelu mada je vaskularni odgovor manjeg intenziteta nego na periostalnoj strani [78].

Faza reparacije nastupa nakon organizacije hematoma. Organizovani hematom, koji je imao primarnu ulogu u stabilizaciji preloma sada služi kao "skela" preko koje migriraju pluripotentne ćelije. Pravac njihove diferencijacije određuje složeni skup uticaja mikrosredine. Spongiozni delovi skeleta (metafize, osifikacioni centri, pljosnate i kratke cevaste kosti) primarno zarastaju endosalnim kalusom. Dijafize zarastaju periostalnim i endostalnim kalusom. Multipotentni mezenhim je sposoban da stvara fibrozno, hrskavično i koštano tkivo. Stres i lokalni biohemijski uslovi usmeravaju preformiranje mezenhima [79,80,81,82,83]. Hematom je mesto gde se odigrava zarastanje u ranoj fazi. Periost dece ,koji je vrlo aktivan, pojačava svoju osteoblastnu aktivnost i stvara spoljni kalus. Na mestu frakture započinje proces endhondralne osifikacije. Sličan proces se odigrava i u medularnom kanalu odakle se stvara endostalno unutrašnji kalus koji je kod dece znatno slabiji. Integralni deo reparativnog procesa u tom stadijumu je mikrovaskularna invazija koja dolazi od periosta, nutritivnih arterija i endostalnih sudova i koja se kod dece odigrava vrlo brzo [84,85]. Za 10 do 14 dana na mestu preloma kod dece formira se kalus koga čini masa čvrstog osteogenog tkiva. Najveći deo kalusa stvoren je od perifernog osteogenog tkiva. Novoformirana kost je primarno fibrozna [86,87]. Ova kost je plastična i može postepeno da se deformiše bilo pod dejstvom mišića u neadekvatnoj imobilizaciji i zbog preranog skidanja imobilizacije. Vremenom se primarni kalus zamenjuje. Kada hrskavicu i fibroznu kost zameni zrela lamelarna kost, prelom je konsolidovan i vraća se većina normalnih bioloških osobima i otpornost na stres. Lokalni biohemijski i mehanički uslovi imaju značajnu ulogu u reparaciji i otpornosti na stres. Kompresija ili odsusvo tenzije nepovoljno utiče na formiranje fibroznog tkiva. Nizak pritisak kiseonika pospešuje formiranje hrskavice a visok pritisak pospešuje formiranje kosti [88].

Pokretanje fragmenata utiče inhibitorno na stvaranje spoljnog kalusa. Formiranje medularnog kalusa je manje oštećeno pa čak može biti i ubrzano do određenog stepena mobilnosti.

Faza remodelacije nastupa po završetku reparacije preloma. U ovoj fazi dolazi do resorpcije nasumično orijentisanih koštanih gredica i njihove zamene trabekulama koje se orijentišu u zavisnosti od dejstva spoljnih sila. Ova faza može da traje od nekoliko meseci do nekoliko godina, ponekad i posle završetka koštanog rasta deteta. Remodelovanje spongiozne kosti je brže od remodelovanja lamelarne kosti. Ova faza je kod dece mnogo ekstenzivnija, fiziološki mnogo aktivnija i u zavisnosti je od uzrasta. Najduža je od sve tri faze zarastanja preloma. Ona počinje resorpcijom mehanički nepotrebnog i neefikasnog dela kalusa i nastavlja se orijentacijom trabekula kosti duž linija opterećenja i traje do formiranja normalne kosti. Zahvaljujući rastu i razvoju deteta može da traje sve do sazrevanja skeleta kao odgovor na promenjene uslove opterećenja. Stepem remodeliranja i progresivne zamene kalusa obrnuto je proporcionalan uzrastu. Granični moment između reparativne i faze remodeliranja je formiranje intaktnog koštanog mosta među fragmentima. Tada se nameće potreba funkcionalnog prilagođavanja. Normalno da je kod dece lakše remodeliranje jer je njihov skelet aktivniji i fiziološki se kontinuirano prilagođava na stres. Mesto preloma ima uticaja na remodeliranje: prelomi bliži fizi imaju veću sposobnost remodeliranja i kraće vreme. Na remodeliranje utiče ravan u kom se nalazi deformitet u odnosu na zglob: deformiteti u ravni kretanja se dobro remodeliraju a oni van ravni kretanja se slabo ili nimalo ne remodeliraju. Rotacioni deformiteti se po pravilu ne remodeliraju [89]. Kost se remodelira prema sili koja deluje na kost (Wolf-ov zakon) [90,91].



Slika 6. Zarastanje kostiju

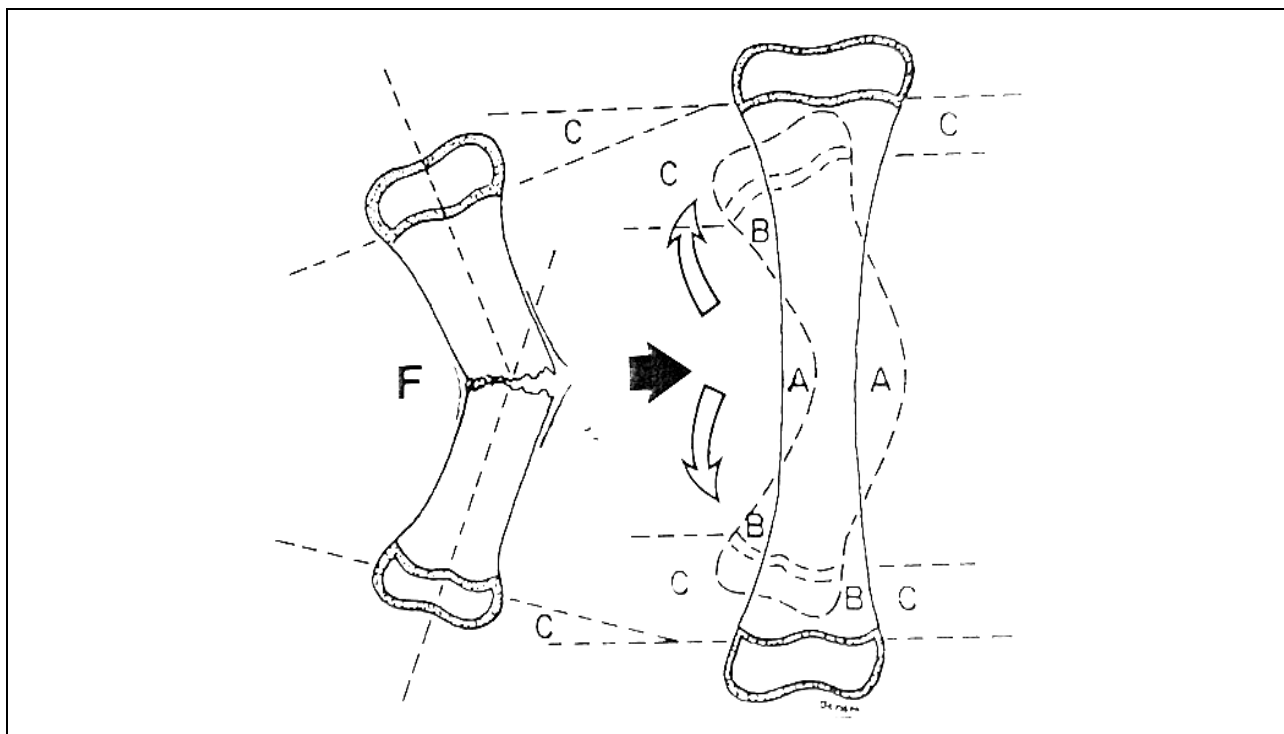
1.8.5 Remodelovanje

Remodeliranje dečje kosti zavisi od *uzrasta deteta, udaljenosti preloma od fize, njene aktivnosti, stepena i tipa deformacije*. U procesu remodeliranja učestvuje endhondralno i periostalno okoštavanje i resorpcija kosti. U principu remodeliranje je bolje kod mlađe dece, a može se očekivati kod dece kod kojih je ostalo najmanje dve godine skeletnog rasta. Prelomi bliže fizi (bez povrede germinativnog sloja) i deformacije u ravni kretanja imaju veću mogućnost remodeliranja. Lateralni deplasman i skraćanja se dobro koriguju. I pored svih saznanja i napora remodelacija se ne može pouzdano predvideti, pa je uvek potrebno učiniti anatomsku redukciju. Remodelovanje se ne može očekivati kod deplasiranih intrartikularnih preloma, preloma koji su u sredini dijafize, kod preloma koji prolaze kroz ploču rasta. Takođe su male šanse za oporavak rotacionih deformacija, angulacija izvan ravni kretanja i velikih skraćanja [92]. Nadoknada skraćanja još nije definitivno razjašnjena. Neka skraćanja se nadoknađuju [93] a neka ne [94].

Angulacioni deformiteti i biomehaničke karakteristike

Osnovni mehanizmi korekcije angulacionih deformiteta nisu sasvim poznati. U toku rasta mišići preko svojih pripoja i periosta svojim akcijama utiču na rast i oblikovanje kosti. Promena tenzije pojedinih delova periosta može da dopusti brži rast delova fize. Značajno smanjenje sile može usporiti ili modifikovati epifizarni rast. Promena pravca sile na fizu utiče na njen rast [95]. Asimetričan rast fiza i promene u procesu resorpcije i apozicije metafiza su najvažniji u procesu korekcije angulacije. Proučavanje dejstva statodinamičkih sila na hrskavicu rasta je od posebnog teorijskog i praktičnog značaja s obzirom na ulogu koju ona ima tokom rasta. Kod ekscentričnih opterećenja koja postoje kod angularnog deformiteta naprezanje fize je neravnomerno. Veće je na strani opterećenja, a manje na suprotnoj strani gde može da nastupi zatezanje umesto opterećenja (*slika 7*). Ova naprezanja se odražavaju na unutrašnju i spoljašnju strukturu kosti. Po Pauwelsevom zakonu funkcionalnog prilagođavanja struktura i oblik kosti se prilagođavaju naprezanju tako da veća i neravnomerna naprezanja transformišu u ravnomerna i manja [96,97,98]. Smanjujući ili eliminišući naprezanje kost štedi sopstvenu masu, odnosno ponaša se po Rouxovom zakonu o funkcionalnoj građi. U slučaju ekscentričnog, biološki tolerantnog naprezanja normopotentna hrskavica rasta reaguje povećanjem rasta na mestu povećanog naprezanja. Na taj način se menja pravac kosti. Asimetričan rast traje dok se hrskavica rasta ne postavi vertikalno na rezultirajuću silu i dok se ne eliminiše povećano naprezanje.

Pauwels je ovaj proces označio kao aktivno oblikovanje kosti [99]. Na taj način može se objasniti korigovanje angularnih deformiteta, pa i onih koji nisu u ravni kretanja. Mesto preloma i fiza imaju značajnu i nezavisnu sposobnost remodeliranja. Wolf-ov zakon govori da savijena kost usled mehaničkog opterećenja adaptira se odlaganjem nove kosti sa konkavne strane i resorpcijom sa konveksne strane. Osnovna funkcija skeleta je obezbeđenje zaštite, potpore i kretanja. Veličina, oblik i položaj pojedinih kostiju kao i njihova struktura odražavaju njihovu potrebu. Biomehanički zahtevi se ogledaju u histološkoj građi. Pojedini elementi imaju određenu biomehaničku ulogu. Kost obezbeđuje relativno visok stepen rigiditeta i mehaničke zaštite. Hrskavica obezbeđuje elastičnost i rast. Hijalina hrskavica pokriva zglobove jer je sposobna da podnese veću kompresiju, a fibrozna bolje podnosi tenzione sile, ima više kolagenih vlakana i nalazi se na mestu pripoja ligamenata i mišića. Postoje četiri osnovne vrste sila koje deluju na skelet: tenzione, kompresione, torzione i sile cepanja. Organizacija celog skeletnog sistema i pojedinih delova odražava prilagođavanja na stalne ili povremene sile dejstva. Hrskavica rasta najmanje dva puta je šira od pripadajuće dijafize, a njem presek je 3 do 6 puta veći od preseka dijafize. Njena geomerija, kao i mamilarni nastavci ublažavaju stres koji se preko nje prenosi. Kost se prilagođava rasporedom trabekula duž linija (trajektorija) opterećenja. Odgovor skeleta na normalan stres može biti stimulacija rasta, modelacija i remodeliranje, a na nenormalan deformacija i prelom. Postoji progresivna adaptacija skeleta na mehanička opterećenja.



Slika 7. Biomehanika remodelovanja

Remodelacija kosti se dešava u nivou zone rasta kod 75% preloma kod dece. Ona se ponaša u skladu sa Pauwelsevim i Volkmannovim zakonom. Povremeni pritisak u granicama fiziološkog opterećenja stimuliše rast fiza zdrave kosti. Stalni i jaki patološki pritisak ne zaustavlja longitudinalni rast kosti. Ukratko, remodelacija je bolja ako je prelom bliže zglobu. Najveća korekcija se dešava u ravni najveće pokretljivosti bliskog zgloba (*slika 7*). Ova teorija je praktično primenjiva kod preloma u blizini velikih zglobova, kao što su zglob kolena, skočni zglob, lakat i ručni zglob, gde je remodelacija izuzetno brza ako je krivina u ravni kretanja zgloba. Sa druge strane, remodelacija posle preloma je loša u drugim stanjima, kao što je kubitus varus nakon suprakondilarnih preloma humerusa. Zbog toga ovakvi prelomi zahtevaju idealnu repoziciju. Takođe, rotacioni deformiteti se ne koriguju spontano. Potencijal za spontanu, kompletnu korekciju i remodelaciju nakon preloma je veći što je dete mlađe. Kod male dece potencijal remodelacije je veliki čak i u dijafizi [3,4,18].

1.9 ADIPOKINI I NJIHOV UTICAJ NA METABOLIZAM KOSTI

Fiziologija koštanog metabolizma. Kost učestvuje u veoma važnim metaboličkim procesima u organizmu:

1. **Predstavlja mineralni rezervoar** – ovo se pre svega odnosi na koncentraciju kalcijuma i fosfora u organizmu i time utiče na održavanje sistemske mineralne homeostaze [100,101,102].
2. **Depo faktora rasta i citokina** – mineralizovani koštani matriks predstavlja prostor za skladištenje brojnih faktora rasta i citokina. U slučaju potrebe u organizmu, oni se oslobađaju iz ovog koštanog depozita. Od faktora rasta najviše su prisutni IGF, TNF- β i BMP.
3. **Skladište masti** – u žutoj koštanoj srži nalazi se depozit masnih kiselina.
4. **Održavanje acidobazne ravnoteže** – održava nivo PH oslobađanjem ili skladištenjem alkalnih soli.
5. **Detoksikacija** – kosti imaju sposobnost oslobađanja teških metala i ostalih toksičnih supstanci iz organizma kroz cirkulaciju.
6. **Endokrina funkcija** – kontroliše metabolizam fosfata oslobađajući fibroblastni faktor rasta čime se smanjuje fosfatna reapsorpcija u bubrezima. Hormon osteokalcin se oslobađa iz kosti i reguliše koncentraciju glukoze u krvi i skladištenje masti.

99% kalcijuma, 85% fosfora i 65% magnezijuma u organizmu se nalazi u kosti a distribucija ovih minerala u bubrege i gastrointestinalni trakt i obratno se vrši uz pomoć paratiroidnog hormona, kalcitonina i vitamina D.

Citokini su polipeptidi koji se stvaraju u limfocitima i monocitima a imaju važnu ulogu u imunom odgovoru inflamaciji i hematopoezi imajući parakrini i autokrini efekat. Najvažniji citokini u kosti su:

- a) Interleukin 1 – koji direktno stimulise osteoklastičnu resorpciju, povećava proliferaciju i diferencijaciju proosteoblasta kao i osteoklastičnu aktivnost. Postoje 3 različite vrste ovog citokina i to su IL-1 α , IL-1 β i IL-1 receptor antagonist, koj inhibiše prethodna dva interleukina. Oni učestvuju direktno ili indirektno u sintezi prostaglandina [103].
- b) Interleukin 6 – stimulise koštanu resorpciju i ima važnu ulogu u inicijalnoj fazi osteoklastogeneze [104].
- c) Interleukin 11 – nalazi se u koštanoj srži i indukuje osteoklastogenezu.
- d) Prostaglandini – naročito prostaglandin E2, učestvuju u koštanoj resorpciji [105].
- e) Leukotrieni – lipidni molekuli koji regulišu koštanu remodelaciju.

Novo otkriveni adipokini i koštani metabolizam

Kost kao protektivni organ ima i ulogu endokrinog organa u kome se odigravaju procesi koji su značajni za mineralnu homeostazu. U kosti se stalno prepliću procesi regeneracije i apsorpcije. Ovo zavisi od aktivnosti osteoblasta odnosno osteoklasta koja je pod kontrolom paratiroidnog hormona 1,25 dihidroksi-vitamina D3 i ostalih hormona kao i lokalnih faktora. Ukoliko apsorpcija predomina dolazi do osteoporoze.

Masno tkivo je najveći endokrini organ u organizmu i ima višestruku ulogu u metabolizmu ishrane kao i stvaranju energije. Starenjem količina masnog tkiva u koštanoj srži se povećava dok se koštana masa gubi. Adipociti i osteoblasti potiču od iste vrste ćelijske loze (MSCs). Prekursori ovih ćelija su kompetitivni i inhibiraju jedni druge. To znači da masno tkivo veoma utiče na kost i to preko adipokina. Mnoge studije su potvrdile uticaj TNF- α i IL-6 na koštani metabolizam, ali i TNF- β , RANK, RANKL i ostali [106,107,108]. Teorija da belo masno tkivo može da učestvuje u homeostazi celog tela a ne samo da je depo masnoće u organizmu, zaintrigirala je medicinsku javnost 1994. godine. Od tada je pronađeno da belo masno tkivo produkuje više od 50 citokina i drugih molekula koji su nazvani adipokini koji preko endokrinih parakrinih autokrinih i jukstakrinih mehanizama delovanja učestvuju u različitim fiziološkim i patološkim procesima u organizmu, uključujući imuni odgovor i inflamaciju. Adipokini se nalaze u masnom tkivu ali i na drugim mestima u organizmu.

Gojaznost se smatra proinflamatornim stanjem i nekoliko markera inflamacije je povećano kod gojaznih osoba. Adipokini su grupa različitih polipeptida uključujući i TNF i značajno doprinose održavanju inflamatornog stanja kod gojaznih ljudi. Oni su odgovorni za formiranje metaboličkih aberacija uključujući kardiovaskularne komplikacije i autoimune inflamatorne bolesti. Belo masno tkivo proizvodi antiinflamatorni faktor IL-1RA i IL-10 verovatno kao adaptivni odgovor. IL-1RA je značajno povišen kod gojaznih ljudi. Novi adipokini koji su otkriveni, kao što su adiponektin, leptin, rezistin, chemerin, omentin, vaspin i visfatin, imaju veliki uticaj na koštani metabolizam što je ustanovljeno mnogim kliničkim i biološkim istraživanjima. Masno tkivo sekrecijom adipokina utiče na koštani metabolizam i uključeno je u patogenezu i progresiju osteoporoze. Osteoporoza je koštano oboljenje koje karakteriše gubitak koštane mase, povećana fragilnost kostiju i sklonost prelomima. U više navrata je dokazano da postoji pozitivna veza između koštane gustine i masnog tkiva, što dokazuje značajnu ulogu adipokina u koštanom metabolizmu [109,110,111,112]. Oni imaju uticaj na metabolizam, imuni odgovor, inflamaciju i koštani metabolizam. Adipokini utiču na interakciju masnog tkiva, inflamacije i imuniteta.

Adiponektin – je polipeptid koga proizvodi belo masno tkivo. Cirkuliše u krvi i čini 0,01% od svih plazma proteina koji se nalaze u molekularnoj formi [113,114]. Gen za adiponektin se nalazi na 3q27 hromozomu i povezan je sa dijabetesom i kardiovaskularnim bolestima [115]. Cirkulišuća koncentracija adiponektina je manja kod gojaznih i povećava se sa gubitkom telesne mase. Ovaj adipokin smanjuje insulinsku rezistenciju stimulišući iskoristljivost glukoze, povećavajući oksidaciju masnih kiselina i redukujući sintezu glukoze u jetri i tkivima [113]. Sekretuju ga diferencijirani adipociti a pospešuje regeneraciju kosti i osteogenezu na dva načina: a) deluje na diferencijaciju MSCs ćelija u prosteoblaste i b) pospešuje proliferaciju i sazrevanje osteoblasta. Mehanizam delovanja ispoljava preko dva receptora: a) ADIPO R1 (koji je dominantan u skeletnoj muskulaturi) i b) ADIPO R2 (dominantan u jetri). MSCs pluripotentne ćelije se mogu diferencirati u osteoblaste, masne ćelije ili hondrocite pod različitim uslovima. Smatra se da baš adiponektin utiče na diferencijaciju ovih ćelija u koštane povećavajući nivo alkalne fosfataze, osteokalcina i kolagena tipa 1 [116,117,118], a inhibiše diferencijaciju u adipozne ćelije. Pored toga adiponektin ima negativno dejstvo na osteoklaste a samim tim i na koštanu resorpciju [119]. On suprimira osteoklastičnu aktivnost i povećava koštanu masu. Takođe pozitivno utiče na proliferaciju hondrocita. Na osnovu mnogih istraživanja ustanovljena je parakrina uloga adiponektina na koštanu srž i mezenhimalne progenitorske ćelije. Ovakvi zaključci su uglavnom rezultat bioloških istraživanja dok neke kliničke studije daju potpuno druge i kontradiktorne rezultate.

Adiponektin ima veliki efekat kod imunih inflamatornih stanja kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes tipa 2, metabolički sindrom i reumatoidni artritis [120]. Ometa funkciju makrofaga inhibišući fagocitozu i produkciju IL-6 i TNF. Redukuje B ćelijsku limfopoezu i smanjuje T ćelijski odgovor i indukuje produkciju antiinflamatornih faktora kao što je IL-10 i IL-1RA [121]. U vezivnom tkivu skeleta ima proinflamatornu ulogu a nivo adiponektina u plazmi kod osoba sa reumatoidnim artritismom je veći nego kod ostalih. Nivo adiponektina u sinovijalnoj tečnosti kod pacijenata sa reumatoidnim artritismom je veći nego kod pacijenata sa osteoartritismom [120,122]. Na osnovu istraživanja ustanovljena je funkcionalna uloga u biologiji kostiju čiji se receptori nalaze na osteoblastima. Adiponektin ima sposobnost stimulacije proliferacije i mineralizacije humanih osteoblasta [123,124]. Takođe indirektno aktivira osteoblaste stimulišući RANKL i inhibišući osteoprotegerin koji se produkuje u osteoblastima [125]. *In vitro* eksperimenti pokazuju da adiponektin ima važnu ulogu u destrukciji zglobova indukujući njihov katabolizam i proliferativne medijatore u osteoblastima. Međutim rezultati *in vivo* eksperimenata su kontroverzni u odnosu na predhodne. Oshima et al. su pokazali u studijama na miševima da adiponektin povećava trabekularnu koštanu masu i smanjuje broj osteoklasta [126]. Takođe je dokazano da adiponektin inhibiše osteoklastnu diferencijaciju i uzrokuje njihovu apoptozu. Sva ova ispitivanja ukazuju da adiponektin učestvuje u balansu koštanog stvaranja i resorpcije. Na taj način on je jedan od regulatora koštanog metabolizma.

