



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ

RATLARDA STEROİDİN İNDÜKLEDİĞİ FEMUR BAşI
OSTEONEKROZU ÜZERİNE FERULİK ASİTİN
KEMOPROFİLAKTİK ETKİSİ

Dr.Enes Başer

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ

RATLARDA STEROİDİN İNDÜKLEDİĞİ FEMUR BAŞI
OSTEONEKROZU ÜZERİNE FERULİK ASİTİN
KEMOPROFİLAKTİK ETKİSİ

Dr. Enes Başer

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Oktay Adanır
2.Tez Danışmanı: Op. Dr. Ahmet Utku Gürün

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimi tamamladığım Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi'nde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, üzerimde emeği büyük olan Prof. Dr. Mehmet Akif GÜLEÇ hocamıza;

Mesleki gelişimimde emekleri olan başta tez danışmanım ve kıymetli ağabeyim Doç. Dr. Oktay ADANIR' a, Doç. Dr. Ender ALAGÖZ' e, Doç. Dr. Sever ÇAĞLAR' a, Op. Dr. Kahraman DEMİRYONTAR' a, Op. Dr. M. Ali BARAN' a, Op. Dr. A. Utku GÜRÜN' e, Op. Dr. Abdurrahman ACAR' a, Op. Dr. M. Fatih DAŞCI' ya, Op. Dr. Muhammed USLU' ya, Op. Dr. Ozancan BİÇER' e, Op. Dr. Emincan BALCI' ya ve teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlık sürecinin ilk gününden beri yanımda olan, kederi sevinci birlikte yaşadığım dostum, eş kıdemim, kardeşim Dr. Ali ALP' e;

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm uzman ve asistan arkadaşlarım, hemşire, sekreter ve personele;

Asistanlık sürecimin her zorluğundan, umutsuzluklarımdan ve bazen de mutluluklarımdan haberdar olan, beni her koşulda destekleyen annem Zahide BAŞER, babam Mükremin BAŞER ve ablalarım Esmâ ve Esra'ya;

Bu süreçte bizi yalnız bırakmayıp desteklerini esirgemeyen kayınvalidem Ayşe ÖNAL ve kayınpederim Talip ÖNAL' a

Naif ve merhametli tutumuyla dokunduğunu güzelleştiren ve bu süreçte nazımı kaldıran ve beni, bizi güzelleştirmeye devam eden bu hayattaki şansım güzel eşim Merve ÖNAL BAŞER' e ve minik Kerem'ime

Sonsuz Teşekkürler

Dr. Enes BAŞER

İSTANBUL/2025

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KALÇA EKLEMİ EMBRİYOLOJİSİ	3
2.2. KALÇA EKLEMİ ANATOMİSİ	4
2.2.2 Kalça Ekleminin Muskuler Anatomisi	10
2.2.2.1 Gluteal bölge kasları:	10
2.2.2.2 Uyluğun ön kompartman kasları:	13
2.2.2.3 Uyluğun medial kompartman kasları:	13
2.2.2.4 Uyluğun posterior kompartman kasları:	14
2.2.3 Kalça Ekleminin Kan Dolaşımı ve Sinirsel İnnervasyonu:	14
2.3. FEMUR BAŞI OSTEONEKROZU (AVASKÜLER NEKROZ)	16
2.3.1 Femur Başı Osteonekrozu Genel Bilgiler	16
2.3.2 Femur Başı Osteonekrozu Epidemiyolojisi	18
2.3.4 Kortikosteroid Kullanımının Femur Başı Osteonekrozundaki Patogenezi	21
2.3.5 Femur Başı Osteonekrozunda Klinik Bulgular ve Semptomlar	25
2.3.6 Femur Başı Osteonekrozunda Tanı	26
2.3.7 Femur Başı Osteonekrozunda Ayırıcı Tanı	28
2.3.8 Femur Başı Osteonekrozunda Sınıflandırma	32
2.3.9 Femur Başı Osteonekrozu Tedavi Seçenekleri	35
2.3.9.1 Femur başı osteonekrozunda konservatif tedavi:	36
2.3.9.2 Femur başı osteonekrozunda cerrahi tedavi:	38
2.4. FERULİK ASİT	40
2.4.1 Ferulik Asitin Kimyasal Yapısı:	40
2.4.2 Ferulik Asitin Doğal Kaynakları:	41