Leptin je prvi otkriveni adipokin koji se nalazi u belom masnom tkivu pronađen 1994. godine [127]. To je neglikogenizovani peptidni hormon koji pripada klasi 1 citokine superfamilije. Uglavnom ga produkuju adipociti u najvećem procentu. Cirkulišući nivoi leptina su u direktnoj korelaciji sa količinom masnog tkiva u organizmu. Produkuje se i u placenti, dojčkama, gastričnom epitelu, skelentnoj muskulaturi, mozgu kao i u kostima i zglobovima [128,129,130,131,132,133,134]. Eksperimentalno je dokazano da leptin stimuliše proliferaciju hondrocita i osteoblasta [135], a smanjuje osteoklastičnu aktivnost [136]. Primećeno je povećanje koncentracije leptina u serumu posle povrede što se tumači kao pozitivan uticaj na koštanu regeneraciju. Nivo leptina je značajno veći kod žena nego kod muškaraca što može da se dovede u vezu sa nastankom određenih bolesti kao što je na primer osteoartritis kod žena. Uticaj leptina na imuni odgovor podrazumeva modulaciju monocita i makrofaga neutrofila, bazofila, eozinofila i dendritskih ćelija [137]. Leptin modifikuje balans T limfocita, indukuje T ćelijsku aktivaciju i menja obrazac produkcije citokina favorizujući T ćelijsku diferencijaciju ka Th 1 odgovoru./tbl 1/. Kod osteoartritisa produkcija leptina je mnogo veća nego u normalnim okolnostima.

Administracija egzogenog leptina povećava produkciju IG – F1 i TGF β kod pacova što govori da visok nivo leptina kod gojaznih može imati protektivnu ulogu u nastanku osteoartritisa. Leptin deluje proinflamatorno kod gojaznih te ih svrstava u proinflamatornu grupu pacijenata. Koncentracija kod žena je veća što uzrokuje veću mogućnost oboljevanja od osteoartritisa. Prema brojnim studijama masno tkivo podstiče koštani metabolizam [138,139].

Postoje dve teorije koje objašnjavaju ulogu leptina u koštanom metabolizmu, jedna koja podrazumeva *direktnu regulaciju* što uzrokuje povećanje osteoblastne proliferacije i diferencijacije [140] i druga, *indirektna regulacija*, koja podrazumeva supresiju koštanog formiranja pod uticajem hipotalamusa. Gojazni imaju visok nivo leptina. Maggio et al. su pokazali da je koštana gustina povećana kod gojaznih osoba i da je to povezano sa višim nivoom leptina u serumu [141]. Uočeno je da povećana koncentracija leptina može da bude udružena sa osteoporozom. Masno tkivo može korelirati pozitivno sa koštanom gustinom, tako kada je BMI povišen povišen je i BMD, i kod žena i kod muškaraca.

Rezistin je adipokin lokalizovan na hromozomu 19q13.2, koji proizvode adipociti i može da izazove insulinsku rezistenciju po čemu je i dobio naziv. Najviše ga ima u koštanoj srži gde stimuliše proliferaciju osteoblasta indirektno ali mu je taj efekat slab. Ovaj adipokin ima veći efekat na osteoklastogenezu povećavajući broj osteoklasta [142]. Na taj način on negativno utiče na povećanje koštane mase. Produkcija rezistina se povećava za vreme osteoklastne diferencijacije. Dakle rezistin stimuliše osteoklastnu diferencijaciju i osteoblastnu proliferaciju. Njegova koncentracija je povišena i u određenim inflamatornim stanjima. Takođe se dovodi u vezu sa pojavom reumatoidnog artritisa [122,143,144]. Predominantno je zastupljen u makrofagima a u masnom tkivu se produkuje u neadipocitnim inflamatornim ćelijama. Postoje mnogi podaci koji povezuju adipokine, koštani metabolizam i bolesti /tbl 1/. Klinički podaci ukazuju na mogućnost uticaja adipokina na koštane bolesti, osteoporozi pre svega. Dosadašnja istraživanja su prilično kontradiktorna i nejasna što zahteva dalja istraživanja u vezi uloge adipokina u koštanom metabolizmu radi boljeg razumevanja.

Visfatin spada u grupu novijih adipokina i izolovan je iz visceralnog adipoznog tkiva. Nalazi se u plazmi koštane srži, jetri i skeletnoj muskulaturi a istraživanjem je ustanovljeno da visfatin može stimulisati proliferaciju osteoblasta i izazvati povećanu mineralizaciju osteoblasta [145]. Takođe je ustanovljeno da može negativno uticati na osteoklastogenezu [146]. To je inflamatorni adipokin koji je povećan kod stanja kao što su akutna oštećenja pluća, sepsa, inflamatorna bolest creva i reumatoidni artritis.

Primećeno je da je koncentracija visfatina, produkovanog od strane leukocita, povećana kod gojaznih. Granulociti monociti i makrofagi proizvode visfatin. Smatra se da indukuje hemotaksu i produkciju IL-1 β , TNF- α i IL-6 u limfocitima [147]. Visfatin stimuliše ćelijsku proliferaciju, iskoristljivost glukoze i sintezu kolagena tipa 1 u osteoblastima [148], a takođe inhibiše formiranje osteoklasta [149].

Vaspin je adipokin za koji se zna da ima protektivnu ulogu u mnogim metaboličkim oboljenjima (diabetes mellitus, ateroskleroza). Njegovo učešće u koštanom metabolizmu se svodi na inhibiciju apoptoze osteoblasta.

Chemerin je adipokin čija je koncentracija povećana u toku diferencijacije adipocita. Takođe povećava ekspresiju genskih markera na osteoblastima kao i mineralizaciju osteoblasta [150].

Omentin 1 spada u novije adipokine koji imaju značajnu ulogu u metabolizmu glukoze i insulinske rezistencije. Što se tiče koštanog metabolizma, on inhibiše osteoblastičnu diferencijaciju.

1.9.1 Referentne vrednosti leptina i adiponektina u dece

Adipokini imaju značajnu ulogu u koštanom metabolizmu ali i u metabolizmu celog tela kako kod odraslih tako i kod dece. Podaci o vrednosti adipokina u dečjem uzrastu su oskudni. Postoji mali broj studija koje bi ukazivale o dejstvu ovih niskomolekularnih peptida na procese u dečjem organizmu i skeletu ali prethodno treba odrediti referentne vrednosti adipokina za dečji uzrast. Nivo **leptina** se menja u doba puberteta a može da bude veza između gojaznosti i metaboličkih bolesti. Nedostatak leptina vodi ka gojaznosti, dijabetesu ali i reproduktivnoj disfunkciji. **Adiponektin** je najrasprostranjeniji plazma protein produkovan u belom masnom tkivu. Koncentracija serumskog adiponektina je različita između polova u toku odrastanja. Pubertet može uticati na nivo adiponektina u serumu. Sprovedena su istraživanja u 8 zemalja Evrope i ustanovljen je nivo leptina i adiponektina kod dece od 3. do 8. godina života [151,152,153,154]. Kohortne studije su pokazale da je nivo leptina i adiponektina viši kod devojčica nego kod dečaka. Vrednosti adiponektina su bile više kod devojčica nego kod dečaka starijih od 5 godina pri istom BMI. Koncentracija leptina je bila veća kod devojčica nego kod dečaka. Generalizovano vrednost koncentracije leptina i adiponektina je veća kod devojčica nego kod dečaka u grupi normalno uhranjene dece [155,156]. Isto je i kod odraslih [157]. Gojazna deca imaju nižu koncentraciju adiponektina a višu leptina od normalno uhranjene dece [158].

1.10 UTICAJ INFLAMATORNIH CITOKINA NA LONGITUDINALNI KOŠTANI RAST

Deca sa inflamatornim oboljenjima obično imaju abnormalni rast i odložen pubertet. To se dešava zbog dejstva više faktora kao što su malnutricija, hiperkorticizam ili povećana koncentracija proinflammatoryh citokina. Ovi faktori u kombinaciji sa glukokortikoidima dovode do zaostatka u rastu uticajem na ploču rasta. U slučaju hronične inflamacije proinflammatory citokini se oslobađaju u cirkulaciju. Najrasprostranjeniji od njih su TNF- α , IL-1 β i IL-6 koji deluju supresivno na zonu rasta i regulišu koštani rast. Proces longitudinalnog koštanog rasta je kompleksan i usko regulisan od više faktora. Od hormona to su hormon rasta, IGF1, tiroidni hormone i steroidi [159]. Ishrana je takođe važan regulator rasta jer slaba ishrana utiče negativno na rast [160,161]. Hormon rasta se luči iz hipofize pod uticajem oslobađajućeg hormona faktora rasta igrajući veliku ulogu u postnatalnom rastu kosti. Smanjenje koncentracije hormona rasta dovodi do retardacije rasta a povećanje do gigantizma. IGF1 se sintetiše u jetri i igra značajnu ulogu za vreme embrionalnog i postnatalnog rasta. Hormon rasta preko IGF1 deluje na proliferaciju hondrocita stimulišući hipertrofiju istih. Takođe su detektovani receptori za hormone rasta na hondrocitima tako da nije isključeno i direktno dejstvo hormona rasta na njih [162]. Koštani rast je poremećen kod inflamatornih bolesti kao što su Crohnova bolest, juvenilni reumatoidni artritis ili ulcerozni kolitis. Takođe je primećeno da poremećaj rasta izazivaju malnutricija, glikokortikoidna terapija i proinflammatory citokini [163,164]. Prevencija retardacije rasta kod dece sa hroničnim inflamatornim bolestima se sastoji u davanju lekova koji inhibišu efekt citokina TNF- α , IL-1 β i IL-6 i na taj način obnavljaju longitudinalni rast kostiju. To su: anti TNF agensi, anti IL1 agensi, metotrexat u kombinaciji sa anti citokinskom terapijom. Davanje hormona rasta kod težih oblika JRA obnavlja longitudinalni rast kod ovih pacijenata.

2.0 HIPOTEZA

Serumska koncentracija adiponektina i leptina pozitivno korelira sa težinom povrede, stepenom formiranja kalusa i vremenom zarastanja dugih kostiju nakon akcidentalne povrede, dok koncentracija rezistina negativno korelira sa stepenom formiranja kalusa i vremenom potrebnim za kompletno zarastanje kostiju.

2.1 CILJEVI

- 2.1.1. Izmeriti koncentracije adiponektina, leptina i rezistina u uzorcima seruma dece sa akcidentalnim povredama dugih kostiju, pre intervencije i nakon završetka ortopedskog lečenja preloma.
- 2.1.2. Testirati razlike u koncentracijama navedenih adipokina između grupa dece prema tipu preloma, lokalizaciji, topografiji afektirane kosti i težini kostne povrede.
- 2.1.3. Ispitati povezanost koncentracija navedenih adipokina sa stepenom formiranja kalusa, ishodom zarastanja kostiju i vremenom potrebnim za kompletno zarastanje kostne povrede.

3.0 MATERIJAL I METODE

3.1 VRSTA STUDIJE

Prospektivna studija. Nakon klinički i radiološki utvrđenog preloma, biće sprovedena inicijalna evaluacija pacijenata i uzorkovanje materijala za predviđena ispitivanja.

3.2 UZORKOVANJE

Na osnovu očekivanog efekta, uz verovatnoću α (0.05) i snagu studije od 0.8 (80%) proračunatu na ustanovljavanju razlika između dve nezavisne grupe, ukupan broj ispitanika će biti 92 (korišćen softver G Power, verzija 3.1.9.2). Kontrolnu grupu činiće 20 osoba.

Kriterijum za uključivanje. U studiju će biti uključeni pacijenti starosti od 4 do 18 godina, sa frakturama dugih kostiju, zbrinuti na Klinici za dečiju hirurgiju, u Službi za ortopediju i koštano zglobnu traumu Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Dr Vukan Čupić. Kontrolne osobe predstavljaju zdrava deca iste dobi.

Kriterijumi za isključivanje. Iz studije će biti isključena deca sa malignim bolestima, sistemskim bolestima vezivnog tkiva, metaboličkim bolestima, deca sa urođenim anomalijama koštano zglobnog sistema i gojazna deca sa body mass indeksom iznad 30.

3.3 PROTOKOL ISTRAŽIVANJA

Istraživanje će biti sprovedeno u periodu januar 2016 – jun 2016. godine.

Pacijenti i kontrolni ispitanici će biti ispitivani na Klinici za dečiju hirurgiju u Službi za ortopediju i koštano zglobovu traumu Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije Dr Vukan Čupić.

Serumske koncentracije adiponektina, leptina i resistina biće određivane u Institutu za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije.

Kliničko – radiološko ispitivanje. Svakom pacijentu će biti učinjen rentgenski snimak u dve projekcije (AP i profilna projekcija), ukupno 5 puta u različitim terminima (neposredno pre intervencije, neposredno posle intervencije, potom u terminima kontrole posle 7 i 14 dana, i po skidanju gipsane imobilizacije).

Prelom će biti klasifikovan prema:

tipu preloma	(otvoren, zatvoren prelom)
anatomskoj lokalizaciji	(duge kosti ruku i nogu),
topografiji afektirane kosti	(frakture proks. i dist. segmenta, frakture dijafize),
težini koštane povrede	(0,1,2, ili lak, težak, komplikovan)
načinu lečenja	(zatvorena repozicija, zatvorena repozicija i fiksacija i otvorena repozicija i fiksacija)

Formiranje **kalusa** biće kvalifikovano na osnovu rentgenskih snimaka po skidanju imobilizacije.

Ishod zarastanja će biti kvalifikovan kao dobro (kompletno), nekompletno i loše.

Kod svakog ispitanika biće mereno vreme neophodno za kompletno zarastanje nastale koštane povrede.

Određivanje koncentracije adipokina. Svakom ispitaniku će biti uzet uzorak venske krvi u zapremini od 2 ml (bez antikoagulansa), u dva vremenska termina (neposredno pre intervencije i po završetku ortopedskog lečenja). Uzorak će biti centrifugiran, serum odvojen i zamrznut na -70° C do daljih analiza. Vrednosti adiponektina, leptina i resistina biće određeni komercijalnim kitom za određivanje koncentracije ovih medijatora na protočnom citometru.

3.4 VARIJABLE KOJE SE MERE U STUDIJI

Nezavisne varijable: serumske vrednosti adiponektina, leptina i resistina.

Zavisne varijable: stepen formiranja kalusa, ishod zarastanja kostiju i vreme potrebno za kompletno zarastanje kostne povrede.

3.5 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

U diskriptivnoj statistici biće korišćeni uobičajeni parametri za procenu centralne tendencije podataka (srednja vrednost, medijana) kao i parametri za procenu varijabilnosti grupa (standardna devijacija, raspon, 95%-ne granice poverenja). Kada to bude neophodno, distribucija nekih obeležja (u okviru predviđenih kategorija) biće predstavljena u obliku frekvencija. Normalnost raspodele biće proverena Colmogorov-Smirnov testom. U zavisnosti od ove procene, za poređenje dve grupe koristićemo Studentov T test ili alternativno Mann-Whitney test. Za procenu značajnosti tri ili više grupa koristiće se *ANOVA* test u jednom pravcu (*post hoc Bonferonni* test) ili neparametarski *Kruskal-Wallis* test (*post hoc Dunn* test). Razlika distribucije obeležja između grupa biće proverena primenom Hi-kvadrat testa. Za procenu jačine povezanosti različitih parametara koristićemo *Pearson* ili alternativno *Spearman* test korelacije. Razlike će biti smatrane statistički značajnim u slučaju $p \leq 0,05$, umereno statistički značajnim u slučaju $p \leq 0,01$ i visoko statistički značajnim u slučaju $p \leq 0,001$. Svi statistički proračuni biće urađeni korišćenjem *GraphPadPrism 5.01* softvera.

4.0 REZULTATI

4.1 FORMIRANJE KALUSA

Vrednosti ispitivanih citokina odredili smo u uzorcima ukupno 92 dece sa frakturama dugih kostiju i 20 dece iz kontrolnih grupa (kontrolna grupa sa frakturama falangi, kontrolna grupa dece bez preloma kostiju - povrede mekih tkiva) (Tabela 4.1.-1.). Kod 10-oro dece kalus je bio slabo formiran, kod 60-oro dece kalus je bio umereno formiran, a kod 22 dece ustanovili smo dobro formiran kalus nakon frakture.

Tabela 4.1.-1. Vrednosti ispitivanih citokina u grupama podeljenim po stepenu formiranja kalusa ($\bar{x} \pm SD$) (vrednosti adiponektina, adipsina, leptina i resistina u ng/ml), (vrednosti ostalih citokina u pg/ml). Inicijalni uzorak.

n	formiranje kalusa			kontrolne grupe	
	10	60	22	10	10
	slabo	umereno	dobro	prelom falangi	zdravi
adiponektin	2198 ± 826	2404 ± 739	2288 ± 523	2282 ± 449	1976 ± 569
adipsin	^{a, b} 1020 ± 455	^c 1020 ± 856	^d 902 ± 648	^b 536 ± 203	^{a, c, d} 399 ± 248
resistin	150 ± 105	^e 149 ± 123	109 ± 44	^e 68 ± 34	84 ± 22
leptin	327 ± 222	222 ± 135	221 ± 75	183 ± 54	178 ± 39
RBP4	^f 283 ± 68	253 ± 84	249 ± 66	243 ± 104	^f 194 ± 56
IFN-γ	284 ± 123	311 ± 150	313 ± 137	247 ± 193	276 ± 99
IL-6	45 ± 44	^g 18 ± 11	^{h, i} 17 ± 5	ⁱ 12 ± 7	^{g, h} 8 ± 3
IP-10	4 ± 1	5 ± 3	4 ± 1	4 ± 1	5 ± 2
IL-1β	46 ± 10	53 ± 18	^j 60 ± 19	^j 41 ± 14	62 ± 22
TNF-α	97 ± 54	82 ± 50	^{k, l} 114 ± 63	^k 48 ± 30	^l 50 ± 36
MCP-1	98 ± 18	98 ± 51	101 ± 27	79 ± 26	89 ± 42
IL-8	^m 2823 ± 1118	2351 ± 1027	2141 ± 437	1967 ± 451	^m 1781 ± 375

U odnosu na kontrolnu grupu dece bez fraktura, vrednosti adiponektina, adiposina, resistina i leptina su bile povećane u svim grupama pacijenata, kao i u grupi kontrolne dece koji su imali izolovani prelom falangi. Vrednosti IFN- γ , RBP-4 i IL-6 bile su veće u grupama pacijenata u poređenju sa kontrolnom grupom dece. Vrednosti IP10 nisu se značajno razlikovale od vrednosti detektovanih u grupi kontrolne dece bez preloma. Vrednosti IL-1 β su bile najveće u grupi kontrolne dece bez preloma, veće u odnosu na sve druge ispitivane grupe. Vrednosti TNF- α , MCP-1 i IL-8 bile su veće u grupama pacijenata u poređenju sa kontrolnom grupom dece. Statistička analiza pokazala je značajno povećanje koncentracije adiposina, RBP-4, IL-8, IL-6 i TNF- α u uzorcima pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu dece bez preloma (*Tabela 4.2.-A*). Poređenje uzoraka pacijenata sa kontrolnom grupom dece koja su imala prelome falangi pokazao je sličan profil, sa značajnim povećanjem koncentracije adiposina, resistina, IL-6, IL1- β i TNF- α (*Tabela 4.2.-B*).

Tabela 4.1.-2. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina između grupa pacijenata i kontrolnih grupa. **A.** razlika između grupa pacijenata i kontrolne grupe dece bez preloma. **B.** razlika između grupa pacijenata i kontrolne grupe dece sa prelomom falangi. Inicijalni uzorak

A.	razlika između pacijenata i kontrola (C)			značajnost	
^a adipsin	slabo f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0140	*
^f RBP4	slabo f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0319	*
^m IL-8	slabo f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0396	*
^c adipsin	umereno f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0187	*
^g IL-6	umereno f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0027	**
^d adipsin	dobro f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0361	*
^h IL-6	dobro f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0003	***
^l TNF-α	dobro f.k.	▲	vs zdravi	p = 0.0177	*

B.	razlika između pacijenata i kontrola (Cfd)			značajnost	
^b adipsin	slabo f.k.	▲	vs prelom falangi	p = 0.0388	*
^e resistin	umereno f.k.	▲	vs prelom falangi	p = 0.0194	*
ⁱ IL-6	dobro f.k.	▲	vs prelom falangi	p = 0.0468	*
^j IL-1β	dobro f.k.	▲	vs prelom falangi	p = 0.0450	*
^k TNF-α	dobro f.k.	▲	vs prelom falangi	p = 0.0131	*

Na osnovu dobijenih podataka može se zaključiti da je formiranje kalusa povezano sa značajnim povećanjem koncentracije određenih citokina (Tabela 4.3). U odnosu na rezultate dobijene u kontrolnoj grupi dece (bez preloma, Tabela 4.3-A.) slabo formiranje kalusa bilo je povezano sa značajnim povećanjem koncentracije adispina, RBP-4 i IL-8. U grupi dece sa umereno formiranim kalusom, značajno su bile povećane vrednosti adipsina i IL-6, dok je u grupi dece sa dobro formiranim kalusom detektovano značajno povećanje vrednosti adispina, IL-6 i TNF- α . U poređenju sa rezultatima dobijenim u kontrolnoj grupi dece sa prelomom falangi (Tabela 4.2.-3.B), slabo formiranje kalusa bilo je povezano sa značajnim povećanjem koncentracije adipsina, u dece sa umereno formiranim kalusom detektovano je povećanje vrednosti resistina, a u grupi dece sa dobro formiranim kalusom detektovan je značajan porast IL-6, IL-1 β i TNF- α . Ovi rezultati ukazuju da je slabo formiranje kalusa povezano sa posebnim profilom citokina, povećanjem vrednosti RBP-4 i IL-8, dok je dobro formiranje kalusa povezano sa povećanjem koncentracije inflamatornih citokina, IL-6 i TNF- α .

Tabela 4.1.-3. Utvrđeno značajno povećanje koncentracije citokina u pojedinim ispitivanim grupama pacijenata podeljenim u odnosu na stepen formiranja kalusa. Prema kontrolnoj grupi dece bez preloma (A.). Prema kontrolnoj grupi dece sa prelomom falangi (B). Inicijalni uzorak

kalus formiran	A. Pac vs C			B. Pac vs Cfd		
	slabo	umereno	dobro	slabo	umereno	dobro
adiponektin adipsin resistin leptin RBP-4	adipsin RBP-4	adipsin	adipsin	adipsin	resistin	
IFN- γ IL-6 IP-10 IL-1 β TNF- α MCP-1 IL-8		IL-6	IL-6 TNF- α			IL-6 IL-1 β TNF- α

Analiza vrednosti svih ispitivanih citokina pokazala je da ne postoje značajne međusobne razlike između grupa pacijenata podeljenih na osnovu stepena formiranog kalusa.

Dalje, analizirali smo uzajamnu povezanost vrednosti ispitivanih adipokina (Tabela 4.1.-4).

Tabela 4.1.-4. Analiza korelacije adipokina u pojedinim ispitivanim grupama pacijenata podeljenim u odnosu na stepen formiranja kalusa. Koeficijenti korelacije (A) i nivo utvrđene značajnosti (B).

Tabela 4.1.-4.A.

R koeficijent	Adiponektin	Adipsin	Leptin	Resistin	RBP4	
slabo formiran kalus	Adiponektin		-0.4598	-0.8422	-0.2593	-0.2495
	Adipsin	-0.4598		0.1433	0.5789	0.1599
	Leptin	-0.8422	0.1433		0.0347	0.1720
	Resistin	-0.2593	0.5789	0.0347		-0.4530
	RBP4	-0.2495	0.1599	0.1720	-0.4530	
umereno formiran kalus	Adiponektin		0.3933	0.2972	0.3661	0.0797
	Adipsin	0.3933		0.4556	0.5958	0.3620
	Leptin	0.2972	0.4556		0.3223	0.0391
	Resistin	0.3661	0.5958	0.3223		0.0551
	RBP4	0.0797	0.3620	0.0391	0.0551	
dobro formiran kalus	Adiponektin		0.5771	-0.0598	0.3052	0.5178
	Adipsin	0.5771		0.3443	0.3294	0.6029
	Leptin	-0.0598	0.3443		0.5205	0.1343
	Resistin	0.3052	0.3294	0.5205		0.1209
	RBP4	0.5178	0.6029	0.1343	0.1209	
deca sa prelomom kratkih kostiju	Adiponektin		-0.1115	-0.7524	0.3875	0.3899
	Adipsin	-0.1115		-0.0977	-0.2620	0.6759
	Leptin	-0.7524	-0.0977		-0.1487	-0.3472
	Resistin	0.3875	-0.2620	-0.1487		0.0887
	RBP4	0.3899	0.6759	-0.3472	0.0887	
deca bez preloma	Adiponektin		-0.2221	-0.3653	0.1358	0.8572
	Adipsin	-0.2221		0.5683	0.8026	0.2224
	Leptin	-0.3653	0.5683		0.4454	0.0818
	Resistin	0.1358	0.8026	0.4454		0.5874
	RBP4	0.8572	0.2224	0.0818	0.5874	

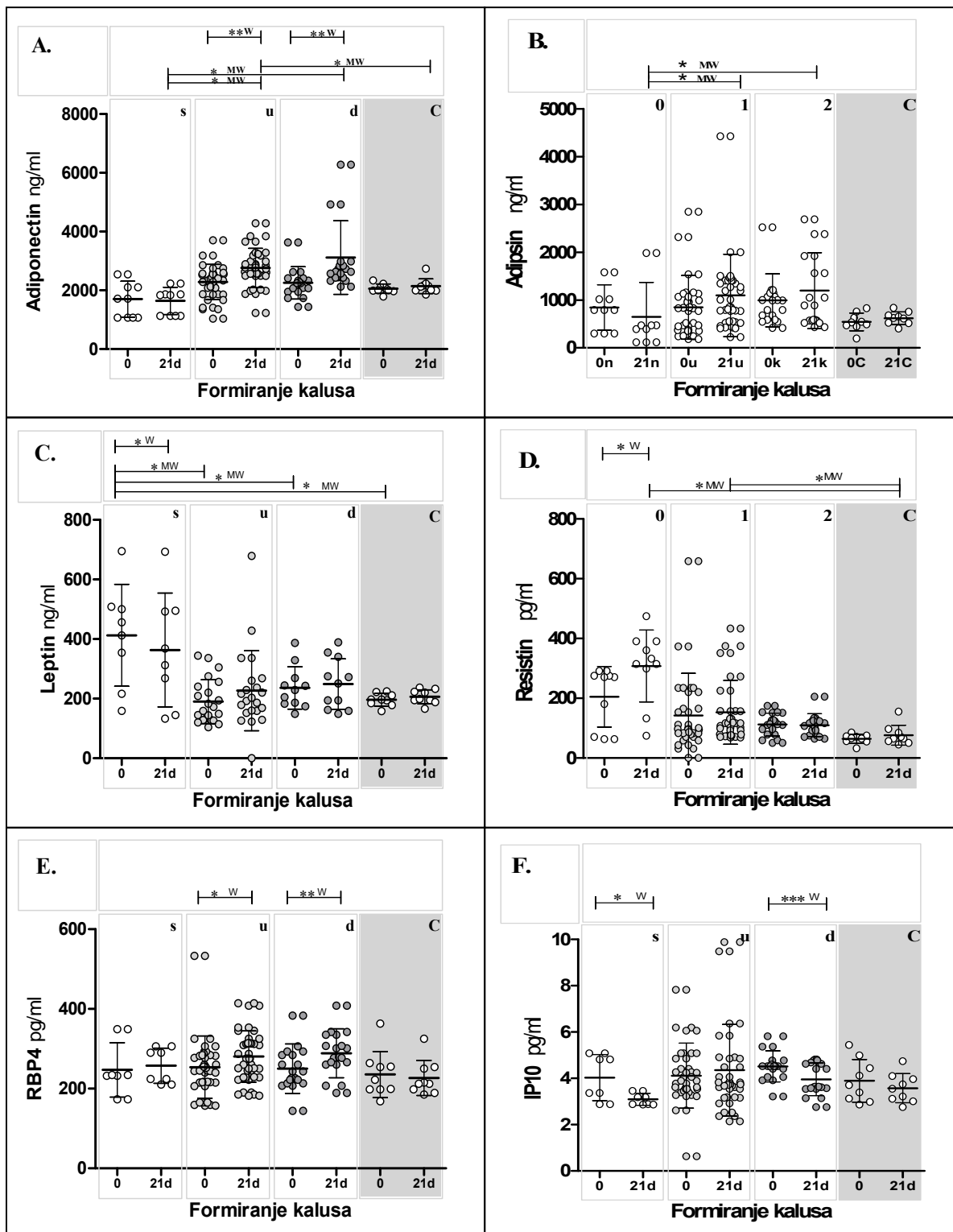
Tabela 4.1.-4.B.

P značaj	Adiponektin	Adipsin	Leptin	Resistin	RBP4	
slabo formiran kalus	Adiponektin		0.3589	0.0354	0.6198	0.6335
	Adipsin	0.3589		0.7865	0.2286	0.7622
	Leptin	0.0354	0.7865		0.9480	0.7445
	Resistin	0.6198	0.2286	0.9480		0.3669
	RBP4	0.6335	0.7622	0.7445	0.3669	
umereno formiran kalus	Adiponektin		0.0036	0.0261	0.0060	0.5592
	Adipsin	0.0036		0.0006	0.0000	0.0077
	Leptin	0.0261	0.0006		0.0164	0.7746
	Resistin	0.0060	0.0000	0.0164		0.6894
	RBP4	0.5592	0.0077	0.7746	0.6894	
dobro formiran kalus	Adiponektin		0.0077	0.7968	0.1785	0.0162
	Adipsin	0.0077		0.1372	0.1562	0.0049
	Leptin	0.7968	0.1372		0.0156	0.5616
	Resistin	0.1785	0.1562	0.0156		0.6015
	RBP4	0.0162	0.0049	0.5616	0.6015	
deca sa prelomom kratkih kostiju	Adiponektin		0.8334	0.0844	0.4479	0.4448
	Adipsin	0.8334		0.8539	0.6160	0.1406
	Leptin	0.0844	0.8539		0.7787	0.5001
	Resistin	0.4479	0.6160	0.7787		0.8673
	RBP4	0.4448	0.1406	0.5001	0.8673	
deca bez preloma	Adiponektin		0.6723	0.4765	0.7716	0.0137
	Adipsin	0.6723		0.3176	0.0546	0.6720
	Leptin	0.4765	0.3176		0.3760	0.8775
	Resistin	0.7716	0.0546	0.3760		0.1655
	RBP4	0.0137	0.6720	0.8775	0.1655	

U grupi pacijenata sa slabo formiranim kalusom jedina ustanovljena značajna korelacija bila je između adiponektina i leptina, i to tako što je povećanje koncentracije leptina indirektno bilo povezano sa vrednošću adiponektina (Tabela 4.1.-4). Nasuprot tome, u grupi pacijenata sa umereno formiranim kalusom vrednosti adiponektina su direktno korelirale sa vrednostima adipsina, leptina i rezistina, vrednosti adipsina sa svim ispitivanim adipokinima, vrednosti leptina sa svim adipokinima sem RBP4, kao i vrednosti rezistina. U grupi dece sa dobro formiranim kalusom vrednosti adiponektina direktno su korelirale sa adipsinom i RBP4, vrednosti leptina korelirale su sa vrednošću rezistina, dok su vrednosti RBP4 korelirale sa vrednostima adiponektina i adipsina.

Iz ovih podataka vidljivo je da je dobro ili loše formiran kalus značajno povezan sa posebnim profilom adipokina u inicijalnom uzorku.

Dalje, analizirali smo vrednosti ispitivanih citokina u odnosu na dinamiku formiranja kalusa, poređenjem inicijalnih i kontrolnih vrednosti (21/0 dan).



Slika 4.1.-1. Vrednosti ispitivanih medijatora u odnosu na stepen formiranja kalusa.

U grupama pacijenata sa umereno formiranim i dobro formiranim kalusom vrednosti adiponektina su značajno porasle nakon 3 nedelje praćenja (*Slika 4.2.-1.A.*). Vrednosti adiponektina nakon 21 dan bile su značajno niže u uzorcima bolesnika sa slabo formiranim kalusom u odnosu na grupe bolesnika sa umereno i dobro formiranim kalusom.

Nakon 21 dan vrednosti adipsina su porasle u grupama sa umereno i dobro formiranim kalusom, a pale su u grupi dece sa slabo formiranim kalusom (*Slika 4.2.-1.B.*). Navedene razlike nisu bile značajne.

Vrednosti leptina bile su inicijalno značajno povećane u grupi dece sa slabo formiranim kalusom, u odnosu na sve ispitivane grupe (i kontrolnu grupu) (*Slika 4.2.-1.C.*). Dodatno, jedino u grupi dece sa slabo formiranim kalusom vrednosti leptina bile su značajno niže nakon 21 dana.

Vrednosti rezistina bile su najveće u grupi dece sa slabo formiranim kalusom, kako inicijalno, tako i nakon 21 dana (*Slika 4.2.-1.D.*). Dodatno, samo u ovoj grupi registrovali smo porast značajan vrednosti rezistina nakon 21 dana.

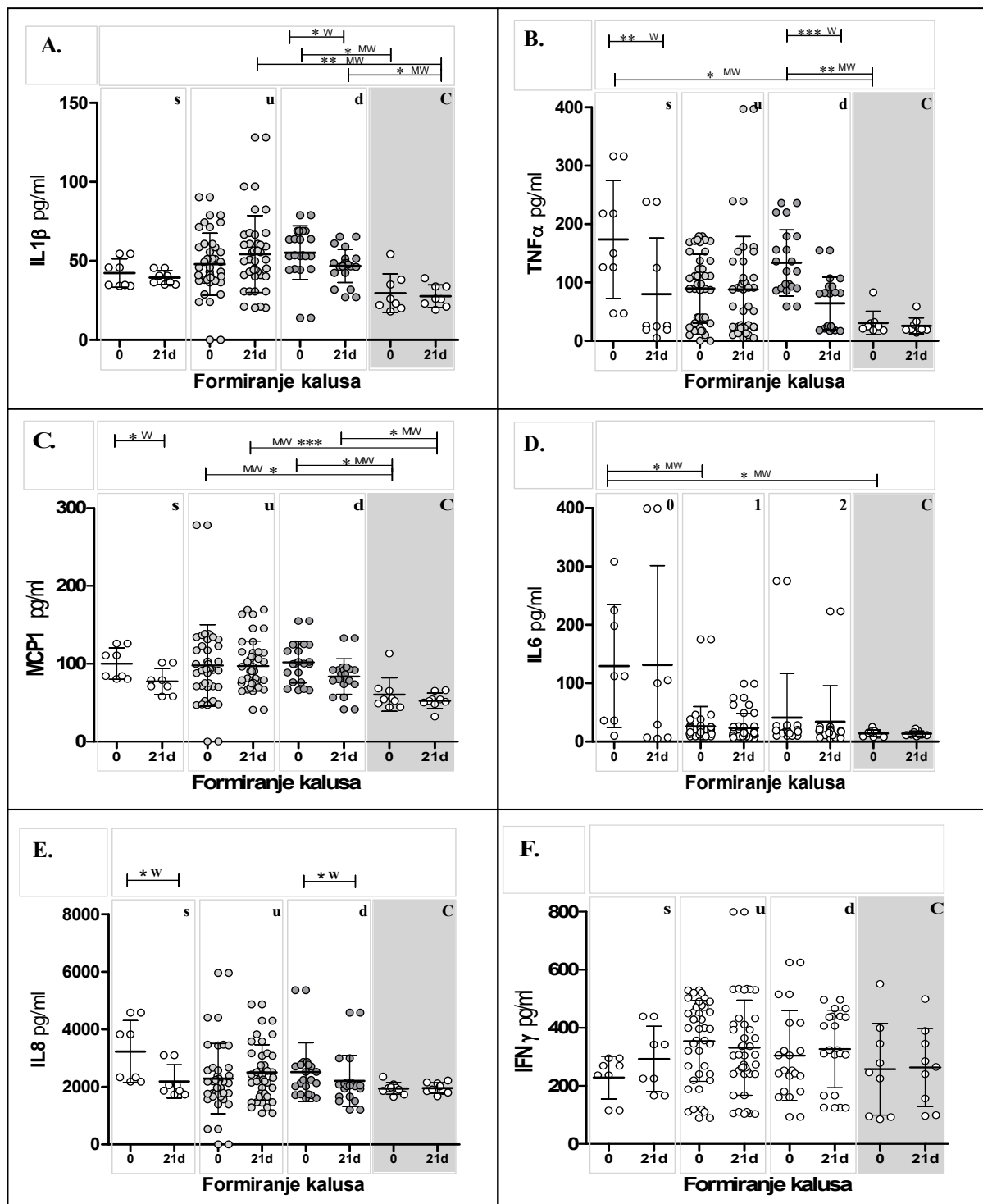
Vrednosti retinol vezujućeg proteina 4 (RBP-4) nakon 21 dan su značajno porasle u grupama sa umereno i dobro formiranim kalusom (*Slika 4.2.-1.E.*), a bile bez značajnih razlika u grupi sa slabo formiranim kalusom.

Vrednosti interferon gama indukovanog proteina (IP-10), ili CXCL-10 hemokina su bile značajno snižene nakon 21 dana u grupi sa slabo formiranim kalusom, ali i u grupi sa dobro formiranim kalusom (*Slika 4.2.-1.F.*).

Interesantno, vrednosti interleukina 1 β (IL-1 β) bile su najveće u grupi dece sa dobro formiranim kalusom nakon 21 dan (*Slika 4.2.- 2.A.*). Jedino u grupi dece sa dobro formiranim kalusom detektovali smo značajnu promenu – sniženje koncentracije IL-1 β nakon 21 dan.

Prosečne inicijalne vrednosti TNF- α bile su najveće u grupi dece sa slabo formiranim kalusom (*Slika 4.2.- 2.B.*). Iznenadujuće, značajne promene koncentracije TNF- α detektovali smo u grupi dece sa slabo formiranim ali i u grupi dece sa dobro formiranim kalusom.

Inicijalne prosečne vrednosti monocitnog hemotaktičkog proteina 1 (MCP-1) bile su približno iste u sve tri grupe, ali samo u grupi dece sa slabo formiranim kalusom detektovali smo značajan pad vrednosti nakon 21 dana (*Slika 4.2.- 2.C.*).



Slika 4.1.-2. Vrednosti ispitivanih medijatora u odnosu na stepen formiranja kalusa.

Vrednosti interleukina 6 (IL-6) bile su najveće u grupi dece sa slabo formiranim kalusom, kako inicijalno, tako i nakon 21 dana (Slika 4.2.- 2.D.). Niti u jednoj grupi nismo detektovali značajnu promenu vrednosti IL-6 nakon 21 dan.

Nakon 21 dana detektovali smo značajnu promenu vrednosti IL-8 u grupama dece sa slabo i dobro formiranim kalusom (Slika 4.1.- 2.E.).

Vrednosti interferona gama (IFN- γ) nisu se značajno razlikovale između ispitivanih grupa, bilo inicijalno ili nakon 21 dan (Slika 4.2.- 2.F.). U grupi dece sa slabo formiranim kalusom detektovali smo porast vrednosti nakon 21 dan, bez statističke značajnosti.

Tabela 4.1.-5. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora (21/0 dan) u odnosu na stepen formiranja kalusa (Wilcoxon test).

	formiranje Kalusa		
	slabo	umereno	dobro
adiponektin		** ▲	** ▲
adipsin			
leptin	* ▼		
rezistin	* ▲		
RBP-4		** ▲	* ▲
IL-1 β			* ▼
TNF- α	* ▼		*** ▼
IL-8	* ▼		* ▼
IL-6			
MCP-1	* ▼		
IFN- γ			
IP-10			* ▼

U odnosu na stepen formiranja kalusa možemo da zaključimo da je slabo formiranje kalusa značajno udruženo sa padom koncentracije leptina, TNF- α , IL-8 i MCP-1, a značajnim porastom vrednosti rezistina nakon 21 dan.

Takođe, dobro formiran kalus udružen je sa porastom vrednosti adiponektina i adipsina, a padom vrednosti IL-1 β , TNF- α , IL-8 i RBP-4 nakon 21 dan.

4.2 ANATOMSKA LOKALIZACIJA POVREĐENE KOSTI

Vrednosti ispitivanih citokina odredili smo u uzorcima ukupno 92 dece sa frakturama dugih kostiju i 20 dece iz kontrolnih grupa (kontrolna grupa sa frakturama falangi, kontrolna grupa dece bez preloma kostiju, povrede mekih tkiva) (Tabela 4.2.-1.).

Tabela 4.2.-1 Anatomsko lokalizacija povređene kosti i vrednosti ispitivanih citokina ($x \pm SD$, pg/ml)(vrednosti adiponektina, adipsina, leptina i resistina u ng/ml)(vrednosti ostalih citokina u pg/ml). Inicijalni uzorak.

	Ruka				Noga			Kontrole	
	H	R	U	R+U	F	T	T+Fb	Cfd	C
n	23	7	5	32	9	8	8	10	10
adiponektin	2451 ± 680	2137 ± 992	2116 ± 752	2272 ± 547	2182 ± 403	2953 ± 523	1890 ± 761	2282 ± 449	1976 ± 569
adipsin	1028 ± 848	613 ± 412	773 ± 336	1108 ± 692	667 ± 529	801 ± 970	796 ± 468	584 ± 202	531 ± 399
resistin	159 ± 130	93 ± 92	91 ± 26	154 ± 118	110 ± 37	182 ± 131	92 ± 61	68 ± 34	82 ± 22
leptin	252 ± 163	140 ± 111	257 ± 90	228 ± 125	232 ± 123	194 ± 131	195 ± 59	191 ± 50	206 ± 73
RBP4	231 ± 68	234 ± 108	177 ± 29	258 ± 68	246 ± 69	237 ± 83	343 ± 104	249 ± 94	188 ± 70
IFN-γ	310 ± 148	265 ± 160	214 ± 81	279 ± 149	391 ± 101	298 ± 131	410 ± 97	227 ± 171	273 ± 92
IL-6	21 ± 13	12 ± 8	15 ± 8	16 ± 9	22 ± 13	22 ± 7	14 ± 9	13 ± 6	8 ± 3
IP-10	5 ± 2	4 ± 1	5 ± 1	4 ± 2	4 ± 1	4 ± 1	5 ± 2	4 ± 1	5 ± 2
IL-1β	64 ± 27	42 ± 18	58 ± 19	48 ± 18	56 ± 23	74 ± 38	60 ± 16	38 ± 13	65 ± 22
TNF-α	123 ± 111	83 ± 77	112 ± 22	95 ± 65	48 ± 31	62 ± 51	87 ± 71	45 ± 29	42 ± 31
MCP-1	103 ± 34	77 ± 35	79 ± 11	85 ± 33	103 ± 40	109 ± 46	117 ± 43	74 ± 24	82 ± 18
IL-8	2350 ± 906	1908 ± 882	2055 ± 113	2487 ± 1186	2099 ± 334	2407 ± 1225	2173 ± 1028	1915 ± 446	1784 ± 345

U odnosu na kontrolnu grupu dece bez fraktura, vrednosti adiponektina su bile povećane u svim ispitivanim grupama, sem u grupi dece sa udruženim prelomom obe kosti podkolenice (tibia+fibula).

Vrednosti adipsina i resistina su bile veće od kontrolnih u svim grupama pacijenata. Vrednosti leptina su bile veće od kontrolnih samo u grupama dece sa prelomima humerusa, ulne, udruženog preloma radijusa i ulne i prelomima femura, dok su u svim ostalim ispitivanim grupama vrednosti leptina bile niže od kontrolnih.

Vrednosti retinol vezujućeg proteina RBP-4 i IFN- γ bile su veće u odnosu na kontrolnu grupu u svim grupama ispitanika sem u grupi dece sa prelomom ulne.

Vrednosti IL-6, IL-8 i TNF- α su bile veće od kontrolnih u svim grupama pacijenata.

Vrednosti MCP-1 i IL-1 β bile su veće u odnosu na kontrolnu grupu u svim grupama ispitanika sem u grupi dece sa prelomom ulne i radijusa.

Vrednosti IP-10 u svim ispitivanim grupama pacijenata nisu se razlikovale od kontrolnih vrednosti.

Statistička analiza razlika ispitivanih citokina između grupe pacijenata i grupe kontrolnih osoba pokazala je značajno povećanje koncentracije pojedinih citokina (profila) u odnosu na anatomske lokalizacije povređene kosti (Tabela 4.2.-2.).

U grupi dece sa prelomom humerusa detektovali smo značajno povećanje koncentracije IL-6 i TNF- α , dece sa prelomom ulne imali su značajno povećanje vrednosti TNF- α , dok smo u dece sa udruženim prelomom kostiju podlaktice detektovali značajno povećanje resistina, IL-6, RBP-4 i TNF- α . U grupi dece sa prelomom femura detektovali smo značajno povećanje koncentracije IL-6 i IFN- γ , dece sa prelomom tibie imali su značajno povećanje vrednosti adiponektina, adiposina i IL-6, dok smo u dece sa udruženim prelomom kostiju podkolenice detektovali značajno povećanje IL-6, RBP-4 i IFN γ .

Tabela 4.2.-2. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina između grupe pacijenata i grupe kontrolnih osoba (bez preloma) prema anatomske lokalizaciji povređene kosti. Inicijalni uzorak.

citokin	razlika između pacijenata i kontrola					značajnost	
IL-6	H	(humerus)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0076
TNF-α	H	(humerus)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0159
TNF-α	U	(ulna)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0238
resistin	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0102
IL-6	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0067
RBP-4	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0206
TNF-α	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0154
IFN-γ	F	(femur)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0266
IL-6	F	(femur)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0018
adiponektin	T	(tibia)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0147
adipsin	T	(tibia)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0391
IL-6	T	(tibia)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0047
RBP4	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0047
IFN-γ	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0104
IL-6	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	C	(zdravi)	p = 0.0153

Statistička analiza razlika ispitivanih citokina između grupe pacijenata i grupe kontrolnih osoba sa prelomima falangi takođe je pokazala značajno povećanje koncentracije pojedinih citokina (profila) prema anatomskoj lokalizaciji povređene kosti (*Tabela 4.2.-3.*).

U grupi dece sa prelomom humerusa detektovali smo značajno povećanje koncentracije resistina, IL1- β , MCP-1 i TNF- α , deca sa prelomom ulne imali su značajno povećanje vrednosti TNF- α , dok smo u dece sa udruženim prelomom kostiju podlaktice detektovali značajno povećanje resistina i TNF- α .

U grupi dece sa prelomom femura detektovali smo značajno povećanje koncentracije resistina i IFN- γ , deca sa prelomom tibie imala su značajno povećanje vrednosti adiponektina, adipsina IL-1 β i IL-6, dok smo u dece sa udruženim prelomom kostiju podkolenice detektovali značajno povećanje MCP-1 i IFN- γ .