2.4.3 Ferulik Asitin Farmakokinetik Özellikleri:	42
2.4.4 Ferulik Asitin Genel Etkileri:.....	43
2.4.4.1 Ferulik asitin antioksidan etki mekanizması:.....	43
2.4.4.2 Ferulik asitin antiinflamatuvar etki mekanizması:	44
2.4.4.3 Ferulik asitin endotel koruyucu etki mekanizması:.....	44
2.4.4.4 Ferulik asitin antiapoptotik etki mekanizması:.....	44
2.4.4.5 Ferulik asitin antiplatelet etki mekanizması:.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	46
3.1. ÇALIŞMA PLANI	46
3.1.1. Sıçanlarda Gruplama ve Femur Başı Osteonekroz Modeli Oluşturulması	47
3.2. CERRAHİ TEKNİK	50
3.2.1. Anestezi	50
3.2.2. Cerrahi Teknik	51
3.3. HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOMORFOMETRİK İNCELEMELER	54
3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME	55
3.5. İSTATİKSEL YÖNTEMLER	56
3.6. ÇIKAR ÇATIŞMASI (CONFLICT OF INTEREST).....	56
4. BULGULAR	56
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	56
4.2. HİSTOMORFOMETRİK BULGULAR	60
4.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	64
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇLAR	73
Kaynakça	75
EKLER	85
EK-1: Özgeçmiş Formu	85
EK-2: HADYEK Onay Formu	85
EK-3: Tez Konusu Onay Formu	85

KISALTMALAR

AA: Araşidonik asit

ADP: Adenozin difosfat

ANOVA : Analysis of Variance

Ark : Arkadaşları

AVN : Avasküler Nekroz

BADABEM : Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi

BALP : Bone-alkaline phosphatase

Bcl-2 : B-cell lymphoma 2

BMP : Kemik morfojenik protein

BV/TV : Kemik hacmi/Total Hacim

BS/BV : Kemik yüzey alanı/Kemik hacmi

BS/TV : Kemik yüzey alanı/Total hacim

CD31 : Yüzey farklılaşma antijeni 31

COX : Siklooksijenaz

CTX : Carboxy-terminal tip 1 collagen crosslink

DAB : 3,3'-Diaminobenzidine

DHTQ : Dihidrotimokinon

dk : Dakika

DNA : Deoksiribonukleik asit

ESWT : Extracorporeal Shock Wave Therapy

ELISA : Enzym-linked immunosorbent assay

FA: Ferulik asit

FBON : Femur başı osteonekroz

GSH : Glutasyon

HCl : Hidroklorür

HDL : High density lipoprotein

H+E : Hematoksilen + Eozin

H₂O₂ : Hidrojen peroksit
IFN- γ : İnterferon gama
IGF : İnsülin benzeri büyüme faktörü
IP : İntraperitoneal
IL-1 β : İnterlökin-1 beta
IL-6 : İnterlökin-6
IL-10 : İnterlökin-10
LDL : Low density lipoprotein
LPS : Lipopolisakkarit
LO : Lipoksijenaz
MDA : Malondialdehid
MFSA : Medial Femoral Sirkumfleks Arter
MPS : Metil Prednizolon Sodyum Süksinat
MRG : Manyetik Rezonans Görüntüleme
NADH : Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF- κ B : Nükleer faktör kappa beta
NO : Nitrik Oksit
NOS : Nitrik Oksit Sentaz
NS : Nigella Sativa
ON : Osteonekroz
OPG : Osteoprotegerin
PBS : Phosphate Buffer Saline
PDGF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PECAM : Platelet/endotelyal hücre adezyon molekülü
PGE₂ : Prostaglandin E₂
RANKL : NF- κ B ligand reseptör aktivatörü
ROI : Region of Interest
SLE : Sistemik Lupus Eritematozum
SPECT : Tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi

TAS : Toplam antioksidan kapasite

Tb. Th : Trabeküler kalınlık

Tb. N : Trabeküler sayı

Tb. Pf : Trabeküler kemik modeli faktörü

Tr. Sp : Trabeküler mesafe



TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1FBON (femur başı osteonekrozu) etyolojisi.....	19
Tablo 2 Femur başı osteonekrozu Ficat ve Arlet Sınıflaması.....	33
Tablo 3 Femur başı osteonekrozu ek sınıflamalar	34
Tablo 4 Besinlerin ferulik asit içeriği	41
Tablo 5 FA (Ferulik asit) farmakokinetik özellikleri (99)	43
Tablo 6 Ferulik asitin diğer hastalıklarda etkisi.....	45
Tablo 7 Deney hayvanları gruplaması	48
Tablo 8 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin histopatolojik değerlendirmelerinin gruplara göre dağılımı ve istatistiksel karşılaştırılması.....	59
Tablo 9 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik indeksleri ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	63
Tablo 10 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinde proteinlerin immunohistokimyasal skorları ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması	64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1Kalça eklemi kesitsel anatomi (https://houstonssportsortho.com/)	6
Şekil 2 Kalça eklemi ligamentleri Neumann, D., 2010b.	8
Şekil 3 Kalça eklem anatomisi, Lig. Capitis femoris (Sobotta 15th ed.)	10
Şekil 4 Kalça derin gluteal kasları (Sobotta 15th ed.)	12
Şekil 5 Femur başı arteriyel anatomisi (Sobotta 15th ed.).....	15
Şekil 6 Femur başı osteonekrozu makroskopik görüntü (https://www.ccjm.org)	17
Şekil 7 Osteonekroz diyagramı	20
Şekil 8 Femur başı kanlanması, A: önden görünüm B: Arkadan görünüm (https://musculoskeletalkey.com)	21
Şekil 9 Osteonekroz patogenezi (58).....	24
Şekil 10 Evre III olguda crescent bulgusu	
Şekil 11FBON Erken evre MRI bulgusu.....	26

Şekil 12 Normal kalça MRG, fovea centralis.....	29
Şekil 13 Coronal ve sagittal planda birleşik nekrotik açığı ölçümü	30
Şekil 14 Sağ tarafta sağlıklı kalça fovea capitis. Sol taraf FBON.....	31
Şekil 15 Sağ kalçada geçici osteoporoz MRI görüntüsü	32
Şekil 16 Femur başı osteonekrozunda tedavi algoritması Mont et al , 2020 (89)	40
Şekil 17 Ferulik asit kimyasal yapısı.....	41
Şekil 18 AVN modeli ilaç uygulamaları	47
Şekil 19 Çıkarılan femur kemiği formolde saklanması.....	50
Şekil 20 BADABEM Ameliyathane-1 salonu.....	51
Şekil 21 Cerrahi alanın tıraş edilmesi ve insizyonun belirlenmesi.....	52
Şekil 22 Yumuşak dokulardan arındırılmış sıçan femuru.....	53
Şekil 23 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. Hematoxilen + Eozin, 40x.	57
Şekil 24 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından kemik hacminin doku hacmine oranlarının (%BV/TV) karşılaştırılması p=0,7876.....	61
Şekil 25 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından trabeküler kemik çevresinin toplam hacme oranlarının (BS/TV, mm ² /mm ³) karşılaştırılması p=0,3958	61
Şekil 26 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgular p = 0.5651.....	62
Şekil 27 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından trabeküler kalınlıkların (Tb.Th, µm) karşılaştırılması p=0,5974.....	62
Şekil 28 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından trabeküler sayıların (Tb.N, mm ⁻¹) karşılaştırılması p=0,3957.....	63
Şekil 29 Femur başı dokusunda Bcl-2 (B hücresi lenfoma 2), PECAM/CD31 (Platelet/endotelial hücre adezyon molekülü 1) ve VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) protein immunoreaktivitelerinin değerlendirilmesi ve gruplara göre istatistiksel olarak karşılaştırılması. a P<0,01, d P<0,05 vs kontrol grubu, b P<0,01, c P<0,05 vs ilaç grubu.....	65