Tabela 4.2.-3. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina između grupe pacijenata i grupe kontrolnih osoba (prelom falangi) prema anatomskoj lokalizaciji povređene kosti

citokin	razlika između pacijenata i kontrola				značajnost
resistin	H	(humerus)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0336
IL1-β	H	(humerus)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0478
MCP-1	H	(humerus)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0387
TNF-α	H	(humerus)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0085
TNF-α	U	(ulna)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0121
resistin	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0082
TNF-α	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0149
resistin	F	(femur)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0343
IFN-γ	F	(femur)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0343
adiponektin	T	(tibia)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0498
adipsin	T	(tibia)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0107
IL-6	T	(tibia)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0463
IL-1β	T	(tibia)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0135
IFN-γ	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0281
MCP-1	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0379
IL1-β	C	(zdravi)	▲	vs	Cfd (prelom falangi) p = 0.0025

Na osnovu dobijenih podataka može se zaključiti da se u dece sa prelomima dugih kostiju različitih lokalizacija detektuju različiti dominantni profili citokina (*Tabela 4.2.-4.*). U odnosu na rezultate dobijene u kontrolnoj grupi dece (bez preloma, *Tabela 4.2.-4.A.*) deca sa prelomima kostiju ruku imaju značajno povećanje pre svega TNF- α i resistina, dok se kod dece sa prelomima dugih kostiju nogu detektuje značajno povećanje IFN- γ , adiponektina i adipsina. Vrednosti IL-6 povećane su u obe grupe dece, sa prelomima kostiju i ruku i nogu.

Sličan profil značajnog povećanja pojedinih citokina demonstriran je i kada se analiziraju uzorci pacijenata sa prelomima kostiju prema kontrolnoj grupi sa prelomima falangi (*Tabela 4.2.-4.B.*).

Ovi rezultati ukazuju da su prelomi dugih kostiju ruku povezani sa značajnim povećanjem koncentracije inflamatornog citokina TNF- α i resistina, dok su prelomi kostiju nogu povezani sa značajnim povećanjem koncentracije adipokina, adiponektina i adipsina, kao i povećanjem koncentracije ključnog TH1 citokina, IFN- γ .

Tabela 4.2.-4. Utvrđeno značajno povećanje koncentracije citokina u pojedinim ispitivanim grupama pacijenata podjeljenim u odnosu na anatomska lokalizaciju preloma prema kontrolnoj grupi dece bez preloma (A) i kontrolnoj grupi dece sa prelomom falangi (B). Inicijalni uzorak.

A	humerus	radius	ulna	radius +ulna	femur	tibia	tibia +fibula
adiponektin adipsin resistin leptin RBP4				resistin RBP4		adiponektin adipsin	RBP4
IFN- γ IL-6 IP-10 IL-1 β TNF- α MCP-1 IL-8	IL-6 TNF- α		TNF- α	IL-6 TNF- α	IFN- γ IL-6	IL-6	IFN- γ IL-6

B	humerus	radius	ulna	radius +ulna	femur	tibia	tibia +fibula
adiponektin adipsin resistin leptin RBP4		resistin		resistin	resistin	adiponektin adipsin	
IFN- γ IL-6 IP-10 IL-1 β TNF- α MCP-1 IL-8		IL-1 β TNF- α MCP-1	TNF- α	TNF- α	IFN- γ	IL-6 IL-1 β	IFN- γ MCP-1

Analiza između grupa pacijenata podjeljenih po anatomske lokalizaciji preloma takođe je pokazala postojanje značajnih razlika u vrednosti ispitivanih citokina (*Tabela 4.2.-5.*).

U uzorcima pacijenata sa prelomom tibie detektovali smo značajno veće koncentracije adiponektina pre svega u odnosu na pacijente sa prelomom radijusa i ulne, ali i u odnosu na pacijente sa prelomom femura, odnosno udruženim prelomom tibie i fibule.

Vrednosti resistina bile su značajno veće u uzorcima dece sa udruženim prelomom kostiju podlaktice u odnosu na decu sa prelomom radiusa i decu sa udruženim prelomom kostiju podkolenice.

Vrednosti leptina bile su značajno veće jedino u uzorcima dece sa prelomom radiusa u odnosu na decu sa prelomom humerusa.

Vrednosti retinol vezujućeg proteina (RBP-4) bile su značajno veće u uzorcima dece udruženim prelomom kostiju podkolenice u poređenju sa decom sa prelomom ulne, humerusa, udruženim prelomom radiusa i ulne i femura. Takođe, vrednosti RBP-4 bile su značajno veće u uzorcima dece sa udruženim prelomom kostiju podlaktice u odnosu na decu sa izolovanim prelomom ulne.

Tabela 4.2.-5. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina između grupa pacijenata prema anatomskoj lokalizaciji povređene kosti

citokin	razlika između grupa pacijenata				značajnost
adiponektin	T	(tibia)	▲	vs	R+U (radius + ulna) p = 0.0137
adiponektin	T	(tibia)	▲	vs	F (femur) p = 0.0303
adiponektin	T	(tibia)	▲	vs	T+Fb (tibia + fibula) p = 0.0109
resistin	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	R (radius) p = 0.0408
resistin	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	T+Fb (tibia + fibula) p = 0.0346
leptin	R	(radius)	▲	vs	H (humerus) p = 0.0394
RBP-4	R+U	(radius+ulna)	▲	vs	U (ulna) p = 0.0271
RBP-4	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	R+U (radius+ulna) p = 0.0408
RBP-4	T+Fb	(radius+ulna)	▲	vs	U (ulna) p = 0.0121
RBP-4	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	H (humerus) p = 0.0067
RBP-4	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	F (femur) p = 0.0500
IFN-γ	F	(femur)	▲	vs	R+U (radius+ulna) p = 0.0154
IFN-γ	F	(femur)	▲	vs	U (ulna) p = 0.0280
IFN-γ	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	U (ulna) p = 0.0121
IFN-γ	T+Fb	(tibia + fibula)	▲	vs	R+U (radius+ulna) p = 0.0129
IL-1β	H	(humerus)	▲	vs	R (radius) p = 0.0312
IL-1β	H	(humerus)	▲	vs	R+U (radius+ulna) p = 0.0142
TNF-α	F	(femur)	▼	vs	U (ulna) p = 0.0140
TNF-α	F	(femur)	▼	vs	H (humerus) p = 0.0081
TNF-α	F	(femur)	▼	vs	R+U (radius+ulna) p = 0.0196

Vrednosti interferona gama (IFN- γ), ključnog TH1 citokina, bile su značajno veće u uzorcima dece sa prelomima kostiju nogu u odnosu na grupe dece sa prelomima kostiju ruku. Tako, kod dece sa prelomom femura detektovano je značajno više IFN- γ u odnosu na decu sa prelomom ulne, odnosno udruženim prelomom radiusa i ulne. Takođe, kod dece sa udruženim prelomom kostiju podkolenice detektovano je značajno više IFN- γ u odnosu na decu sa prelomom ulne, odnosno udruženim prelomom radiusa i ulne.

Vrednosti inflamatornog IL-1 β značajno su se razlikovale jedino između grupa dece sa prelomom kostiju ruku, time što su bile značajno veće u grupi dece sa prelomom humerusa u poređenju sa decom sa prelomom radiusa i udruženim prelomom radiusa i ulne.

Vrednosti inflamatornog TNF- α značajno su se razlikovale između grupa dece sa prelomom kostiju nogu i kostiju ruku. Deca sa prelomom femura imali su značajno manje TNF- α u poređenju sa decom sa prelomom ulne, prelomom radiusa i udruženim prelomom radiusa i ulne.

4.3 VRSTA PRELOMA I VREDNOSTI CITOKINA

Ispitivane pacijente dalje smo podelili u četiri grupe prema vrsti preloma afektirane kosti, pacijente sa epifiziolizom, kosim prelomom, poprečnim i spiralnim prelomom dugih kostiju. Kod svih pacijenata odredili smo vrednosti ispitivanih citokina (*Tabela 4.3.-1.*).

Tabela 4.3.-1. Vrsta preloma povređene kosti i vrednosti ispitivanih citokina ($x \pm SD$, pg/ml)(vrednosti adiponektina, adipsina, leptina i resistina u ng/ml)(vrednosti ostalih citokina u pg/ml). Inicijalni uzorak.

	prelom				Kontrole	
	epifizioloza 1	kosi 2	poprečni 3	spiralni 4	Cfd	C
n	8	24	49	11	10	10
adiponektin	2366 ± 433	2513 ± 713	2324 ± 509	1639 ± 47	2325 ± 416	1846 ± 642
adipsin	1231 ± 995	1081 ± 757	961 ± 665	829 ± 760	584 ± 202	531 ± 400
resistin	90 ± 30	125 ± 100	161 ± 127	107 ± 58	82 ± 42	82 ± 22
leptin	183 ± 40	271 ± 161	214 ± 124	214 ± 71	191 ± 50	206 ± 73
RBP4	246 ± 80	250 ± 86	253 ± 64	278 ± 135	249 ± 94	188 ± 70
IFN-γ	349 ± 161	295 ± 155	304 ± 147	359 ± 142	168 ± 116	304 ± 121
IL-6	42 ± 49	34 ± 46	23 ± 27	18 ± 8	13 ± 6	11 ± 10
IP-10	5 ± 1	5 ± 1	5 ± 2	4 ± 2	5 ± 2	4 ± 1
IL-1β	36 ± 21	54 ± 16	52 ± 18	72 ± 25	38 ± 13	65 ± 22
TNF-α	47 ± 21	87 ± 70	107 ± 62	57 ± 38	45 ± 28	39 ± 27
MCP-1	57 ± 19	99 ± 35	94 ± 42	148 ± 60	74 ± 24	88 ± 39
IL-8	1807 ± 446	2476 ± 970	2404 ± 1038	2038 ± 680	1915 ± 446	1784 ± 348

Pacijenti sa kosim tipom preloma imali su najveće prosečne vrednosti adiponektina i leptina, pacijenti sa epifiziolozom najveće prosečne vrednosti adipsina, a pacijenti sa poprečnim prelomom imali su najveće vrednosti resistina. Pacijenti sa spiralnim prelomom imali su najveće prosečne vrednosti RBP4. Takođe, vrednosti ispitivanih citokina razlikovale su se između navedenih grupa pacijenata. Pacijenti sa spiralnim tipom preloma imali su najveće prosečne vrednosti IFN-γ, IL-1β i MCP-1, pacijenti sa poprečnim prelomom najveće vrednosti TNF-α, pacijenti sa kosim prelomom najveće vrednosti IL-8, dok su pacijenti sa epifiziolozom imali najveće prosečne vrednosti IL-6.

Statistička analiza potvrdila je specifičan profil ispitivanih citokina povezanih sa određenim tipom preloma dugih kostiju. U odnosu na vrednosti utvrđenih u uzorcima dece bez preloma u pacijenata sa kosim prelomom detektovali smo značajan porast vrednosti adiponektina, adipsina i IL-8, u dece sa poprečnim prelomom porast koncentracije resistina, RBP-4, IL-6 i TNF-α, dok smo u uzorcima dece sa spiralnim prelomom utvrdili značajan porast IL-6 i MCP-1 (Tabela 4.3-2.).

Tabela 4.3.-2. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina prema vrsti preloma povređene kosti (grupe pacijenata /deca bez preloma). Inicijalni uzorak.

citokin	razlika između pacijenata i kontrola					značajnost
adiponektin	kosi	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0233
adipsin	kosi	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0299
IL-8	kosi	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0312
resistin	poprečni	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0158
RBP-4	poprečni	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0258
IL-6	poprečni	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0486
TNF-α	poprečni	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0008
IL-6	spiralni	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0419
MCP-1	spiralni	▲	vs	C	zdravi	p = 0.0140

Poređenje koncentracija ispitivanih citokina u uzorcima pacijenata u odnosu na decu sa prelomima kratkih falangi šake, dalo je drugačije profile ispitivanih citokina vezane za određeni tip preloma (Tabela 4.3.-3.).

Tabela 4.3.-3. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina prema vrsti preloma povređene kosti (grupe pacijenata /deca sa prelomom kostiju falangi). Inicijalni uzorak

citokin	razlika između pacijenata i kontrola					značajnost
adipsin	kosi	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0358
IFN-γ	kosi	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0188
IL-1β	kosi	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0213
resistin	poprečni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0365
IFN-γ	poprečni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0123
IL-1β	poprečni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0258
TNF-α	poprečni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0025
adiponektin	spiralni	▼	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0047
IFN-γ	spiralni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0281
IL-1β	spiralni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0070
MCP-1	spiralni	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0022
IFN-γ	zdravi	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0281
IL-1β	zdravi	▲	vs	Cfd	prelom falangi	p = 0.0104

Analiza razlika između grupa pacijenata, pokazala je da grupa sa kosim prelomima ima značajno veće vrednosti adiponektina i MCP-1 u odnosu na grupu sa spiralnim prelomom (Tabela 4.3.-4.). Takođe, grupa sa poprečnim tipom preloma imala je značajno veće prosečne vrednosti adiponektina, TNF-α i MCP-1 u odnosu na grupu sa spiralnim tipom preloma. Grupa sa epifiziolizom imala je značajno veće prosečne vrednosti MCP-1 u odnosu na sve ispitivane grupe. Konačno, grupa sa spiralnim tipom preloma imala je značajno veće prosečne vrednosti IL-1β u odnosu na grupu sa epifiziolizom i poprečnim tipom preloma.

Tabela 4.3.-4. Statistička analiza razlika ispitivanih citokina prema vrsti preloma povredene kosti između grupe pacijenata. Inicijalni uzorak.

citokin	razlika između grupa pacijenata				značajnost
adiponektin	kosi	▲	vs	spiralni	p = 0.0019
MCP-1	kosi	▲	vs	spiralni	p = 0.0291
adiponektin	poprečni	▲	vs	spiralni	p = 0.0013
IL-1β	poprečni	▼	vs	spiralni	p = 0.0191
TNF-α	poprečni	▲	vs	spiralni	p = 0.0386
MCP-1	poprečni	▲	vs	spiralni	p = 0.0024
IL-1β	epifizioliza	▼	vs	spiralni	p = 0.0485
MCP-1	epifizioliza	▲	vs	kosi	p = 0.0369
MCP-1	epifizioliza	▲	vs	poprečni	p = 0.0433
MCP-1	epifizioliza	▲	vs	spiralni	p = 0.0167

4.4 ORTOPEDSKA TERAPIJA

Svi pacijenti bili su podvrgnuti ortopedskoj terapiji. Prema vrsti ortopedske terapije sve pacijente smo podelili u 4 grupe: deca sa prelomom kostiju kojima je urađena fiksacija, repozicija, repozicija sa fiksacijom i repozicija sa osteosintezom (Tabela 4.4.-1.).

Tabela 4.4.-1. Vrsta primenjene ortopedske terapije i vrednosti ispitivanih citokina ($x \pm SD$, pg/ml)(vrednosti adiponektina, adiposina, leptina i resistina u ng/ml)(vrednosti ostalih citokina u pg/ml). Inicijalni uzorak.

ortopedska terapija	fiksacija	repozicija	repozicija i fiksacija	repozicija i osteosint	povrede prstiju	kontrola
IL-6	15 ± 9	23 ± 23	18 ± 17	34 ± 41	13 ± 6	8 ± 3
IL-1β	68 ± 22	53 ± 26	59 ± 14	52 ± 22	38 ± 13	47 ± 7
TNF-α	90 ± 27	100 ± 68	100 ± 63	68 ± 55	45 ± 27	41 ± 26
MCP-1	105 ± 34	91 ± 42	109 ± 27	110 ± 56	74 ± 24	71 ± 25
IL-8	2869 ± 974	2389 ± 990	2056 ± 510	2389 ± 999	1915 ± 446	1622 ± 188
IFN-γ	273 ± 105	295 ± 147	317 ± 132	340 ± 165	177 ± 127	261 ± 101
IP-10	4.92 ± 2.56	4.46 ± 2.29	4.24 ± 1.61	4.62 ± 1.42	3.87 ± 0.97	4.89 ± 1.94
RBP-4	196 ± 62	259 ± 64	264 ± 68	256 ± 111	249 ± 94	188 ± 70
adiponektin	2167 ± 674	2243 ± 467	2468 ± 494	2374 ± 932	2325 ± 416	1696 ± 661
adipsin	943 ± 738	1178 ± 943	710 ± 544	1237 ± 834	584 ± 202	425 ± 115
leptin	213 ± 78	217 ± 118	208 ± 59	191 ± 50	191 ± 50	187 ± 50
resistin	121 ± 84	129 ± 69	115 ± 77	118 ± 65	82 ± 42	82 ± 22

Statistička analiza je pokazala da pacijenti sa fiksacijom imaju značajno manje vrednosti RBP4 u odnosu na grupu sa repozicijom (Tabela 4.4.-2.). Pacijenti sa fiksacijom imali su značajno veće vrednosti IL1-β i IL-8 a značajno niže vrednosti RBP4 u odnosu na grupu pacijenata sa repozicijom i fiksacijom. Pacijenti sa fiksacijom imali su značajno veće vrednosti IL-1β, IL-6, IL-8 i TNF-β u odnosu na kontrolnu grupu dece bez preloma kostiju.

U odnosu na vrednosti MCP-1 u grupi sa repozicijom i fiksacijom detektovane su veće vrednosti u odnosu na grupu sa repozicijom. Vrednosti leptina bile su značajno veće u grupi sa repozicijom u odnosu na grupu repozicija sa osteosinteza. U odnosu na decu bez preloma kostiju (kontrolna grupa) u grupi dece sa repozicijom detektovane su značajno veće vrednosti adiponektina, adispina i rezistina, kao i značajno veće vrednosti TNF- α , IL-8 i RBP4.

Tabela 4.4.-2. Analiza razlika u odnosu na vrstu primenjene ortopedске terapije. Inicijalni uzorak.

	IL6	IL1b	TNF α	MCP1	IL8	IFNg	IP10	RBP4
fiksacija / repozicija								*
fiksacija / rep+fiksacija		*			*			*
fiksacija / rep+osteosinteza								
fiksacija / povrede prstiju		*	**	*	*	*		
fiksacija / kontrola	**	*	**		**			
repozicija / rep+fiksacija				*				
repozicija / rep+osteosinteza								
repozicija / povrede prstiju			*			*		
repozicija / kontrola			**		**			*
rep+fiksacija / rep+osteosinteza								
rep+fiksacija / povrede prstiju		**	*	**		*		
rep+fiksacija / kontrola	*	*	*	*	*			*
rep+osteosint / povrede prstiju				*				
rep+osteosinteza / kontrola					**			
povrede prstiju / kontrola								

(* = p<0.05, ** = p<0.01, MW test)

	adiponectin	adipsin	leptin	resistin
fiksacija / repozicija				
fiksacija / rep+fiksacija				
fiksacija / rep+osteosinteza				
fiksacija / povrede prstiju				
fiksacija / kontrola				
repozicija / rep+fiksacija				
repozicija / rep+osteosinteza			**	
repozicija / povrede prstiju		*		
repozicija / kontrola	*	**		*
rep+fiksacija / rep+osteosinteza		*	*	
rep+fiksacija / povrede prstiju				
rep+fiksacija / kontrola	*			
rep+osteosint / povrede prstiju		*	*	
rep+osteosinteza / kontrola	*	**	*	
povrede prstiju / kontrola				

(* = p<0.05, ** = p<0.01, MW test)

Pacijenti koji su lečeni kombinacijom repozicije i fiksacije imali su značajno veće vrednosti adipina i leptina u odnosu na grupu pacijenata koji su lečeni repozicijom i osteosintezom. Ista grupa pacijenata (repozicija + fiksacija) imala je inicijalno značajno veće koncentracije IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 i MCP-1 u odnosu na kontrolnu grupu.

Pacijenti koji su lečeni kombinacijom repozicije i osteosinteze imali su značajno veće vrednosti adiponektina, adipina, leptina i IL-8 u inicijalnom uzorku u odnosu na kontrolnu grupu.

U odnosu na vrstu primenjene ortopedске terapije ispitivali smo dinamiku promene ispitivanih medijatora (21dan/0 dan) (Tabela).

Tabela 4.4.-3. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora (21/0 dan) u odnosu na vrstu ortopedске terapije (Wilcoxon test).

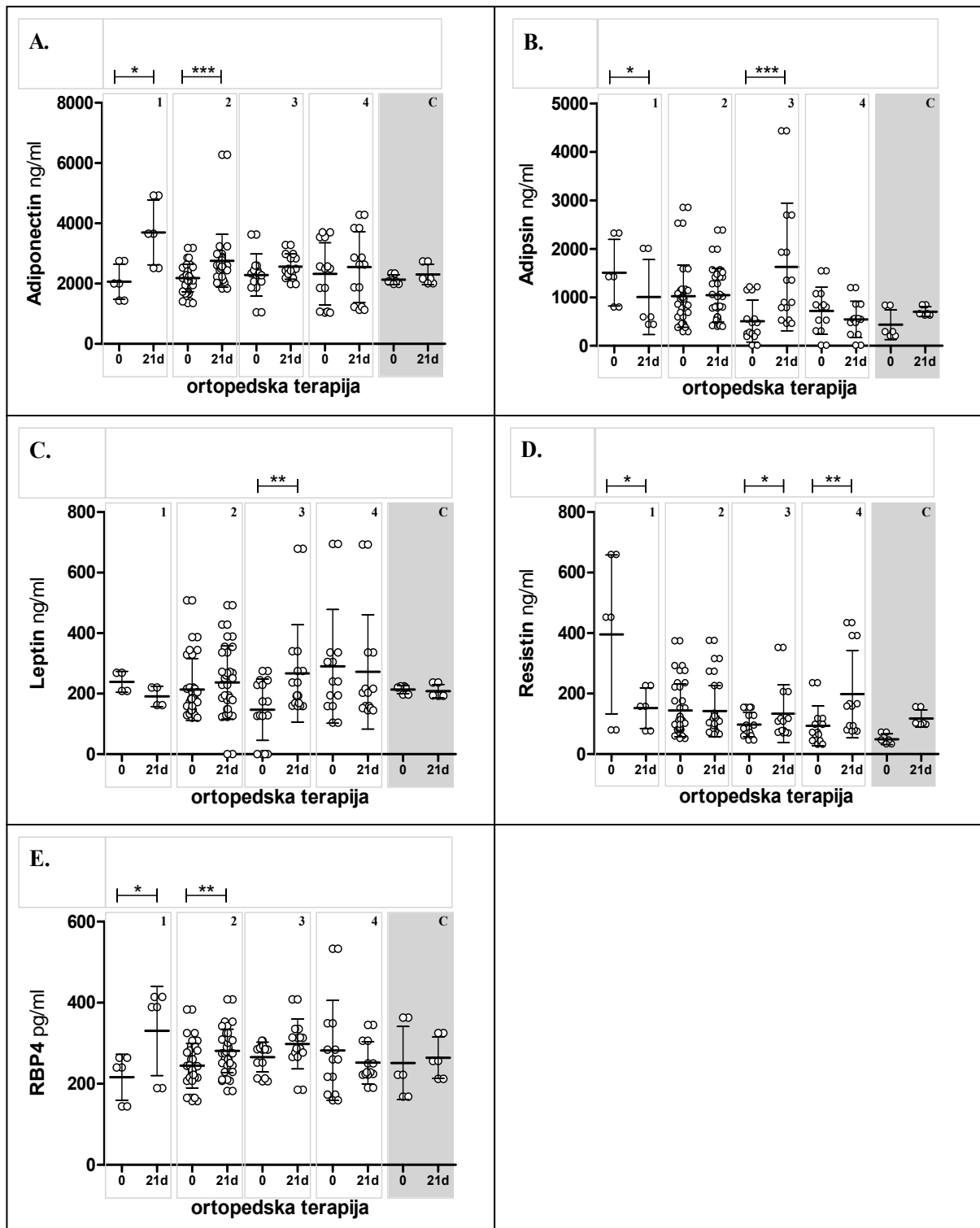
	vrsta ortopedске terapije			
	1. fiksacija	2. repozicija	3. repozicija i fiksacija	4. repozicija i osteosinteza
adiponektin	▲*	▲***		
adipsin	▼*		▲***	
leptin			▲**	
rezistin	▼*		▲*	▲*
RBP-4	▲*	▲**		
IL-1 β				
TNF- α		▼***		
IL-8	▼*	▼*	▲*	
IL-6	▼*			▼*
MCP-1	▲*			
IFN- γ				
IP-10				

U grupi pacijenata lečenih fiksacijom detektovali smo značajno smanjenje vrednosti adipina, rezistina, IL-6 i IL-8 zajedno sa značajnim povećanjem vrednosti adiponektina, RBP-4 i MCP-1 (21dan/0 dan) (Tabela 4.4.-3).

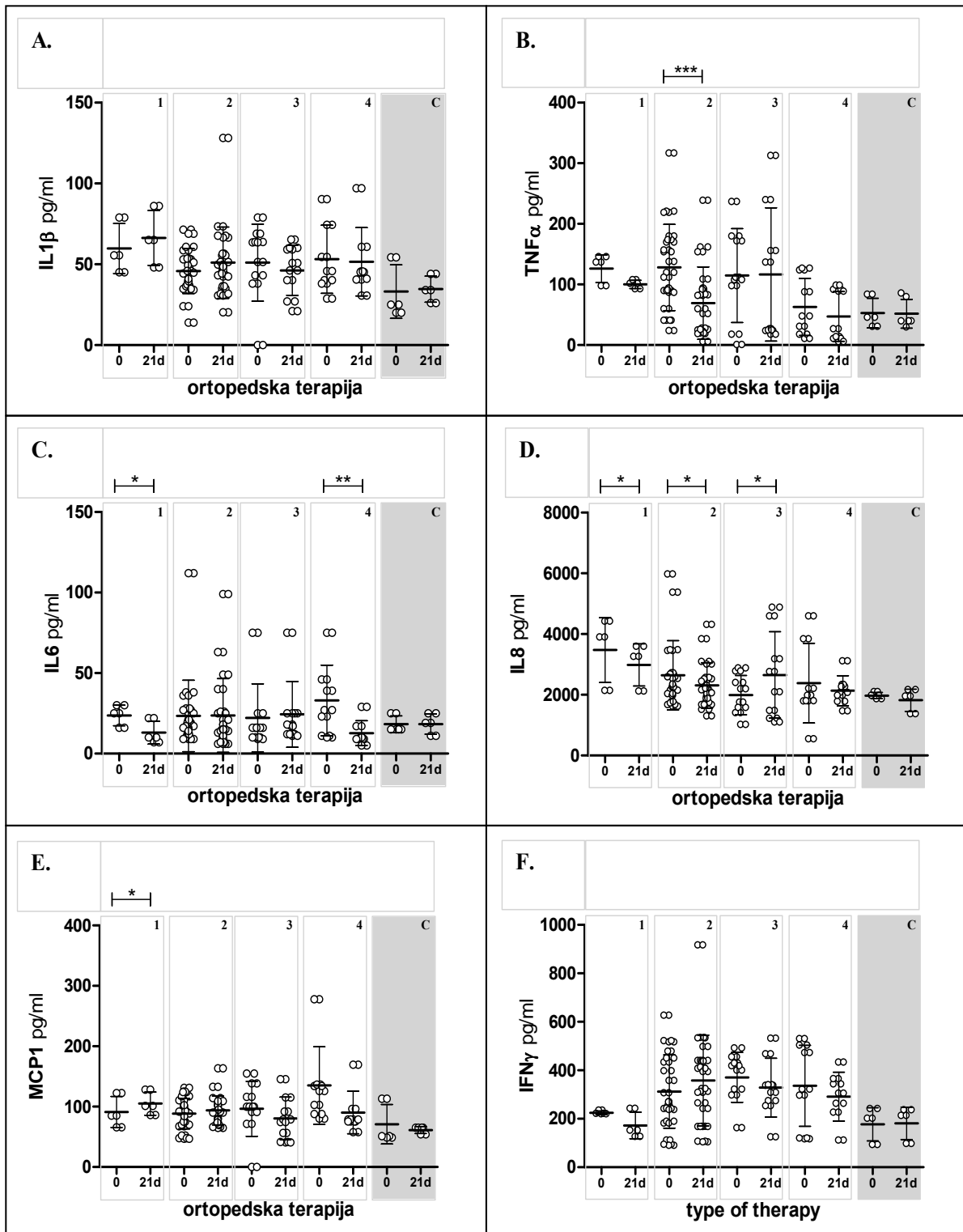
U grupi pacijenata lečenih repozicijom detektovali smo značajno smanjenje vrednosti TNF- α i IL-8 zajedno sa značajnim povećanjem vrednosti adiponektina i RBP-4 (21dan/0 dan) (Tabela 4.4.-3).

U grupi pacijenata lečenih repozicijom i fiksacijom detektovali smo značajno povećanje vrednosti adipina, leptina, rezistina i IL-8 (21dan/0 dan) (Tabela 4.4.-3).

U grupi pacijenata lečenih repozicijom i osteosintezom detektovali smo značajno smanjenje vrednosti IL-6 zajedno sa značajnim povećanjem vrednosti rezistina (21dan/0 dan) (Tabela 4.4.-3).



Slika 4.4.-1. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora u odnosu na vrstu ortopedске terapije



Slika 4.4.-2. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora u odnosu na vrstu ortopedске terapije.

4.5 DUŽINA IMOBILIZACIJE

U odnosu na dužinu imobilizacije pacijente smo podelili u dve grupe, koje su imale imobilizaciju trajanja dve ili tri nedelje (*Tabela 4.5.-1*).

Vrednosti adiponektina (*Slika 4.5.-1.A.*) pokazale su porast u odnosu na inicijalne u obe grupe 21. dana. Opet, vrednosti adiponektina 21. dana u obe grupe pacijenata bile su značajno veće od kontrolnih vrednosti. Razlika između inicijalnih i kontrolnih vrednosti postojala je samo u grupi bolesnika sa kraćim trajanjem imobilizacije.

Vrednosti adiposina i dinamika promene razlikovale su se između ispitivanih grupa (*Slika 4.5.-1.B.*). U grupi sa kraćom imobilizacijom, vrednosti adiposina su porasle nakon 21 dan, dok su u grupi sa dužom imobilizacijom nakon 21. dana detektovane niže vrednosti od inicijalnih. Vrednosti adiposina detektovane posle 21 dan u grupi sa kraćom imobilizacijom bile su značajno veće od kontrolnih.

Vrednosti leptina izmerene nakon 21 dan pokazale su statistički beznačajan porast u obe grupe (*Slika 4.5.-1.C.*). Niti jedna izmerena vrednost leptina u ovim grupama nije se značajno razlikovala od kontrolnih vrednosti.

Nakon 21 dan, vrednosti rezistina su pokazivale tendenciju u grupi sa kraćim trajanjem imobilizacije a značajan porast u grupi sa dužim trajanjem imobilizacije (*Slika 4.5.-1.D.*). U odnosu na kontrolne vrednosti rezistina, grupu dece bez preloma, prosečne vrednosti rezistina bile su povećane u grupi sa kraćim trajanjem imobilizacije 0 i 21 dana, kao i 21. dana u grupi bolesnika sa dužom imobilizacijom.

Nakon 21 dan vrednosti RBP-4 značajno su porasle u grupi sa kraćim trajanjem imobilizacije (*Slika 4.5.-1.E.*). Vrednosti RBP-4 u ovoj grupi, kako 0. tako i 21. dana, značajno su bile veće u odnosu na kontrolnu grupu.

Vrednosti IP-10 nisu se značajno razlikovale u odnosu na kontrolnu grupu, bez obzira na dužinu trajanja imobilizacije trajanje imobilizacije (*Slika 4.5.-1.F.*).

Nakon 21 dan vrednosti IL-1 β su se smanjile u obe grupe (*Slika 4.5.-2.A.*), bez statističke značajnosti. Inicijalne prosečne vrednosti IL-1 β bile su značajno niže od kontrolnih. Interesantno je da su sve prosečne vrednosti IL-1 β bile niže od vrednosti izmerenih u kontrolnoj grupi.

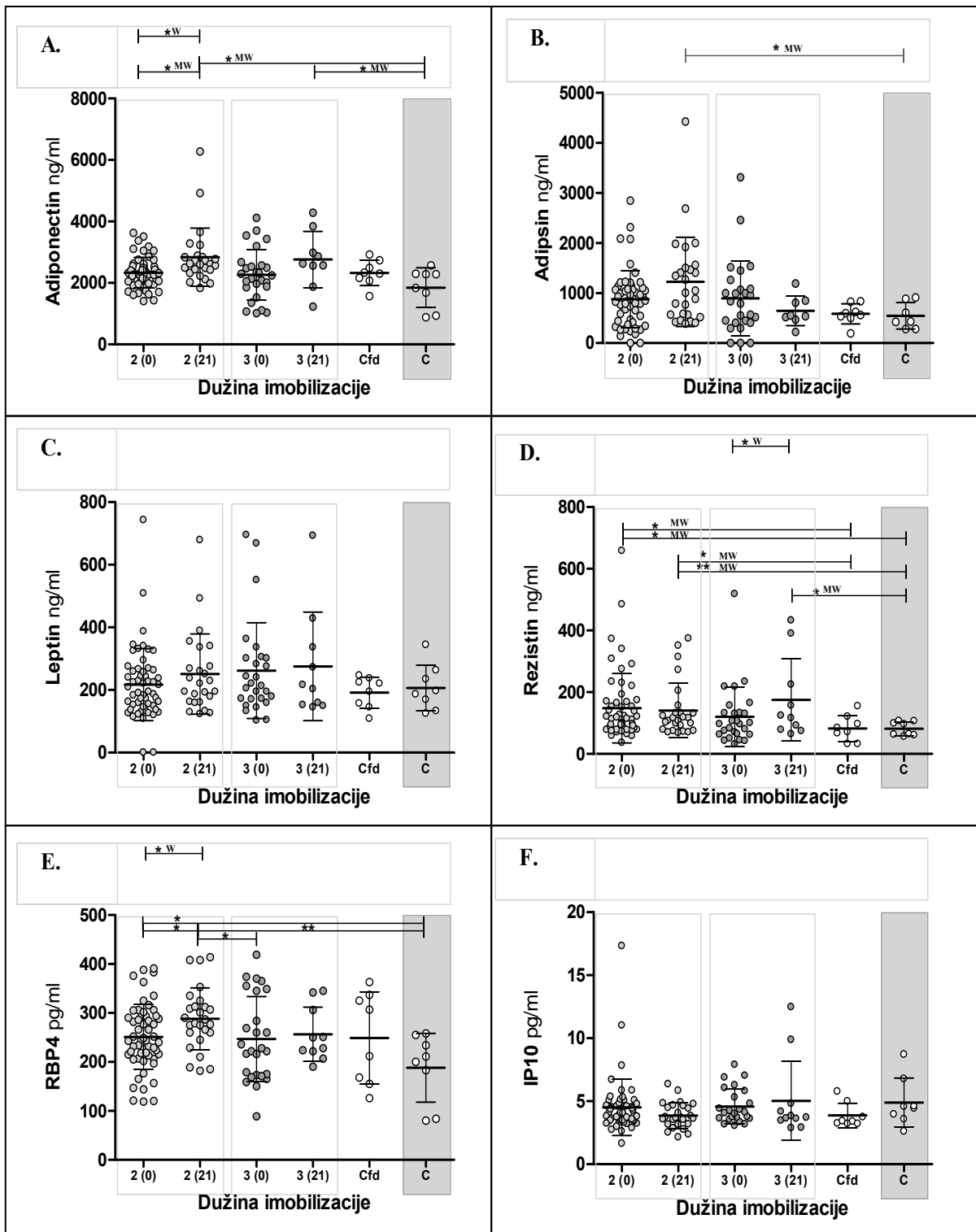
Nakon 21 dan detektovali smo sniženje vrednosti TNF- α u obe grupe, sa statistički značajnim smanjenjem u grupi sa kraćom imobilizacijom (*Slika 4.5.-2.B.*). Inicijalne prosečne vrednosti TNF- α u grupi sa kraćom imobilizacijom bile su veće od kontrolnih.

Nakon 21 dan vrednosti IL-8 su porasle u grupi sa kraćom imobilizacijom, a snizile su se u grupi sa dužom imobilizacijom, bez statistički značajnih razlika (*Slika 4.5.-2.C.*). Vrednosti IL-8 određene nakon 21. dana u grupi sa kraćom imobilizacijom bile su značajno veće od kontrolnih.

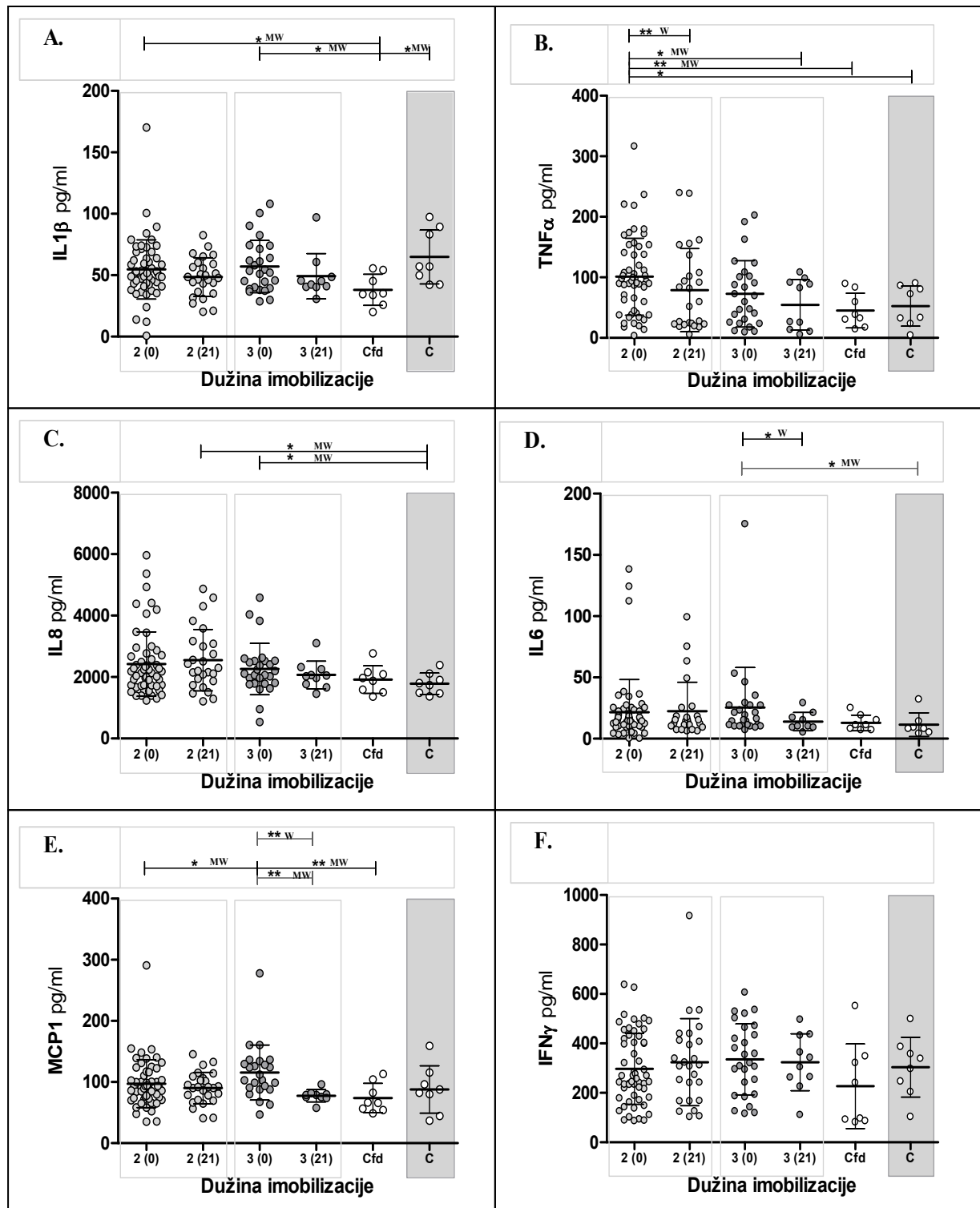
U grupi sa dužim trajanjem imobilizacije vrednosti IL-6 značajno su bile snižene nakon 21 dan, za razliku od grupe sa kraćom imobilizacijom (*Slika 4.5.-2.D.*). Inicijalne prosečne vrednosti IL-6 u grupi sa dužom imobilizacijom bile su veće od kontrolnih.

Nakon 21 dan detektovali smo sniženje vrednosti MCP-1, statistički značajno u grupi sa dužom imobilizacijom (*Slika 4.5.-2.E.*).

Nakon 21. dana u grupi sa kraćom imobilizacijom detektovali smo porast vrednosti IFN- γ , dok smo u grupi sa dužom imobilizacijom detektovali sniženje vrednosti IFN- γ (*Slika 4.5.-2.F.*). Navedene razlike nisu bile značajne.



Slika 4.5.-1. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora u odnosu na trajanje imobilizacije.



Slika 4.5.-2. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora u odnosu na trajanje imobilizacije.

U odnosu na dužinu imobilizacije ispitali smo dinamiku promene ispitivanih medijatora (21dan/0 dan) (Tabela 4.5.-1.).

Tabela 4.5.-1. Dinamika promene vrednosti ispitivanih medijatora (21/0 dan) u odnosu na dužinu imobilizacije (Wilcoxon test).

	imobilizacija 2 nedelje	imobilizacija 3 nedelje
adiponektin	▲ *	
adipsin		
leptin		
rezistin		▲ *
RBP-4	▲ *	
IL-1β		
TNF-α	▼ *	
IL-8		
IL-6		▼ *
MCP-1		▼ *
IFN-γ		
IP-10		

U grupi pacijenata u kojih je imobilizacija trajala dve nedelje detektovali smo značajan porast adiponektina i RBP-4, praćen značajnim smanjenjem vrednosti TNF-α.

U grupi pacijenata sa dužim trajanjem imobilizacije detektovali smo značajan porast rezistina, uz značajno smanjenje vrednosti IL-6 i MCP-1.

5.0 DISKUSIJA

Danas je dobro poznata uloga adipokina, naročito adiponektina, leptina i rezistina u koštanom metabolizmu. Međutim, mnogo manje se zna o povezanosti adipokina sa frakturama. Ima malo radova koji govore o koncentraciji ovih proteina masnog tkiva u slučaju fraktura a i radovi koji se odnose na bilo kakvu vezu fraktura i adipokina, su uglavnom usmereni na ulogu adipokina u osteoporozi, riziku od fraktura kod starijih osteoporotičnih i starijih osoba sa dijabetesom tipa 2.

Tako su Barbour i saradnici testirali hipotezu da su smanjene koncentracije leptina i povećane koncentracije adiponektina povezane sa povećanim faktorom rizika od fraktura kod pacijenata starijeg doba. Kod tih pacijenata je utvrđeno da su muškarci sa najvišim nivoom adiponektina imali 94% veći rizik od fraktura [165].

Odnos **adiponektina** i koštane gustine je ispitivan kod starijih pacijenata različitog pola. Ustanovljeno je da je taj odnos inverzan kod postmenopauzalnih žena u predelu kuka, vrata femura i podlaktice, te da nije u vezi sa gubitkom koštane mase kod ovih pacijenata. Kod starijih muškaraca se uočava povećana koncentracija adiponektina u slučaju preloma pršljenova te je dokazana povezanost. Opšti stav na osnovu ovih istraživanja je da adiponektin ima nesumnjivu ulogu u koštanom metabolizmu, što obavezuje dalja istraživanja u vezi povezanosti koncentracije adiponektina i preloma kod starijih pacijenata [166].

Ispitivanjem koncentracije markera iz jetre kod osoba sa frakturom kuka ustanovljeno je da sa godinama raste koncentracija adiponektina i gama glutamil tranferaze (GGT), a smanjuje se koncentracija leptina kod ovih pacijenata. Poznato je da povećanje GGT produžava lečenje, otežava oporavak ovih pacijenata i povećava broj smrtnih ishoda. To daje još veći značaj adiponektinu, koji doprinosi povećanju koncentracije GGT dok leptin i rezisistin nemaju to dejstvo [167,168,169].

Zajednički faktori koji povezuju jetru i kost u slučaju preloma kuka kod starijih pacijenata su snižen nivo vitamina D, povišen nivo PTH i disregulacija u sekreciji adipokina (adiponektina leptina i rezistina). Ovo dokazuje povezanost jetre, kosti i masnog tkiva u slučaju preloma [170].

Adiponektin je antiinflamatorni adipokin i njegov nivo negativno korelira sa nivoom proinflamatornih CRP, TNF α , IL-6 a pozitivno sa antiinflamatornim IL-10, posebno u gojaznosti, T2DM i kardiovaskularnim poremećajima [171,172,173,174]. Promena funkcije makrofaga je u osnovi antiinflamatornog efekta ADN koji se realizuje preko AdipoR1 [175,176]. ADN inhibira ekspresiju vaskularnih adhezionih molekula i proinflamatornih citokina [177,178]. Adiponektin višestruko utiče na fagocitnu funkciju makrofaga a jedan od načina je sprečavanje produkcije hemotaksičnog IL-8 i smanjenje fagocitoze oštećenih ćelija, mehanizma koji je oslabljen u gojaznosti zbog hipoadiponektinemije .

Upravo ovaj antin inflamatorni efekat objašnjava povišen nivo adiponektina kod preloma dugih kostiju u našoj grupi pacijenata .Smatra se da je ovo vezano za inflamatornu – početnu fazu zarastanja.

Rezistin je jedan od ispitivanih adipokina kako na životinjama tako i na ljudskoj populaciji. Studije na životinjama su jasno pokazale da rezistin poboljšava diferencijaciju osteoklasta i angažovanje osteoblasta. Produkuju ga adipociti ali se nalazi u značajnim količinama i u koštanoj srži. Čak je pronađen i u primarnoj koštanoj srži i zrelim osteoblastima. Postoje i rezultati istraživanja koji se odnose na koncentraciju rezistina kod dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti, inflamatornih bolesti i bubrežnih oboljenja. Oni su kontroverzni kao i podaci o ulozi rezistina na koštanu remodelaciju i koštani status kod osteoporotičnih pacijenata.

U jednoj od najkonkretnijih studija Fisher i saradnici su određivali koncentraciju rezistina u serumu kod pacijenata sa frakturama vrata butne kosti i poredili istu kod pacijenata sa trohanternim prelomima [179].

Uočena je značajna razlika u koncentraciji ovog adipokina u smislu da je značajno povećana kod pacijenata sa frakturom vrata butne kosti. Uočena visoka koncentracija rezistina se objašnjava time što je prelom vrata butne kosti intrakapsularan i postoji povećana produkcija lokalnog rezistina iz zglobnog tkiva.

Kod ovih pacijenata uočena je negativna povezanost rezistina sa osteokalcinom i magnezijumom dok kod pacijenata sa trohanternim prelomom postoji pozitivna povezanost rezistina, kalcijuma i PTH. Takođe postoji i povećana koncentracija rezistina kod ovih pacijenata sa dijabetesom tipa 2 kao i kod pušača.