Şekil 30 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin Bcl-2 protein immunohistokimya analizlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. 100x. a: kontrol, b: ilaç, c: AVN, d: AVN+ilaç	65
Şekil 31 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin PECAM/CD31 (Platelet/endotelyal hücre adezyon molekülü 1) protein immunohistokimya analizlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. 100x. a: kontrol, b: ilaç, c: AVN, d: AVN+ilaç	66
Şekil 32 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü) protein immunohistokimya analizlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. 100x. a: kontrol, b: ilaç, c: AVN, d: AVN+ilaç	67



ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmasında, sıçanlarda steroidle indüklenen femur başı osteonekroz (FBON) modelinde Ferulik Asit tedavisinin antioksidan, anti apoptotik, osteoblastik, osteoprotektif ve hipolipidemik etkilerinin biyokimyasal, histopatolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal açıdan değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem: Toplam 32 adet Sprague-Dawley cinsi genç-erişkin dişi sıçan, randomize olarak dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney gruplarına enjeksiyon yapıldığı günlerde intraperitoneal/intramüsküler salin solüsyonu verildi. Ferulik asit grubuna deney grubuna enjeksiyon yapıldığı günlerde intraperitoneal/intramüsküler salin solüsyonu verildi. Dört hafta boyunca oral yolla Ferulik asit (50 mg/kg/gün) uygulandı. AVN ve AVN+Ferulik asit gruplarına FBON modeli oluşturmak için Lipopolisakkarit (LPS) (20 µg/kg) ve Metilprednizolon (MPS) (40 mg/kg) enjeksiyonları yapıldı. AVN+Ferulik asit grubunda FBON indüksiyonu birlikte her gün ve günde bir kez oral yolla Ferulik asit (50 mg/kg/gün) uygulandı. Tüm sıçanlar dördüncü haftanın sonunda genel anestezi altında intrakardiyak kan alma ve sakrifikasyon işlemine tabi tutuldu. Sakrifikasyon sonrası sağ femurları cerrahi olarak çıkartıldı. Alınan serumlar ELISA yöntemi ve biyokimyasal inceleme için saklandı. Femur başı dokuları histopatolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal açıdan incelendi.

Bulgular: Histopatolojik bulgulara AVN+Ferulik asit grubunda, AVN grubuna kıyasla femur başında osteonekrozun ve anomalilerin azaldığı, hayvanların yarından fazlasında kemik trabeküllerinin kontrol grubuna benzer şekilde bütün ve düzenli yapısını koruduğu, boşlukların ve aralıkların yok olduğu görüldü. Trabeküllerde osteosit sayısının normale yaklaştığı görüldü. Piknotik hücrelerin ve boş lakünlerin sayısının azaldığı görüldü. İmmünohistokimyasal bulgulara ise AVN grubunda Bcl-2 seviyesi anlamlı olarak azalarak $28,34 \pm 11,00$ 'e düştüğü tespit edildi ($P=0,0002$). Ferulik asit uygulaması yapılan AVN+İlaç grubunda ise Bcl-2 seviyesi $32,77 \pm 12,07$ olarak ölçülerek, AVN grubuna göre hafif bir artış izlendi. Ferulik asit uygulanan AVN+İlaç grubunda PECAM/CD31 ekspresyonu $3,14 \pm 1,46$ seviyesine ulaşarak AVN grubuna kıyasla bir miktar artış gösterdi. Ancak, bu düzey kontrol ve ilaç grubuna göre hala daha düşük bulundu. FBON modelinde femur başı dokusunda endotel hücrelerinin primer regülatörü

olan anjiyogenik faktör VEGF immünreaktiviteleri incelendi. AVN grubunda VEGF seviyesi anlamlı olarak azalarak $138,34 \pm 10,07$ olarak tespit dildi. AVN+İlaç grubunda ise VEGF ekspresyonu $150,8 \pm 14,61$ seviyesine ulaşarak AVN grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdi.