Trauma je vodeći uzrok smrtnosti širom sveta. Neposredno posle trauma postoji rana aktivacija imunog sistema koja je poznata kao sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) i može rezultirati multiorganskom disfunkcijom. Nakon ovog imunog odgovora sledi drugi, posle velikih hirurških procedura kod ovih pacijenata [180,181]. Antiinflamatorni odgovor može rezultirati i generalizovanom imunom supresijom dovodeći do rizika od infekcije i sepse. Citokini, uz hormone i kortikosteroide igraju ključnu ulogu u inflamatornom odgovoru organizma [182]. Koncentracija IL6, kao jednog od glavnih proinflamatornih citokina, direktno je srazmerna težini povede. Povećana koncentracija ovog citokina predstavlja negativan prognostički parameter kod traumatizovanih pacijenata. To se odnosi i na stanje pacijenata koji su podvrgnuti velikim hirurškim zahvatima. Kod starijih osoba imuni odgovor je oslabljen što objašnjava disbalans između proinflamatornih i antiinflamatornih regulatora. IL6 se smatra glavnim okidačem za jačanje sistemskog imunog odgovora. U svojoj studiji Thaeter i saradnici su dokazali povećanu koncentraciju IL6 u ranim proinflamatornim fazama nakon trauma kao i neposredno nakon operativnog lečenja [183]. Pape i saradnici su uočili povećanu koncentraciju IL 6 u serumu kod grupe pacijenata sa prelomom butne kosti koji su operisani intramedularnom fiksacijom u prvih 24h od operacije.

Povreda aktivne zone rasta kod dece može dovesti do deformacije ekstremiteta, inegaliteta i invalidnosti. U studiji Zou FH i saradnika na pacovima je primećeno da u prvih 8 do 16 sati (akutna inflamatorna faza) dolazi do povećanja koncentracije IL-1 β u serumu, a u prvom danu TNF- α i TNF - β 1 [184]. U fazi remodelacije vrednosti TNF - α i TNF - β 1 su povećane od 25 do 35 dana od preloma, tako da povećane vrednosti IL 1 - β , TNF- α i TGF - β 1 sugerišu na važnu ulogu ovih proinflamatornih citokina u inflamatornoj početnoj fazi neposredno posle preloma i kasnije u formiranju i remodelaciji koštanog mosta zone rasta.

Zarastanje kosti je skup bioloških procesa koji su regulisani između ostalog i proinflamatornim citokinima. U studiji Kon T i saradnika ispitivana je koncentracija TNF- α , IL- α 28 dana posle preloma tibije kod miševa. Uočena je povećana koncentracija TNF α i IL 1- α i IL 1- β posle 24h od frakture kao i od 21 do 28 dana za vreme remodelacije. Povećana koncentracija TNF- α je zabeležena i kod hipertrofičnih hondrocita. Ova studija zaključuje da su TNF- α i IL 1 veoma značajni za ranu i kasnu fazu zarastanja kostiju, odnosno da iniciraju zarastanje i igraju značajnu ulogu u intramembranoznom stvaranju kosti i remodeliranju trabekularne kosti [185].

Smatra se da gojazna deca imaju povećan rizik od preloma dugih kostiju ekstremiteta zbog razlike u koštanoj gustini, povećanog nivoa koncentracije leptina, ali i poremećenog balansa i hoda. To je ustanovljeno u poređenju sa grupom normalno uhranjene dece [186]. U našoj studiji su baš iz tog razloga, isključena gojazna deca sa BMI većim od 25.

Leptin je reprezentativni adipokin koji proizvode diferencijirani adipociti i ima ključnu ulogu u regulaciji energetskog balansa i skladištenja masnog tkiva. Novija istraživanja dokazuju ulogu leptina u mnogim fiziološkim procesima kao što su reprodukcija, hematopoeza, angiogeneza, glukoregulacija, zarastanje rana i osteogeneza [187]. Takođe ima glavnu ulogu u hroničnim inflamatornim procesima karakterističnim za gojaznost, aterosklerozu [188], sepsu [189], hroničnu virusnu infekciju [190] i malignitet [191]. Leptin ispoljava svoju aktivnost vezujući se za svoje specifične receptore koji se nalaze na različitim ćelijama uključujući i ćelije imunog sistema [192]. S druge strane produkti mikroorganizama zajedno sa inflamatornim citokinima stimulišu intenzivnu produkciju leptina ukazujući na kompleksan odnos ovog hormona i inflamatornog procesa. Osim ćelija imunog sistema, mezenhimalne matične ćelije i osteoblasti ekspresiraju oba tipa leptinskih receptora na svojoj membrani [193,194].

Leptin reguliše rast kosti na više načina, sistemski i lokalno. Nakon prodora kroz hematoencefalnu barijeru i vezivanja za specifične receptore, leptin indirektno reguliše metabolizam kosti preko simpatikusa [195,196,197]. I dalje postoje kontraverze o povezanosti leptina i gustine kosti, u najmanju ruku u stanjima bez fraktura. Nekoliko studija je pokazalo da ne postoji korelacija između nivoa leptina i koštane gustine [198,199,200,201,202,203,204]. Važno je istaći da su navedene studije uključivale kao ispitanike postmenopauzalne žene različite etničke pripadnosti. Suprotno ovim nalazima, Rhee i autori su prijavili pozitivnu korelaciju serumskog leptina sa koštanom gustinom (mereno kao kičmena i femoralna gustina kosti) kod prepubertalnih gojaznih devojčica što može da ukaže na pozitivnu ulogu leptina u metabolizmu kosti [205].

U eksperimentalnim modelima na pacovima koji su bili izloženi moždanoj i femoralnoj traumi dve studije su pokazale značaj leptina u procesu zarastanja kosti [206,207]. Formiranje kalusa je bilo značajno povezano sa povećanim vrednostima serumskog leptina kao i prisustvom leptina na različitim frakturnim mestima, osteoblastima, fibroblastima i mezenhimnim ćelijama. Serumski koncentracija leptina i lokalna ekspresija, dokazane imunohistohemijskim metodama, dosegle su svoje maksimalne vrednosti 4 nedelje nakon trauma.

Takođe, postoje klinički podaci o ulozi leptina homeostazi kosti. Kod žena sa hipotalamičkom amenorejom nađene su niske vrednosti serumskog leptina udružene sa sniženim nivoom estrogena, hormona rasta i tiroidnog hormona. Ovi hormonski deficiti su udruženi sa malom gustom kosti što je često uzrok fraktura uprkos starosnoj dobi [208,209,210,211].

Povećani serumski leptin odmah nakon koštane traume može da se objasni na više načina. Fraktura kosti je praćena hipermetaboličkim odgovorom koji se karakteriše mobilizacijom masnih kiselina koje izazivaju porast nivoa leptina neurohumoralnim mehanizmima [212,213,214,215]. Rani inflamatorni odgovor na akutnu traumu kosti je posredovan produkcijom inflamatornih citokina, što dalje rezultuje u stimulaciji sekrecije leptina [216,217]. Drugi važan izvor posttraumatskog porasta leptina je u kostnoj srži, tačnije u meduli flavi, kada se leptin oslobađa na ivicama frakture [218]. Osim ovoga, kompleksni neuroendokrini odgovor nakon traume kosti predstavljen je multiplim oslobađanjem citokina i hormona, što sve zajedno utiče na produkciju i nivo leptina.

Kod politraumatizovanih bolesnika, sa udruženim povredama mozga i dugih kostiju pretpostavljeno je da se osteoinduktivni faktori sekertuju i/ili otpuštaju iz povređenog mozga. Leptin je jedan od ovih faktora [219,220,221,222,223,224,225].

Intersantni podaci su proizašli iz Wangove studije u kojoj je ispitivana udruženost serumskog leptina, gustine kosti i zarastanja fraktura dugih kostiju u dve grupe muškaraca, jedni su imali udružene povrede kičmene moždine i dugih kostiju a drugi samo povrede dugih kostiju [226]. Nakon 4-8 nedelja, ispitanici sa udruženom povredom kičmene moždine su pokazali lošije ili nepotpunije formiranje kalusa, značajno redukovanu gustinu kostiju, i značajno povećanu koncentraciju leptina u odnosu na drugu grupu. Iako su naši ispitanici bili deca bez pridružene traume osim ispitivane, kod neke dece je zabeležen izuzetno visok nivo leptina udružen sa nezadovoljavajućim formiranjem kalusa. Dečaci sa nedovoljno formiranim kalusom su imali najviše nivoe leptina jednako inicijalno nakon traume i posle 3 nedelje. Izgleda da je nivo leptina povezan sa specifičnostima pola jer je nivo leptina značajno niži kod devojčica sa nedovoljno formiranim kalusom.

Ispitivanja iz 2000 god, [227,228,229,230,231] pokazala su više koncentracije leptina kod devojčica. Ova razlika u nivou leptina među polovima je objašnjena kao posledica sekrecije leptina iz masnog tkiva kod devojčica, genetski determinisanom većem odnosu subkutanog/visceralnog odnosa masti i većeg nivoa estrogena tokom puberteta. Naši podaci pokazuju značajnu razliku u koncentraciji leptina među polovima.

Devojčice imaju viši nivo leptina u odnosu na dečake, ali ovo nije pravilo. Prosečna koncentracija leptina je veća kod dečaka sa kosim frakturama, frakturom humerusa, radiujusa, radijusa i ulne i najznačajnije kod dečaka sa nekompletnim formiranjem kalusa.

Teoretski, frakture dugih kostiju bi trebalo da budu povezane sa intenzivnijom sistemskom reakcijom i veća frakturna površina bi trebalo da uzrokuje povećano oslobađanje leptina [232].

U našoj studiji su dečaci sa frakturom humerusa i devojčice sa frakturom femura imali najviši nivo leptina u inicijalnom uzorku. Udruženost nivoa leptina sa nekompletnim formiranjem kalusa je kompleksnije i ostavlja prostor za spekulisanje. U inicijalnom uzorku udruženost visokog nivoa leptina sa nezadovoljavajućim oporavkom kosti kod dečaka može da bude posledica kompenzatornog povećanja ovog hormona kao rezultat inflamatornog procesa u nekompletno formiranom kalusu. Suprotno, leptin može da se shvati kao adipokin neophodan za oporavak kosti kod devojčica sa nedovoljno formiranim kalusom. Druga mogućnost je ta da dečaci i devojčice sa nekompletno formiranim kalusom imaju abnormalnost vezanu za sam leptin i imali su je i pre povrede. Ovu pretpostavku bi trebalo ispitati kod dece sa slabim oporavkom nakon frakture dugih kostiju. Nivo leptina nakon 3 nedelje od povrede je varirao više. U tom periodu, na proces oporavka utiče veliki broj faktora, imobilizacija, disciplina bolesnika, san, ishrana ili infekcija.

Na osnovu ovoga možemo zaključiti da deca sa frakturom dugih kostiju pokazuju značajno više vrednosti leptina u uzorcima koji su uzeti odmah nakon traume i posle 3 nedelje nakon zarastanja u poređenju sa decom sa frakturama malih kostiju i odgovarajućim kontrolama. Na koncentraciju leptina utiče pol. Visok nivo leptina kod dečaka ili nizak nivo kod devojčica odmah nakon frakture može da se iskoristi da se identifikuju grupe dece sa nekompletnim formiranjem kalusa.

Zarastanje kosti je kompletan fiziološki proces koji u velikoj meri i dalje ostaje nepoznata kaskada nepoznatih kompleksnih bioloških događaja. Odvija se u 3 različita ali preklapajuća procesa: rana inflamatorna faza, regenerativna faza i faza remodelovanja [233]. Nekoliko studija je pokazalo da korišćenje antiinflamatornih lekova tokom rane faze zarastanja frakture može da ošteti reparaciju kosti što ukazuje da bi inflamatorna faza mogla biti ključna za uspešno zarastanje frakture [234,235,236]. Iako su proinflamatorni citokini najpoznatiji po svom destruktivnom efektu na kost i svom kataboličkom efektu [237], paradoksalno je da ovi isti proinflamatorni faktori promovišu zarastanje frakture, ali ne kao neregulisana, prolongirana inflamacija koja se viđa u inflamatornim bolestima kostiju, nego kao visoko regulatorni proces [238].

Skorašnje studije ukazuju da je regenerativna funkcija inflamatornih signala u mikrokruženju samog tkiva (ekspresija ćelijskih receptora) koja je izazvana povredom i da je inicijalni inflamatorni proces zarastanja jedan od kritičnih determinanata ishoda zarastanja [239]. Zbog toga je najvažnija karakteristika zarastanja kosti je uska regulacija inflamatorne faze u kojoj značajnu ulogu u inicijaciji kaskade oporavka imaju proinflamatorni citokini, IL-1 β i TNF- α [240,241].

Nivo TNF- α je najviši 24 sata nakon frakture sa depresijom aktivnosti koja nastaje tokom formiranja hrskavice i ponovnim rastom nivoa remodelovanja [242,243]. Ovo je u korelaciji sa našim rezultatima, gde smo imali kod svih bolesnika na prijemu skoro udvostručene vrednosti TNF- α u odnosu na kontrolnu grupu zdrave dece. Studije na miševima su pokazale da odsustvo TNF- α remeti zarastanje fraktura i odlaže endohondralno formiranje kosti za nekoliko nedelja. Ipak, TNF- α deficijentni miševi imaju normalan skelet što ukazuje da TNF- α signalizira jedinstvenu postnatalnu reparaciju frakture [243]. Ovi rezultati se poklapaju sa našim rezultatima. Bolesnici iz 2. grupe, sa nekompletno formiranim kalusom su imali najvišu prosečnu vrednost TNF- α , značajno povećanu u odnosu na kontrolnu grupu i vrednost ovog citokina se povećavala između grupa, do grupe sa minimalnim formiranjem kalusa gde je bila najniža do grupe sa kompletnim formiranjem kalusa gde je bila najviša. Glavni izvor TNF- α i IL-1 β tokom ove inflamatorne faze su makrofagi [242,244]. Iako deluje preko udaljenih molekularnih signalnih puteva, efekat IL-1 β na kost se preklapa sa TNF- α [245] što je takođe naša studija pokazala. Nivo IL-1 β se takođe povećavao od grupe sa nekompletno formirano kalusom do grupe sa kompletno formiranim kalusom. Opet ističemo da je balansiran odgovor imunog sistema esencijalan za uspešno zarastanje kosti [246,247], zato što deficit TNF- α odlaže zarastanje frakture, a prolongiran visok nivo koncentracije TNF- α može da ošteti i uništi kost [248,249].

Zaključak bi bio da svaka faza zarastanja mora biti strogo regulisana signalnim obrascem da bi se izbalansirali nivoi citokina prisutni u svakoj od ovih faza. Ovo ističemo jer bi to moglo objasniti činjenicu da su pacijenti sa minimalnim formiranjem kalusa imali najviši nivo IL-8 i da je procena vrednosti IL-8 pokazala tendenciju smanjenja u grupi sa normalno formiranim kalusom. To bi moglo značiti da visoka i produžena produkcija neutrofilnog hemitraktanta IL-8 može dovesti do nekontrolisane neutrofilne infiltracije. Dobro je poznato i da ekscesivna degranulacija neurofila predstavlja čest nalaz u mnogim inflamatornim poremećajima i može da ošteti tkivo, što može odložiti proces zarastanja kosti [250]. Angažovanje inflamatornih ćelija na mesto povrede je posredovano hemoatraktivnim hemokinima. CCR2/CCL2 signali kontrolisu mobilizaciju monocita iz kostne srži u krvotok i iz cirkulacije na mesto inflamacije nakon povrede [251].

Eksperimentalne studije na miševima kojima nedostaje gen za kodiranje CCR2 gena su pokazale neadekvatnu mobilizaciju makrofaga na mesto povrede [252,253] u poređenju sa kontrolom zdravih. Još jedna studija na CCR2 deficijntnim miševima je pokazala odloženo i neadekvatno formiranje kalusa u odnosu na zdrave [254]. Rezultati ovih studija ukazuju na važnost CCR2/CCL2 interakcije na formiranje kalusa i u korelaciji su sa našim rezultatima gde je najniža vrednost CCL2 uočena kod najboljeg formiranog kalusa, dok je njegova vrednost rasla kod bolesnika sa kompletno formiranim kalusom.

Nema mnogo studija vezanih za tip frakture i koncentracije citokina koje bi mogle da nam posluže da uporedimo naše rezultate, ali najočigledniji nalaz naše studije je taj da je najniža vrednost svih ispitivanih citokina zabeležena kod dece sa epifiziolizom u poređenju sa ostalim frakturama. Skorašnja studija Shell i saradnika je istakla važnu ulogu inicijalnog formiranja hematoma kao inicijalnog izvora inflamatornih ćelija koje će proizvoditi kasnije citokine neophodne za proces zarastanja [255]. S druge strane, mnoge studije objavljene do danas su pokazale da je jedna od glavnih komplikacija epifiziolize oštećena vaskularizacija glave femura nastala kao posledica prekida ili okluzije epifizeoliznih krvnih sudova zbog frakture ili kompresije usled visokog pritiska u kaspuli povezanog sa intrakapsularnim krvarenjem [256,257]. Ovo poremećeno snabdevanje krvlju dovodi do nedovoljnog formiranja hematoma i nedovoljnog priliva inflamatornih ćelija što objašnjava najniže vrednosti citokina u dece sa epifiziolizom u našoj studiji. Najverovatnije je da loš priliv inflamatornih ćelija dovodi do odloženog zarastanja kod dece sa epifiziolizom. Analizirali smo takođe povezanost dislokacije koštanih fragmenata i koncentracije inflamatornih citokina. Pokazali smo značajno niže vrednosti IL-1 β i hemokina MCP1 kod bolesnika sa angulacijom i dislokacijom manjom od 1cm u odnosu na bolesnike sa većom dislokacijom tj. angulacijom i dislokacijom većom od 1cm. Skorašnje studije na ovcama, koje su ispitivale uticaj uklanjanja hematoma kod preloma na zarastanje kosti [258,259] su pokazale da uklanjanje hematoma formira novi inflamatorni impuls i za razliku od fiziološkog zarastanja gde nakon 24h antiinflamatorni signal raste, završavajući proinflamatorni proces [247], ovaj novi inflamatorni signal može biti sličan produženoj inflamatornoj fazi. Ako ovo uporedimo sa našim rezultatima možemo pretpostaviti da veća dislokacija fragmenata produkuje veću mehaničku nestabilnost koja oštećuje primarno formirani hematoma i dozvoljava novi inflamatorni impuls što bi mogao biti razlog za viši nivo citokina u bolesnika sa većom dislokacijom. Ali ne smemo zaboraviti da samo visoko regulisan inflamatorni proces može usloviti zarastanje kosti dok svaka produžena proinflamatorna reakcija odlaže zarastanje kosti [247,259,260].

6.0 ZAKLJUČAK

Formiranje kalusa

U inicijalnom uzorku vrednosti IL-1 β su bile najveće u grupi kontrolne dece bez preloma, veće u odnosu na sve druge ispitivane grupe.

Pacijenti sa dobro formiranim kalusom demonstrirali su značajno povećanje koncentracije adiposina, RBP-4, IL-8, IL-6 i TNF- α u inicijalnom uzorku u odnosu na kontrolnu grupu dece bez preloma.

U inicijalnom uzorku pacijenata sa slabo formiranim kalusom detektovano je značajno povećanje RBP-4 i IL-8 u odnosu na kontrolnu grupu dece bez preloma.

U inicijalnom uzorku dece sa slabo formiranim kalusom leptin je indirektno korelirao vrednostima adiponektina, dok je u dece sa dobro formiranim kalusom adiponektin direktno korelirao sa vrednostima adiposina i RBP4, kao i rezistin sa leptinom.

U kontrolnoj grupi dece bez preloma detektovali smo samo značajnu korelaciju adiponektina i RBP4.

U dece sa prelomima kratkih kostiju nisu detektovane značajne uzajamne povezanosti ispitivanih medijatora

Dobro formiran kalus bio je udružen sa povećanjem koncentracije adiponektina i RBP4 nakon 21 dan, a sa smanjenjem koncentracije IL-1 β , TNF- α i IL-8. Nasuprot tome, u pacijenata sa slabo formiranim kalusom nakon 21 dan detektovali smo značajan porast rezistina, pad konc leptina, TNF- α , IL-8 i MCP-1.

Stepen formiranja kalusa udružen je sa specifičnim profilom adipokina.

Anatomska lokalizacija povređene kosti

Prelomi dugih kostiju **ruku** u dece udruženi su sa značajnim povećanjem koncentracije TNF- α i resistina, dok su prelomi kostiju **nogu** povezani sa značajnim povećanjem koncentracije adipokina, adiponektina i adipsina, kao i povećanjem koncentracije IFN- γ .

Vrsta preloma i vrednosti citokina

U odnosu na vrednosti utvrđenih u uzorcima dece bez preloma u pacijenata sa **kosim** prelomom detektovali smo značajan porast vrednosti adiponektina, adipsina i IL-8, u dece sa **poprečnim** prelomom porast koncentracije rezistina, RBP-4, IL-6 i TNF- α , dok smo u uzorcima dece sa **spiralnim** prelomom utvrdili značajan porast IL-6 i MCP-1.

Deca sa **kosim** prelomima imaju značajno veće vrednosti adiponektina i MCP-1 u odnosu na grupu sa **spiralnim** prelomom. Takođe, grupa sa **poprečnim** tipom preloma imala je značajno veće prosečne vrednosti adiponektina, TNF- α i MCP-1 u odnosu na grupu sa **spiralnim** tipom preloma. Grupa sa **epifiziolizom** imala je značajno veće prosečne vrednosti MCP-1 u odnosu na sve ispitivane grupe. Konačno, grupa sa **spiralnim** tipom preloma imala je značajno veće prosečne vrednosti IL-1 β u odnosu na grupu sa **epifiziolizom** i **poprečnim** tipom preloma.

Ortopedska terapija

Pacijenti koji su lečeni kombinacijom **repozicije** i **fiksacije** imali su značajno veće vrednosti adipsina i leptina u odnosu na grupu pacijenata koji su lečeni **repozicijom** i **osteosintezeom**. Ista grupa pacijenata (**repozicija** + **fiksacija**) imala je inicijalno značajno veće koncentracije IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 i MCP-1 u odnosu na **kontrolnu** grupu.

Pacijenti koji su lečeni kombinacijom **repozicije** i **osteosinteze** imali su značajno veće vrednosti adiponektina, adipsina, leptina i IL-8 u inicijalnom uzorku u odnosu na **kontrolnu** grupu.

Dužina imobilizacije

U grupi pacijenata u kojih je imobilizacija trajala **dve nedelje** detektovali smo značajan porast adiponektina i RBP-4, praćen značajnim smanjenjem vrednosti TNF- α .

U grupi pacijenata sa **dužim** trajanjem imobilizacije detektovali smo značajan porast rezistina, uz značajno smanjenje vrednosti IL-6 i MCP-1.

7.0 LITERATURA

1. Jin SW, Sim KB, Kim SD. Development and Growth of the Normal Cranial Vault> An Embryologic Review. J Korean Neurosurg Soc. 2016 May; 59 (3):192-6.
2. Rauch F, Glorieux Fh. Osteogenesis imperfecta, Lancet, 2004 Apr 24; 363 (9418):1377-85.
3. Xian JC, Foster BK. The biologic aspects of children's fractures. In: James BH, James KR, eds. Rockwood and Wilkins' Fractures in Children, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2006; p. 22-50
4. Rathjen KE, Birch JG. Physeal injuries and growth disturbances. In: James BH, James KR, eds. Rockwood and Wilkins' Fractures in Children, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2006; p. 100-31
5. Ogden J.A. The development and growth of the musculoskeletal system. In Albright J.A. and Brand R.A. The Scientific Basis of Orthopaedics. New York, Appleton-Century-Crofts, 1979.
6. Ogden J.A. Chondro-osseous development and growth. In Urist M.R. Fundamental clinical bone physiology. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1980.
7. Ogden J.A. and Rosenberg L.C. Defining the growth plate. In Uthoff H.K and Wiley J.J. Behavior of the growth plate. New York, Raven Press, 1988.
8. Siffert R.S. The growth plate and its affections. J. Bone Joint Surg. 1966; 48A:546-563.
9. Dodds G Row formation and other types of arrangements of cartilage cells in endochondral ossification. Anat. Rec. 1930; 46:385-399,.
10. Hunziker E.B, Schenk R.K, and Cruz-Olive L.M. Quantitation of chondrocyte performance in growth-plate cartilage during longitudinal bone growth. J. Bone Joint Surg. 1987; 69A:162-173.
11. Simmons DJ. Chondrobiology of endochondral ossification. Chondrobiologica 1974; 1:97-109.

12. Young RW. Cell proliferation and specialization during endochondral osteogenesis in young rats. *J Cell Biol.* 1962; 14:357-370.
13. Iannotti JP, Goldstein S, Kuhn I. Growth Plate and Bone Development. In Simon SR: *Orthopaedic Basic Science*, Rosemont IL, American Academy Orthopaedic Surgeons, 1994:191
14. Juster M, Moscofian A, Balmain-Oligo N. Formation of the Skeleton VIII. Growth of a Long Bones: Periostealization of the Metaphyseal Bone. *Bull Assoc Anat.* 1975; 59:437.
15. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg.* 1978; 60B:150-162,
16. Rosenberg LC. Chemical basis for the histological use of safranin 0 in the study of articular cartilage. *J Bone Joint Surg.* 53A:
17. Treharne RW. Review of Wolff's law and its proposed means of operation. *Orthop Rev.* 1981; 10:35-44,.
18. Canale TS, Beaty JH. Fractures and dislocation in children. *Campbell's Operative Orthopaedics*, 11th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008; p. 1533-701.
19. Herring JA. Properties of the immature skeleton. In: Herring JA. *Tachdjian's Pediatric Orthopaedics*, 4thed. Philadelphia: Elsevier; 2008; p. 2355-6.
20. Jacobson FS. Periosteum: its relation to pediatric fractures. *J PediatrOrthop B* 1997; 6:84.
21. Ogden JA. Pediatric osteomyelitis and septic arthritis. *The Pathology of Neonatal Disease.* Yale J Biol. Med. 1979; 52:423-448.
22. Gardner E. Osteogenesis in the human embryo and fetus. In Bourne G. *The Biochemistry and physiology of bone.* New York, Academic Press, 1971.
23. Haines RW. The pseudoepiphysis of the first metacarpal in man. *J Anat,* 1974; 117:145-158.
24. Ogden JA. Chondro-osseous development and growth. In Urist MR. *Fundamental and clinical bone physiology.* Philadelphia, JB Lippincott, 1980.
25. Ogden JA and Grogan DP. Prenatal development and growth of the musculoskeletal system. In Albright JA, Brand RA. *The Scientific basic of orthopaedics.* New York, Appleton and lange, 1987.
26. Lacroix P. *The organization of bone.* Philadelphia, Blakiston, 1951.
27. Shapiro F, Holtrop M. and Glomcher M. Organization and cellular biology of the perichondral ossification groove of Ranvier. *J. Bone Joint Surg.* 1977; 59A:703-723.
28. Gordon KR. The correlation of experimentally applied loads with architecture of cancellous bone in the femur of developing mice. *Am Zool.* 1985; 25:22A.

29. Gordon KR, Perl M, and Levy C. Structural alterations and breaking strength of mouse femoral exposed to three activity regimens. *Bone* 1989; 10:303-312.
30. Rose S, Bradley TR. and Nelson JF. Factors influencing the growth of epiphyseal cartilage. *Aust J Exp Biol Med Sci*, 1966; 44:57-64.
31. Rosenberg LC. The physis as an interface between basic resarch and chemical knowledge J. *Bone Joint Surg*. 1987; 66A:815-816.
32. Aubin JE, Heersche JNM, Merilees MJ and Sodek J. Isolation of bone cell clones with differences in growth hormone responsec and extracellular matrix production. *J. Cell Biol*, 1982; 92:452-461.
33. Ehrlich MG, Zaleske DJ, Armstrong AL, Sternlich A. and Mankin HJ. Physealbiochemistry In Uhthuff HK and Wiley JJ. *Behavior of the growth plate*, New York, Raven Press, 1988.
34. Hiraki Y, Yutani Y, Takigawa M, Kato Y. and Suzuki F. Differential effects of parathyroid hormone and somatomedin-like growth factors on the size of proteoglycan monomers and their synthesis in rabbit costal chondrocytes. *Biochim Biopys Acta*, 1985; 845:445-453.
35. Mayne R, Vail MS, Mayne PM. and Miller EJ. Changes in type of collagen synthesized as clones of chick chondrocytes grow and eventually lose division capacity. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1976; 73:1674-1678.
36. Morscher E, Desaulles PA. and Schnek R. Experimental studies on tensile strength and morphology of the epiphyseal cartilage at puberty, *Ann Pediatr*, 1965; 205:112-130.
37. Kan K, Cruess RL, Posner B, Solomon S and Gayda H. Receptor proteins for steroid and peptide hormones in the epiphyseal line. *Trans Orthop Res Soc*, 1981; 6:110.
38. Ogden JA. and Suothwick WO. Endocrine dysfunction and slipped capital femoral epiphysis. *Yale J. Biol Med*, 1977; 50:1-16.
39. Hert J. Acceleration of the growth after decrease of load on epiphyseal plates by means of spring distractors. *Folia Morphologica*, 1969; 17:194-203.
40. Jemkins DH, Cheng DH. and Hodgson AR. Stimulation of bone growth by periosteal stripping. *J. Bone Joint Surg*, 1975; 57B:482-484.
41. Porter RW. The effect of tension across a growing epiphysis. *J. Bone Joint Surg*, 1978; 60B:252-255.
42. Rohling H. Periost und langewachstum. *Beitr Orthop Traumatol*, 1966; 13:603-606.
43. Sola CK, Silberman FS. and Cabrini RL. Stimulation of the longitudinal growth of long bones by periosteal stripping. *J. Bone Joint Surg*, 1963; 45A:1679-1684.
44. Strobino LJ, French GO. and Colonna PC. The effect of increassing tensions on the growth of epiphyseal bone. *Surg Gynecol Obstet*, 1952; 95:694-700.

45. Zucman J. and Piatier-Piketty D. Le role du periostedans la cicatrisation des fractures. *Acta Chir Belg*, 1970; 69:649-657.
46. Zucman J. and Piatier-Piketty D. Le role du periostedans la cicatrisation des fractures. *Acta Chir Belg*, 1970; 69:649-657.
47. Digby K. The measurement of diaphyseal growth in proximal and distal directions. *J. Anat Physiol*. 1915; 50:187.
48. Anderson M, Green WT. and Messner MB. Growth and predictions of growth in the lower extremities. *J. Bone Joint Surg*, 1963; 45A:1-14.
49. Robinow M. Appearance of ossification centers: groupings obtained from factor analyses. *Am J. Dis Child*, 1942; 64:229-236.
50. Roche AF, Wainer H. and Thissen D. Skeletal maturity. The knee jointas a biologicalindicator. New York, Plenum Publishing Corp, 1975.
51. Tanner JM, Whitehouse RH, Marshall WA, Healy MJR. and Goldstein H. Assessment of skletal maturity and prediction of adult height. New York, Academic Press, 1975.
52. Greulich WW and Pyle SI. Radiografic atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford, University Press, 1959.
53. Acheson RM. A assessing skeletal maturity from radiographs. *J. Anat*, 1954; 88:489-508.
54. Blasier DR, Aronson J. Fractures in children. *Curr Opin Pediatr* 1994; 6:85-9.
55. Light TR, McKinstry P, Schnitzer J. and Ogden JA. Bone blood flow: regional variation with skeletal maturation. In Arlet J, Ficat RP. and Hungerford DS. Bone circulation, Baltimore, Williams Wilkins, 1984.
56. McKinistry P, Schnitzer JE, Light TR. and Ogden JA. Quantitation of regional chondro-osseus circulation in the maturing canine tibia and femur. *Am J. Physiol*, 1982; 242:365-375.
57. McKinistry P, Schitzer J, Light TR, Ogden JA. and Hoffer P. Relationship 99m TC-MDP uptake to regional osseus circulation in skeletally immature and mature dogs. *Skeletal Radiol* 1982; 8:115-121.
58. Schnitzer JE, McKinstry P, Light TR. and Ogden JA. Quantitation of regional osseuscirculation in the maturing canine tibia and femur. *Surg Forum*, 1980; 31:509-51,.
59. Bucholz RW, Ogden JA. Patterns od ischemic necrosis of the proximal femur in nonoperatively treated congenital hip disease. In *The hip*, vol 6, pp 43-63. St Louis CV, Mosby, 1978.
60. Morscher E. Posttraumatischezapfenepiphyse. *Arch Orthop Unfallchir*. 1967; 61:128-136.

61. Ogden JA. An anatomical and histological study of the factors affecting development and evolution of avascular necrosis in congenital dislocation of the hip In *The hip*, Vol 2. St Louis CV Mosby, 1974.
62. Lockwood R. and Latta LL. Bone blood flow changes with diaphyseal fracture. *Trans Orthop Res*, 1980; 5:158.
63. Ogden JA. *Skeletal injury in the child*, 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1990.
64. Ogden JA. Injury to the growth mechanism of the Immatureskeleton. *Skeletalradiol.* 6:237-253, 1981. 2nd ed. New York, John Wiley and Sons, 1990.
65. Ogden JA. Injury to the immature skeleton. In Touloukain R: 2nd ed. New York, John Wiley and Sons, *Pediatric Trauma*, 1990.
66. Ogden JA. and Southwick WO. Electrical injury involving the immature skeleton, *Skeletal Radiol.* 1981; 6:187-192.
67. Ryoppy S. Injuries of the growing skeleton. *Ann. Chir.Gynecol. Fenn.* 1972: 61:3-10.
68. Aikten AP, Magill HK. Fractures involving the distal femoral epiphyseal cartilage. *J. Bone Joint Surg* 1952; 34A:96-108.
69. Mann CD, Rajmaira S. Distribution of physeal and non physeal fractures in children 0 to 16 years. *J Pediatr Orthop* 1990; 10:713-716.
70. Peterson CA, Peterson HA. Analysis of the incidence of injuries to the epiphyseal growth plate. *J. Trauma* 1972; 12:275-281.
71. Sanders WE, Heckman JD. Traumatic Plastic Deformation of the Radius and Ulna: a Closed Method of Correction of Deformity. *ClinOrthop* 1984; 188:58.
72. Cheng JC, Shen WY. Limb fractures pattern in different pediatric age groups: a study of 3350 children. *J. Orthop Trauma* 1993; 7:12-15.
73. Kim JR, Hun Song K, Jin Song K, Lee HS. Treatment outcomes of triplane and Tillauxfractures of the ankle in adolescence. *Curr Orthop Surg* 2010; 2:34-8.
74. Marquis CP, Cheung G, Saint Munro Dwyer J, Emery DFG. Supracondylar fractures of the humerus. *Curr Orthop* 2008; 22:62-9.
75. Calmers J, Garey DH and Rush J. Observations on the induction of bone in soft tissues. *J Bone Joint Surg*, 57B:36-45, 1975.
76. Potts WJ. The role of the hematoma in fracture healing. *Surg Gynecol Obstet*, 1933; 57:318-324.
77. Crelin ES, White AA, Panjabi MM and Southwick WO. Microscopic changes in fractured rabbit tibias. *Conn Med*, 1978; 41:561-569.

78. Goldhaber P. Osteogenic induction across millipore filters in vivo. *Science*, 1961; 133:2065-2067.
79. Girgis FG and Pritchard JJ. Experimental production of cartilage during the repair of fractures of the skull vault in rats. *J. Bone Joint Surg*, 1958; 40B:274-281.
80. Owen M. The origin of bone cells. *Int Rev Cytol*, 1970; 28:213-238,.
81. Friedenstein AY. Induction of bone tissue by transitional epithelium. *Clin Orthop*, 1968; 59:21-37.
82. Herbsman H, Kwon K, Shaftan GW, Gordon B, Fox LM and Enquist IF. The influence of systemic factors on fracture healing. *J. Trauma*, 1966; 6:75-85.
83. Herold HZ, Mobel TA. and Tadmor A. Cartilage extract intreatment of fractures in rabbits. *ActaOrthopScand*, 1969; 40:317-324.
84. Rhinelander FW. Tibial blood supply in relation to healing. *Clin Orthop*, 1974; 105:34-81.
85. Reinlander FW, Phillips RS, Steel WM. and Bier JC. Microangiography and bone healing II. Displaced closed fractures. *J. Bone Joint Surg*. 1968; 50A:643-662.
86. McClements P, Templeton RW. and Pritchard JJ. Repair of a bone gap. *J. Anat*, 1961; 95:616.
87. Mulholland MC and Pritchard JJ. The fracture gap. *J. Anat*, 1959; 93:590.
88. Brighton CT. and Heppenstall RB. Oxygen tension in zones of the epiphyseal plate , the metaphysis and diapjysis. An in vitro and in vovo study in rats and rabbits. *J. Bone Joint Surg*, 1971; 53A:719-728,.
89. Davids JR. Rotational deformity and remodeling after fracture of the femur in children. *Clin Orthop* 1994; 302-27.
90. Kummer B, Lohscheidt K. Mathematical model od the longitudinal growth of long bones. *Anat Anz* 1985; 158:377.
91. Wyrsh B, Mencio GA, Green NE. Open reduction and internal fixation of pediatric forearm fractures. *J. Pediatr Orthop* 1966; 16:644.
92. Nonnemann HC. Grenzen der spontankorrekturfehlgeheiltefrakturenbeijugendlichen. *Langenbecks Arch Chir*, 1969; 324:78-86.
93. Compete E, Adams C. Studies of the longitudinal growth of long bones: the influence of trauma to diaphysis. *J. Bone Joint Surg* 1937; 19:922.
94. De Pablos J. Franzeb M, Barrios C. Longitudinal growth pattern of the radius after forearm fractures conservativelytreated in children. *J. Pediatr Orthop* 1994; 14:492.

95. Arkin AM. and Katz JF. Effects of pressure on epiphyseal growth. *J. Bone Joint Surg*, 1956; 38A:1056-1076.
96. Pauwels F. Eineneuethorieuber den einflussreize auf die differizierung der stutzgeweber. *Ges Abh*, 480, 1965.
97. Pauwels F. Eineklinischebeobachtungalsbeispiel und beweis fur funktionelleanpassungdes knochensdurchlagenwchstum. *Z Orthop*, 1975; 113:1-5.
98. Pauwels F. *Biomechanics of the locomotor apparatus*. New York, Springer, 1980.
99. Brdar R. Efekat korekcije povećane anteverzije femura u lečenju postredukcionog osteohondritisa i displazije acetabuluma. *Dokt. Dis.* 48-50, Beograd, 1992.
100. Deftos LJ. Calcium and phosphate homeostasis,chapter 2. In: *Clinical essentials of calcium and skeletalmetabolism*, 1st edn. Professional Communication Inc., pp 1–208. Accessed 20 Apr 2011, 1998.
101. Deftos LJ, Gagel R. Calcitonin and medullary thyroidcarcinoma, chapter 265. In: *Wynyarden JB, Bennett JC (eds) Cecil textbook of medicine*, 21st edn. WB Saunders Company, Philadelphia, 2000; pp 1406–1409.
102. Deftos LJ. Immunoassays for PTH and PTHrP,chapter 9. In: *Bilezikian JP, Marcus R, Levine A (eds)The parathyroids*, 2nd edn. Academic Press, San Diego, 2001; pp 143–166.
103. Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiol Rev* 2001; 81:419–447.
104. Roodman GD. Cell biology of the osteoclast. *ExpHematol* 1999; 27:1229–1241.
105. Kawaguchi H, Pilbean CC, Harrison JR. et al Therole of prostaglandins in the regulation of bone metabolism. *ClinOrthop* 1995; 313:36–46.
106. N. Kim, Y. Kadono, M. Takami et al., Osteoclast differentiationindependent of the TRANCE-RANK-TRAF6 axis, *Journal ofExperimental Medicine*, 2005; vol. 202, no. 5, pp. 589–595.
107. Y. Li, A. Li, K. Strait, H. Zhang, M. S. Nanes, and M. N. Weitzmann, Endogenous TNF α lowers maximum peak bonemass and inhibits osteoblasticsmad activation through NF- κ B, *Journal of Bone andMineral Research*, 2007; vol. 22, no. 5, pp. 646–655.
108. S. Itoh, N. Udagawa, N. Takahashi et al., A critical role forinterleukin-6 family-mediated Stat3 activation in osteoblastdifferentiation and bone formatio, *Bone*, 2006; vol. 39, no. 3, pp. 505–512.
109. Lim S, Joung H, Shin CS, et al. Bodycomposition changes with age havegender-specific impacts on bone mineraldensity. *Bone* 2004; 35:792-8.
110. Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, etal.The effect of postmenopausal estrogentherapy on bone density in elderlywomen. *N. Engl J. Med* 1993; 329:1141-6.

111. Glauber HS, Vollmer WM, Nevitt MC, et al. Body weight versus body fat distribution, adiposity, and frame size as predictors of bone density. *J. Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:1118-23.
112. Lenchik L, Register TC, Hsu FC, et al. Adiponectin as a novel determinant of bone mineral density and visceral fat. *Bone* 2003; 33:646-51.
113. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26:439-51.
114. Oh DK, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin in health and disease. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9:282-9.
115. Stumvoll M, Tschrirer O, Fritsche A, et al. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51:37-41.
116. W. L. Hyun, Y. K. Sang, A. Y. Kim, J. L. Eun, J. Y. Choi, and B. K. Jae, Adiponectin stimulates osteoblast differentiation through induction of COX2 in mesenchymal progenitor cells, *Stem Cells*, 2009; vol. 27, no. 9, pp. 2254–2262.
117. I. Kanazawa, T. Yamaguchi, S. Yano, M. Yamauchi, M. Yamamoto, and T. Sugimoto, Adiponectin and AMP kinase activator stimulate proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells, *BMC Cell Biology*, 2007; vol. 8, article 51.
118. K. Oshima, A. Nampei, M. Matsuda et al., Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005; vol. 331, no. 2, pp. 520–526.
119. N. Yamaguchi, T. Kukita, Y. J. Li et al., Adiponectin inhibits osteoclast formation stimulated by lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetem comitans*, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2007; vol. 49, no. 1, pp. 28–34.
120. Schaffler A et al. Adipocytokines in synovial fluid. *JAMA*, 2003; 290:1709–1710.
121. Tilg H et al. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Rev Immunol*, 2006; 6:772–783.
122. Otero M et al. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:1198–1201.
123. Luo XH, Guo LJ, Yuan LQ, et al. Adiponectin stimulates human osteoblasts proliferation and differentiation via the MAPK signaling pathway. *Exp Cell Res*, 2005; 309:99-109.
124. Kanazawa I. Adiponectin in metabolic bone disease. *Curr Med Chem* 2012; 19:5481-92.

125. Luo XH, Guo LJ, Xie H, et al. Adiponectin stimulates RANKL and inhibits OPG expression in human osteoblasts through the MAPK signaling pathway. *J. Bone Miner Res* 2006; 21:1648-56.
126. Oshima K, Nampei A, Matsuda M, et al. Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331:520-6.
127. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-32.
128. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11:327-32.
129. Dumond H, Presle N, Terlain B, et al. Evidence for a key role of leptin in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:3118-29
130. Morroni M, De Matteis R, Palumbo C, et al. In vivo leptin expression in cartilage and bone cells of growing rats and adult humans. *J. Anat* 2004; 205:291-6.
131. Presle N, Pottier P, Dumond H, et al. Differential distribution of adipokines between serum and synovial fluid in patients with osteoarthritis. Contribution of joint tissues to their articular production. *Osteoarthritis Cartilage* 2006; 14:690-5.
132. Simopoulou T, Malizos KN, Iliopoulos D, et al. Differential expression of leptin and leptin's receptor isoform (Ob-Rb) mRNA between advanced and minimally affected osteoarthritic cartilage; effect on cartilage metabolism. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15:872-83.
133. Iliopoulos D, Malizos KN, Tsezou A. Epigenetic regulation of leptin affects MMP-13 expression in osteoarthritic chondrocytes: possible molecular target *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1616-21.
134. Jarvinen K, Vuolteenaho K, Nieminen R, et al. Selective iNOS inhibitor 1400W enhances anti-catabolic IL-10 and reduces destructive MMP-10 in OA cartilage. Survey of the effects of 1400W on inflammatory mediators produced by OA cartilage as detected by protein antibody array. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26:275-82.
135. J. Cornish, K. E. Callon, U. Bava et al., Leptin directly regulates bone cell function in vitro and reduces bone fragility in vivo, *Journal of Endocrinology*, 2002; vol. 175, no. 2, pp. 405–415.
136. W. R. Holloway, F. M. L. Collier, C. J. Aitken et al., Leptin inhibits osteoclast generation, *Journal of Bone and Mineral Research*, 2002; vol. 17, no. 2, pp. 200–209.
137. Matarese G et al. Leptin in immunology, *J. Immuno* 2005; 174:3137–3142.
138. Reid IR. Fat and bone. *Arch Biochem Biophys* 2010; 503:20-7.
139. Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Catalan V, et al. The bone-adipose axis in obesity and weight loss. *Obes Surg* 2008; 18:1134-43.

140. Motyl KJ, Rosen CJ. Understanding leptin-dependent regulation of skeletal homeostasis. *Biochimie* 2012; 94:2089-96.
141. Maggio AB, Belli DC, Puigdefabregas JW, et al. High bone density in obese adolescents is related to fat mass and serum leptin concentrations. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2014.
142. L. Thommesen, A. K. Stunes, M. Monjo et al., Expression and regulation of resistin in osteoblasts and osteoclasts indicate a role in bone metabolism, *Journal of Cellular Biochemistry*, 2006; vol. 99, no. 3, pp. 824–834.
143. Sada KE et al. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol* 2006; 33:1545–1552.
144. Bokarewa M et al. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J. Immunol* 2005; 174:5789–5795.
145. H. Xie, S. Y. Tang, X.H. Luo et al., Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts, *Calcified Tissue International*, 2007; vol. 80, no. 3, pp. 201–210.
146. A. R. Moschen, S. Geiger, R. Gerner, and H. Tilg, Pre-B cell colony enhancing factor/NAMPT/visfatin and its role in inflammation-related bone disease, *Mutation Research*, 2010; vol. 690, no. 1-2, pp. 95–101.
147. F. Cekmez, F. E. Canpolat, O. Pirgon et al., Apelin, vaspin, visfatin and adiponectin in large for gestational age infants with insulin resistance, *Cytokine*, 2011; vol. 56, no. 2, pp. 387–391.
148. M. Kukla, W. Mazur, R. J. Buldak, and K. Zwirska-Korczala, Potential role of leptin, adiponectin and three novel adipokines-visfatin, chemerin and vaspin in chronic hepatitis, *Molecular Medicine*, 2011; vol. 17, no. 11-12, pp. 1397–1410.
149. S. Phalitikul, M. Okada, Y. Hara, and H. Yamawaki, Vaspin prevents TNF- α -induced intracellular adhesion molecule-1 via inhibiting reactive oxygen species-dependent NF- κ B and PKC θ activation in cultured rat vascular smooth muscle cells, *Pharmacological Research*, 2011; vol. 64, no. 5, pp. 493–500.
150. S. Muruganandan, A. A. Roman, and C. J. Sinal, Role of chemerin/CMKLR1 signaling in adipogenesis and osteoblastogenesis of bone marrow stem cells, *Journal of Bone and Mineral Research*, 2010; vol. 25, no. 2, pp. 222–234.
151. Papaionnou HI, Stakos DA, Tziakas DN, Chalikias G, Tsigalou C, Kartali S. et al. Plasma leptin and adiponectin concentrations in healthy, non-obese children. *J. Pediatr Endocrinol Metab* 2011; 24: 313-318.
152. Kavazarakis E, Moustaki M, Gourgiotis D, Drakatos A, Bossios A, Zeis PM et al. Relation of serum leptin levels to lipid profile in healthy children. *Metabolism* 2001; 50: 1091-1094.