Sonuç: Tüm verilerimiz, sıçanlarda oluşturulan FBON modelinde lipopolisakkarit ve steroid kaynaklı oluşan DNA oksidatif ve lipit peroksidatif hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkan kemik, vasküler ve hematopoetik hücre hasarlarının iyileştirilmesinde ve hasarın azaltılmasında Ferulik Asit uygulanmasıyla başarılı bir sonuç alınabileceği gösterilmiştir. Bu antioksidan, endotel koruyucu ve apoptoz önleyici etki, erken evre osteonekroz için umut verici bir tedavi olabilir.

Anahtar Kelime: Ferulik asit, femur başı osteonekroz, metilprednizolon, lipopolisakkarit

ABSTRACT

Aim: This thesis aims to evaluate the antioxidant, anti-apoptotic, osteoblastic, osteoprotective, and hypolipidemic effects of Ferulic Acid in a steroid-induced femoral head osteonecrosis (FHON) model in rats through biochemical, histopathological, histomorphometric, and immunohistochemical analyses.

Materials and Methods: A total of 32 young-adult female Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups. The control group received intraperitoneal/intramuscular saline solution on the same days as the experimental groups received injections. The Ferulic Acid group also received saline solution, along with oral administration of Ferulic Acid (50 mg/kg/day) for four weeks. To induce the FHON model, Lipopolysaccharide (LPS) (20 µg/kg) and Methylprednisolone (MPS) (40 mg/kg) injections were administered to the AVN and AVN+Ferulic Acid groups. In the AVN+Ferulic Acid group, daily oral Ferulic Acid (50 mg/kg/day) was administered alongside FHON induction. At the end of the fourth week, all rats underwent intracardiac blood sampling and euthanasia under general anesthesia. Following euthanasia, the right femurs were surgically removed. The collected serum samples were stored for biochemical analysis using the ELISA method, and femoral head tissues were examined histopathologically, histomorphometrically, and immunohistochemically.

Results: Histopathological analysis revealed that in the AVN+Ferulic Acid group, femoral head osteonecrosis and abnormalities were reduced compared to the AVN group. More than half of the animals maintained intact and well-organized bone trabeculae similar to the control group, with fewer gaps and irregularities. The number of osteocytes approached normal levels, and the presence of pyknotic cells and empty lacunae was reduced.

In immunohistochemical analyses, the Bcl-2 level in the AVN group significantly decreased to 28.34 ± 11.00 ($P=0.0002$). In the AVN+Ferulic Acid group, Bcl-2 levels increased slightly to 32.77 ± 12.07 compared to the AVN group. Moreover, PECAM/CD31 expression in the AVN+Ferulic Acid group reached 3.14 ± 1.46 , showing a slight increase compared to the AVN group but remaining lower than in the control and Ferulic Acid groups.

In the FHON model, the immunoreactivity of VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), a key regulator of endothelial cells in femoral head tissue, was examined. The VEGF level significantly decreased in the AVN group to 138.34 ± 10.07 . However, in the AVN+Ferulic Acid group, VEGF expression increased to 150.8 ± 14.61 , showing a significant rise compared to the AVN group.

Conclusion: The obtained data suggest that Ferulic Acid treatment may effectively reduce bone, vascular, and hematopoietic cell damage caused by oxidative DNA damage and lipid peroxidation induced by lipopolysaccharides and steroids. The antioxidant, endothelial-protective, and anti-apoptotic effects of Ferulic Acid indicate that it may serve as a promising treatment for early-stage osteonecrosis.