153. P'Allemand D, Schmidt S, Rousson V, Brabant G, Gasser T, Gruters A. Associations between body mass, leptin, IGF-I and circulating adrenal androgens in children with obesity and premature adrenarche. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 537-543.
154. Venner AA, Doyle-Baker PK, Lyon ME, Fung TS. A meta-analysis of leptin reference ranges in the healthy paediatricprepubertal population. *Ann ClinBiochem* 2009; 46:65-72.
155. Martos-Moreno GY, Barrios V, Argente J. Normative data for adiponectin, resistin, interleukin 6, and leptin/receptor ratio in a healthy Spanish pediatric population: relationship with sex steroids. *Eur JEndocrinol* 2006; 155: 429-434.
156. Wilasco MIA, Goldani HA, Dornelles CT, Maurer RL, Kieling CO, Porowski M. et al. Ghrelin, leptin and insulin in healthy children: Relationship with anthropometry, gender, and age distribution. *RegulPept* 2012; 173: 21-26.
157. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectinand leptin concentrations in normal-weight and obese women, *Eur J Endocrinol* 2002; 147:173-180.
158. Murphy MJ, Hosking J, Metcalf BS, Voss LD, Jeffery AN, Sattar N. et al. Distribution of adiponectin, leptin, and metabolic correlates of insulin resistance: a longitudinal study in British children; 1: prepuberty (Early Bird 15). *ClinChem* 2008; 54: 1298-1306.
159. Wit JM, Camacho-Hubner C. Endocrine regulation of longitudinal bone growth. *Endocrine Development* 2011; 21: 30-41,.
160. Gat-Yablonski G, Yackobovitch-Gavan M. Phillip M. Nutrition and bone growth in pediatrics. *Pediatric Clinics of North America* 2011; 58 1117-1140 (ix).
161. Marcovecchio ML, Chiarelli F Obesity and growth during childhood and puberty. *World Revienv of Nutrition and Dietetics* 106 135/141, 2013.
162. Parker EA, Hegde A, Buckley M, Barnes KM, Baron J, Nilsson O. Spatial and temporal regulation of GH – IGF – related gene expression in growth plate cartilage. *Journal of Endocrinology*, 2007; 194: 31-40.
163. Ahmed SF, Savendahl L. Promoting growth in chronic inflammatory disease: lessons from studies of the growth plate, *Hormone Research* 72 (Suppl 1), 2009; 42-47.
164. Altowati MA, Russell RK. Ahmed SF 2013 Endocrine therapy for growth retardation in paediatric inflammatory bowel disease, *Paediatric Drugs* 16 29-42. *Bone Miner Res.* 2011; 26(7): 1568-76.
165. Barbour KE, Zmuda JM, Bourdreau R et al. Adipokines and the risk of fracture in older adults, *J Bone Miner Res.* 2011; 26(7):1568-76.

166. Araneta MR, vonMuhlen D, Barrett-Connor E. Sex differences in the association between adiponectin and BMD, bone loss and fractures: the Rancho Bernardo study. *J. Bone Miner Res* 2009; 24(12):2016-22
167. Tietge UJ, Boker KH, Manns MP, et al. Elevated circulating adiponectin levels in liver cirrhosis are associated with reduced liver function and altered hepatic hemodynamics. *Am J. Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 287:E82-9.
168. Salman TA, Allam N, Azab GI, et al. Study of adiponectin in chronic liver disease and cholestasis. *Hepatol Int.* 2010; 4:767-774.
169. Balmer ML, Joneli J, Schoepfer A, et al. Significance of serum adiponectin levels in patients with chronic liver disease. *Clin Sci (Lond).* 2010; 119:431-436.
170. Kamada Y, Takehara T, Hayashi N. Adipocytokines and liver disease. *J. Gastroenterol.* 2008; 43:811-822.
171. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh, K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14:561-566.
172. Yamaguchi N, Kukita T, Li YJ, Kamio N, Fukumoto S, Nonaka K, et al. Adiponectin inhibits induction of TNF α /RANKL-stimulated NFATc1 via the AMPK signaling. *Febs Lett* 2008; 582:451-456.
173. Wulster-Radcliffe MC, Ajuwon KM, Wang J, Christian JA, Spurlock ME. Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316:924-929.
174. Park PH, Huang H, McMullen MR, Mandal P, Sun L, Nagy LE. Suppression of lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor- α production by adiponectin is mediated by transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *J. Biol Chem* 2008; 283: 26850-26858.
175. Pang TT, Narendran P. The distribution of adiponectin receptors on human peripheral blood mononuclear cells. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1150:143-145.
176. Yamaguchi N, Argueta JG, Masuhiro Y, Kagishita M, Nonaka K, Saito T, et al. Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling. *Febs Lett* 2005; 579:6821-6826.
177. Ajuwon KM, Spurlock ME. Adiponectin inhibits LPS-induced NF- κ B activation and IL-6 production and increases PPAR γ 2 expression in adipocytes. *Am J. Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288:1220-1225.
178. Tsatsanis C, Zacharioudaki V, Androulidaki A, Dermizaki E, Charalampopoulos I, Minas V, et al. Adiponectin induces TNF- α and IL-6 in macrophages and promotes tolerance to itself and other pro-inflammatory stimuli. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 335:1254-1263.

179. Fisher A, Southcott E, Li R, Srikusalanukul W, Davis M, Smith P. Serum resistin in older patients with hip fracture: Relationship with comorbidity and biochemical determinants of bone metabolism. *Cytokine*. 2011; 56(2):157-166.
180. Keel M, Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury*. 2005; 36(6):691–709.
181. Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG. Systemic inflammation after trauma. *Injury*. 2007; 38(12):1336–1345.
182. Lord JM, Midwinter MJ, Chen YF, Belli A, Brohi K, Kovacs EJ, et al. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *Lancet*. 2014; 384(9952):1455–1465.
183. M. Thaeter, M. Knobe, M. Vande Kerckhove, F. Böhle, J. Herold, E. Verhaven, H.-C. Pape. Perioperative inflammatory response in major fracture: do geriatric patients behave differently? *Eur J. Trauma Emerg Surg* 2016; 42:547–551.
184. Zou FH, Foster BK, Sander G, Xian CJ. Expression of proinflammatory cytokines and growth factors at the injured growth plate cartilage in young rats. *Bone*. 2004; 35(6): 1307-1315.
185. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J. Bone Miner Res*. 2001 Jun; 16(6):1004-1014.
186. Lazar-Antman MA, Leet AI. Effects of obesity on pediatric fracture care and management *J. Bone Joint Surg Am*. 2012 May 2; 94(9):855-861.
187. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med*. 2012; 152:93-100.
188. Conde J, Scotece M, Gomez R, Lopez V, Gomez-Reino JJ, Lago F, et al. Adipokines: biofactors from white adipose tissue. A complex hub among inflammation, metabolism, and immunity. *Biofactors*. 2011; 37:413-420.
189. Chen M, Wang B, Xu Y, Deng Z, Xue H, Wang L, He L. Diagnostic value of serum leptin and a promising novel diagnostic model for sepsis. *Exp Ther Med*. 2014 Apr; 7 (4): 881-886.
190. Chang ML, Kuo CJ, Huang HC, Chu YY, Chiu CT. Association between Leptin and Complement in Hepatitis C Patients with Viral Clearance: Homeostasis of Metabolism and Immunity. *PLoS One*. 2016 Nov 21
191. Lipsey CC, Harbuzariu A, Daley-Brown D, Gonzalez-Perez RR. Oncogenic role of leptin and Notch interleukin-1 leptin crosstalk outcome in cancer. *World J Methodol* 2016; 6(1): 43-55.

192. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 314:1-16.
193. Lee YJ, Park JH, Ju SK, You KH, Ko JS, Kim HM. Leptin receptor isoform expression in rat osteoblasts and their functional analysis. *FEBS Lett* 2002; 528: 43-47.
194. Scheller EL, Song J, Dishowitz MI, Soki FN, Hankenson KD, Krebsbach PH. Leptin functions peripherally to regulate differentiation of mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells* 2010; 28: 1071-1080.
195. Hamrick MW, Ferrari SL. Leptin and the sympathetic connection of fat to bone. *Osteoporos Int* 2008;19:905-12.
196. Gordeladze JO, Reseland JE. A unified model for the action of leptin on bone turnover. *J. Cell Biochem* 2003; 88:706-712.
197. Takeda S, Elefteriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002; 111:305-317.
198. S. Oguz, O. L. Tapisiz, H. Aytan et al. Is leptin a significant predictor of bone mineral density in postmenopausal Turkish women? *Rheumatology International*, 2009; vol. 29, no. 4, pp. 393-396,.
199. G. A. King, S. E. Deemer, and D. L. Thompson Relationship between leptin, adiponectin, bone mineral density, and measures of adiposity among pre-menopausal hispanic and caucasian women. *Endocrine Research*, 2010; vol. 35, no. 3, pp. 106-117.
200. N. Wu, Q. P. Wang, H. Li, X. P. Wu, Z. Q. Sun, and X. H. Luo. Relationships between serum adiponectin, leptin concentrations and bone mineral density, and bone biochemical markers in Chinese women. *Clinica Chimica Acta*, 2010; vol. 411, no. 9-10, pp. 771-775,.
201. H. Zhang, H. Xie, Q. Zhao et al. Relationships between serum adiponectin, apelin, leptin, resistin, visfatin levels and bone mineral density, and bone biochemical markers in postmenopausal Chinese women. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2010; vol. 33, no. 10, pp. 707-711.
202. T. Iida, T. Domoto, A. Takigawa et al. Relationships among blood leptin and adiponectin levels, fat mass, and bone mineral density in Japanese pre and postmenopausal women. *Hiroshima Journal of Medical*, 2011; vol. 60, no. 4, pp. 71-78.
203. VD Sherk, SP Malone, MG Bembien, AW Knehans, IJ. Palmer, and D. Bembien. Leptin, fat mass, and bone mineral density in healthy pre and postmenopausal women. *Journal of Clinical Densitometry*, 2011; vol. 14, no. 3, pp. 321-325.
204. KE Barbour, JM. Zmuda, R Boudreau, ES Strotmeyer, MJ Horwitz, RW Evans, AM Kanaya, TB Harris, and JA Cauley. The Effects of Adiponectin and Leptin on Changes in Bone Mineral Density *Osteoporos Int.* 2012; 23(6): 1699-1710.

205. Y. J. Rhie, K. H. Lee, S. C. Chung, H. S. Kim, and D. H. Kim. Effects of body composition, leptin, and adiponectin on bone mineral density in prepubertal girls. *Journal of Korean Medical Science*, 2010; vol. 25, no. 8, pp. 1187-1190.
206. Y. Wei, L. Wang, J. C. M. Clark, C. R. Dass, and P. F. M. Choong. Elevated leptin expression in a rat model of fracture and traumatic brain injury. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2008; vol. 60, no. 12, pp. 1667–1672.
207. Wang L, Yuan J, Zhang H, Ding H, Tang X, Wei Y. Effect of leptin on bone metabolism in rat model of traumatic brain injury and femoral fracture. *Chinese Journal of Traumatology* 2011; 14(1):7-13.
208. Chou SH, Chamberland JP, Liu X, Matarese G, Gao C, Stefanakis R, Brinkoetter MT, Gong H, Arampatzi K, Mantzoros CS. Leptin is an effective treatment for hypothalamic amenorrhea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108(16):6585–6590.
209. Chou SH, Mantzoros C. 20 years of leptin: Role of leptin in human reproductive disorders. *J. Endocrinol*. 2014; 223(1):T49–T62.
210. Welt CK, Chan JL, Bullen J, Murphy R, Smith P, DePaoli AM, Karalis A, Mantzoros CS. Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea. *N Engl J Med*. 2004; 351(10):987–97.
211. Sienkiewicz E, Magkos F, Aronis KN, Brinkoetter M, Chamberland JP, Chou S, Arampatzi KM, Gao C, Koniaris A, Mantzoros CS. Long-term metreleptin treatment increases bone mineral density and content at the lumbar spine of lean hypoleptinemic women. *Metabolism*. 2011; 60(9):1211–21.
212. Feng W, Liu B, Liu D, Hasegawa T, Wang W, Han X, Cui J, Yimin, Oda K, Amizuka N, Li M. Long - Term Administration of High -F at Diet Corrects Abnormal Bone Remodeling in the Tibiae of Interleukin-6-Deficient Mice. *J Histochem Cytochem*. 2016; 64 (1): 42-53.
213. García-Jiménez S, Bernal Fernández G, Martínez Salazar MF, Monroy Noyola A, Toledano Jaimes C, Meneses Acosta A, Gonzalez Maya L, Aveleyra Ojeda E, Terrazas Meraz MA, Boll MC, Sánchez-Alemán MA. Serum leptin is associated with metabolic syndrome in obese Mexican subjects. *J Clin Lab Anal*. 2015; 29(1):5-9.
214. Faggioni R, Moser A, Feingold KR, Grunfeld C. Reduced leptin levels in starvation increase susceptibility to endotoxic shock. *Am J. Pathol* 2000; 156(5):1781-1787.
215. Takeda S, Elefteriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002; 111(3):305-317.

216. Fernandez-Riejos P, Najib S, Santos-Alvarez J, Martin-Romero C, Perez-Perez A, Gonzalez-Yanes C, Sánchez-Margalet V. Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010:568343.
217. Bornstein SR, Licinio J, Tauchnitz R, Engelmann L, Negro AB, Gold P, Chrousos GP. Plasma leptin levels are increased in survivors of acute sepsis: associated loss of diurnal rhythm, in cortisol and leptin secretion. *J. Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83:280-3.
218. Lin J, Yan GT, Wang LH, Xue H, Hao XH, Zhang K. Effect of long tubular bone fracture on serum levels of leptin, acute phase proteins and biochemical markers for organ functions. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2006; 18(1):19-23.
219. M. Boes, M. Kain, S. Kakar et al. Osteogenic effects of traumatic brain injury on experimental fracture-healing, *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*, 2006; vol. 88, no. 4, pp. 738–743,.
220. Y. Wei, L. Wang, J. C. M. Clark, C. R. Dass, and P. F. M. Choong. Elevated leptin expression in a rat model of fracture and traumatic brain injury. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2008; vol. 60, no. 12, pp. 1667–1672,.
221. O. P. Gautschi, D. Cadosch, S. P. Frey, A. P. Skirving, L. Filgueira, and R. Zellweger. Serum-mediated osteogenic effect in traumatic brain-injured patients. *ANZ Journal of Surgery*, 2009; vol. 79, no. 6, pp. 449–455,.
222. D. Cadosch, O. P. Gautschi, M. Thyer et al. Humoral factors enhance fracture-healing and callus formation in patients with traumatic brain injury. *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*, 2009; vol. 91, no. 2, pp. 282–288.
223. D. Zhang, P. Zhang, Y. Wang, N. Han, C. Tang, and B. Jiang. The influence of brain injury or peripheral nerve injury on calcitonin gene-related peptide concentration variation and fractures healing process. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*, 2009; vol. 37, no. 2, pp. 85–91,.
224. Y. Song, L. Bi, Z. Zhang et al. Increased levels of calcitonin gene-related peptide in serum accelerate fracture healing following traumatic brain injury. *Molecular Medicine Reports*, 2012; vol. 5, no. 2, pp. 432–438,.
225. S. Yang, Y. Ma, Y. Liu, H. Que, C. Zhu, and S. Liu. Arachidonic acid: a bridge between traumatic brain injury and fracture healing, *Journal of Neurotrauma*, 2012; vol. 29, no. 17, pp. 2696–2705.
226. Wang L, Liu L, Pan Z, Zeng Y. Serum leptin, bone mineral density and the healing of long bone fractures in men with spinal cord injury. *Bosn J. Basic Med Sci.* 2015; 15(4):69-74.
227. Saad MF, Damani S, Gingerich RL, Riad-Gabriel MG, Khan A, Boyadjian R, et al. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J. Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:579-84.

228. Licinio J, Negrao AB, Mantzoros C, Kaklamani V, Wong ML, Bongiorno PB, et al. Sex differences in circulating human leptin pulse amplitude: Clinical implications. *J. Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:4140-4147.
229. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Digby JE, O'Rahilly S. Depotand sex-specific differences in human leptin mRNA expression: Implications for the control of regional fat distribution. *Diabetes* 1997; 46:342-7.
230. McConway MG, Johnson D, Kelly A, Griffin D, Smith J, Wallace AM. Difference in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. *Ann Clin Biochem* 2000; 37(Pt 5):717-723.
231. Halleux CM, Servais I, Reul BA, Detry R, Brichard SM. Multihormonal control of ob gene expression and leptin secretion from cultured human visceral adipose tissue: Increased responsiveness to glucocorticoids in obesity. *J. Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:902-10.
232. Lin J, Yan GT, Wang LH, Xue H, Hao XH, Zhang K. Effect of long tubular bone fracture on serum levels of leptin, acute phase proteins and biochemical markers for organ functions. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2006; 18(1):19-23.
233. Kalfas IH. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus*. 2001; 15;10(4):E1.
234. Dimmen S, Nordsletten L, Engebretsen L, Steen H, Madsen JE. Negative effect of parecoxib on bone mineral during fracture healing in rats. *Acta Orthop*. 2008; 79(3):438-44.
235. Pountos I, Georgouli T, Blokhuis TJ, Pape HC, Giannoudis PV. Pharmacological agents and impairment of fracture healing: what is the evidence? *Injury*. 2008; 39(4):384-94.
236. Simon AM, O'Connor JP. Dose and time-dependent effects of cyclooxygenase-2 inhibition on fracture-healing. *J. Bone Joint Surg Am*. 2007; 89(3):500-11.
237. Romas E, Gillespie M.T, Martin T.J. Involvement of receptor activator of NFkB ligand and tumor necrosis factor- α in bone destruction in rheumatoid arthritis. *Bone*. 2002; 30:340
238. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P.V. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury*. 2007; 38(Suppl 1):S11
239. Kolar P, Schmidt-Bleek K, Schell H, Gaber T, Toben D, Schmidmaier G, Perka C, Buttgerit F, Duda GN. The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. *Tissue Eng Part B Rev*. 2010; 16(4):427-434.
240. Einhorn TA, Majeska RJ, Rush EB, et al. The expression of cytokine activity by fracture callus. *J. Bone Miner Res* 1995; 10:1272-1281.
241. Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, et al. Impaired fracture healing in the absence of TNF-alpha signalling: the role of TNF-alpha in endochondral cartilage resorption. *J. Bone Miner Res* 2003; 18:1584-92.

242. Kon T, Cho T, Aizawa T, et al. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF- κ B ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res* 2001; 16:1004-14.
243. Gerstenfeld L.C. Cho T.-J. Kon T. Aizawa T. Tsay A. Fitch J. Barnes G.L. Graves D.T. Einhorn T.A. Impaired fracture healing in the absence of TNF- α signaling: the role of TNF- α in endochondral cartilage resorption. *J. Bone Miner Res.* 2003;18: 1584.
244. Cho T.-J. Gerstenfeld L.C. Einhorn T.A. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor β superfamily during murine fracture healing. *J. Bone Miner Res.* 2002; 17:513
245. Nanes M.S. Pacifici R. Inflammatory cytokines. In: Bronner F., editor; Farach-Carson M.C., editor; Rubin J., editor. *Bone Resorption*. New York, NY: Springer; 2005; pp. 67–90.
246. Kolar P, Gaber T, Perka C, Duda GN, Buttgerit F. Human early fracture hematoma is characterized by inflammation and hypoxia. *Clin Orthop Relat Res.* 2011; 469(11):3118–3126.
247. Schmidt-Bleek K, Schell H, Schulz N, Hoff P, Perka C, Buttgerit F, Volk HD, Lienau J, Duda GN. Inflammatory phase of bone healing initiates the regenerative healing cascade. *Cell Tissue Res.* 2012; 347(3):567–573.
248. Karnes JM, Daffner SD, Watkins CM. Multiple roles of tumor necrosis factor-alpha in fracture healing. *Bone.* 2015; 78:87–93.
249. Mountziaris PM, Spicer PP, Kasper FK, Mikos AG. Harnessing and Modulating Inflammation in Strategies for Bone Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2011; 17(6):393-402.
250. Paige Lacy. Mechanisms of Degranulation in Neutrophils. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2006; 2(3): 98–108.
251. Tsou CL, Peters W, Si Y, Slaymaker S, Aslanian AM, Weisberg SP, Mack M, Charo IF. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *J. Clin Invest.* 2007; 117(4):902-9.
252. Kuziel WA, Morgan SJ, Dawson TC, Griffin S, Smithies O, Ley K, Maeda N. Severe reduction in leukocyte adhesion and monocyte extravasation in mice deficient in CC chemokine receptor 2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94(22):12053-8.
253. Ma M1, Wei T, Boring L, Charo IF, Ransohoff RM, Jakeman LB. Monocyte recruitment and myelin removal are delayed following spinal cord injury in mice with CCR2 chemokine receptor deletion. *J. Neurosci Res.* 2002; 68(6):691-702.

-
254. Zhiqing Xing, 1 Chuanyong Lu, 1 Diane Hu, 1 Yan-yiu Yu, 1 Xiaodong Wang, 1 Celine Colnot, 1 Mary Nakamura, 2 Yalei Wu, 2 Theodore Miclau, 1 and Ralph S. Marcucio 1. Multiple roles for CCR2 during fracture healing *Dis Model Mech.* 2010; 3(7-8): 451–458.
255. H. Schell, 1 G. N. Duda, 1,2 A. Peters, 1 S. Tsitsilonis, 1,2,3 K. A. Johnson, 4 and K. Schmidt The haematoma and its role in bone healing *J. Exp Orthop.* 2017; 4:5.
256. Marc F. Swiontkowski, Slobodan Tepic, Berton A Rahn, Jacques Cordey Stephan M . Perren The effect of fracture on femoral head blood flow: Osteonecrosis and revascularization studied in miniature swine. *Acta Orthop Scand* 1993; 64 (2): 196-202
257. Takeuchi T, Shidou T. Impairment of blood supply to the head of the femur after fracture of the neck. *Int Orthop.* 1993 Nov; 17(5):325-9.
258. Lienau J, Schmidt-Bleek K, Peters A, Haschke F, Duda GN, Perka C, Bail HJ, Schutze N, Jakob F, Schell H. Differential regulation of blood vessel formation between standard and delayed bone healing. *J Orthop Res.* 2009; 27(9):1133–1140.
259. Lienau J, Schmidt-Bleek K, Peters A, Weber H, Bail HJ, Duda GN, Perka C, Schell H. Insight into the molecular pathophysiology of delayed bone healing in a sheep model. *Tissue Eng Part A.* 2010; 16(1):191–199.
260. Kovach TK, Dighe AS, Lobo PI, Cui Q. Interactions between MSCs and immune cells: implications for bone healing. *J. Immunol Res.* 2015; 2015:752510.