Keywords: Ferulic acid, Osteonecrosis of Femoral Head, Methylprednisolone, Lipopolysaccharide

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aynı zamanda avasküler nekroz veya aseptik nekroz olarak da tanımlanan osteonekroz (ON), kemiğe kan akışının travmatik veya travmatik olmayan bir kaynaktan bozulmasını izleyen kemik hücresi ölümü olarak tanımlanır. (1) Osteonekroza neden olan birçok etiyolojik faktörü vardır. Travma, kortikosteroid kullanımı, alkol kullanımı, sigara içme, hemoglobinopatiler (örneğin, orak hücre anemisi), pıhtılaşma bozuklukları, miyeloproliferatif bozukluklar (Gaucher hastalığı, lösemi), hipobarik dekompresyon, hiperlipidemiler, kronik böbrek hastalığı, otoimmün hastalıklar ve HIV enfeksiyonunu sayılabilir. Birçok durumda bir neden belirlenemez ve bu hastalar idiyopatik osteonekroz olarak adlandırılır. Glukokortikoid ilaç (steroidlerin) kullanımı ve fazla alkol tüketimi, atravmatik vakaların %80' inden fazlası ile ilişkilidir. (2) Steroidler, sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi kronik otoimmün hastalıkların uzun süreli tedavisinde, travmatik omurilik hasarı ve beyin hasarı gibi akut tıbbi durumlarda, organ nakli sonrası immün baskılama için, covid pandemisi sırasında yaygın tutulumda immün sistemi baskılamak için yaygın olarak kullanılmıştır. (3) (4) (5) (6)

Erişkinlerde femur başı osteonekrozu (FBON), femur başında çökmenin, kalça eklemine fonksiyon kaybının ve yaşam kalitesinin düşmesine neden olarak zor bir hastalık tablosu oluşturur. (7) İyatrojenik yönleri olabilen steroid kaynaklı FBON, ergenlerde ve orta yaşlı hastalarda sık görülür dolayısıyla tanı ve tedaviyi standardize etmek ve son derece güvenilir önleme yöntemleri geliştirmek gerekir. (7) Hastalıkta erken tanı, esasen genç ve orta yaşlı nüfusu etkilediği için kritiktir ve hastalığın femur başının çökmesine doğru ilerlemesi, eğer tedavi edilmezse hastaların %80' inde görülür. Kemik hücrelerindeki nekroz sürecini engellemek mümkün olmadığından hastalığın tedavisi oldukça zor ve sorunludur. Hastalığın doğal gidişinde herhangi bir müdahalede bulunmazsa olguların büyük çoğunluğunda progresyon, bunun sonucunda femur başının çökmesi ve eklem artrozu görülür. FBON'da erkek kadın oranı 5/4 olarak bildirilmiştir. Hastalığın pik yaptığı yaş aralığı erkeklerde 40' lı, kadınlarda 30' lu yaşlar olarak bulunmuştur. (8) Hastalığa erken tanı konulması ve tedavi edilmesi morbiditeyi azaltmak için çok önemlidir. Her yıl Amerika Birleşik Devletleri' nde yaklaşık 20.000 yeni osteonekroz vakası teşhis

edilmektedir ve bu vakaların yaklaşık %12' si total kalça artroplastisi ile sonuçlanmaktadır.

(9)

Steroidle bağı osteonekrozun kemikteki kan akımının bozulmasına (iskemi) bağı geliştiğinin ileri sürülmesine karşın, kortikosteroid kullanımının osteonekrozun gelişimindeki ayrıntılı mekanizması belirsizdir. Steroidle bağı osteonekrozun patofizyolojisi tam olarak çözülememiştir. Steroidin femur başı osteonekrozuna yol açtığı varsayılan yollar şunlardır; femur başı beslenmesinin bozulmasına sebep olması, femur başında bulunan osteoblast apoptozisini arttırması, lipid metabolizmasını bozup hücre ölümüne sebep olması, endotelial hücrelere zarar verip koagülasyon yolağını başlatması, oksidatif stres oluşturup hücre ölümüne sebep olmasıdır. (10) Ekstravasküler lipid birikimi ve daha sonra artmış intraosseöz basınç da steroid kaynaklı ON' un gelişmesinde önemli bir neden olarak kabul edildi. (11)

Ferulik asit (FA, 3-methoxy, 4-hydroxy cinnamic acid), sebze ve meyvelerde sıklıkla fenilalanin ve tirozin metabolizmasından kaynaklan, fenolik bileşiktir. (12) Kimyasal yapısı zerdaçalın sarı rengini veren ve önemli bir antioksidan olan kurkumine benzemektedir. Özellikle tohumlarda ve yapraklarda hem serbest formunda hem de lignin ve diğer biyopolimerlere bağı olarak bulunur. (13) Mısır, buğday, pirinç, çavdar, yulaf gibi tahılların kepeklerinde, kavrulmuş kahvede, domates ve turunçgillerde bulunmaktadır. Ferulik asit, fenoksiradikal yapısına bağı olarak yüksek antioksidan potansiyele sahiptir. Etkili bir serbest radikal temizleyicidir ve bazı ülkelerde lipit peroksidasyonunu engellemek amacıyla gıda katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. (14) Ferulik asitin insanlarda, güçlü bir membran antioksidanı olarak etki ettiğ ve cilt kanseri, yaşlanma, yorgunluk, soğuk algınlığı, grip ve influenzaya karşı koruyucu etkili olduğı bilinmektedir. (15) Ferulik asit hidroksil radikali, hipokloröz asit ve peroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerini süpürücü etkiye sahiptir; serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı ispatlanmıştır. (16) FA'nın sıçanların pankreatik hücrelerinde insülin salınımını arttırdığı bildirilmiştir. (17) Antioksidan özellikleri ratlarda kimyasallar aracılığıyla oluşturulan karsinogenezde ve farelerde deri tümörü oluşumunda da görülmüştür. (18) Çalışmalar, ferulik asidin aynı zamanda fotoprotektif, hepatoprotektif, antiaterojenik, trombozdan

koruyucu, lipid sentezini azaltıcı, endotel koruyucu ve antimutajenik özellikleri de olduğunu göstermiştir. (19) (20) (21) (22) (23) (24)

Bu tez çalışmasında; genç erişkin erkek cins sıçanlarda steroid ile indüklenmiş femur başı osteonekroz modelinde, ferulik asit (FA) tedavisinin antioksidan, antiosteoklastik, osteoblastik ve hipolipidemik etkilerinden faydalanarak etkinliğinin değerlendirilmesi, FA tedavisinden fayda görüp görmediğini tespit etmek amaçlamıştır. Hastalığın erken yaşta başlaması, hastaların genç yaşlarda kalça artroplasti ameliyatına ve bunun getirdiği istenmeyen sonuçlarla karşılaşmasına neden olacaktır. Uygun zamanda ferulik asit (FA) tedavisi gibi invaziv olmayan bir tedavi yöntemi hayat kalitesini arttırmak için faydalı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KALÇA EKLEMİ EMBRİYOLOJİSİ

Kalça eklemi yaklaşık olarak gebeliğin yedinci haftasında, primitif ekstremité tomurcuğunun mezoderm içerisinde bir yarık oluşturarak gelişmeye başlar. Gebeliğin on birinci haftasına kadar kıkırdaktan oluşmuş femoral baş ve asetabulum farklılaşırlar. Asetabulumun konkav şekli, asetabulum içindeki konveks şekilli femur başı sayesinde oluşur. Eğer kalça eklemi normal embriyogenez sırasında bir başarısızlık yaşarsa anormalliklerle sonuçlanır. Normal kalça gelişimi; asetabulum, femur başı, kalçanın eklem içi yapıları ve kalça eklemine kan temini oluşturan bir dizi değişkene bağlı olarak gelişir. Gelişim kraniokaudal yönde olur. Bu evrede etkili olan vasküler problemler, sınırlandırıcı patoloji ve teratojenler, sağlıklı fonksiyonel simetrik alt ekstremité gelişimini engelleme olasılığına sahiptir.

Doğumdan sonra kalça eklemi olgunlaşmamıştır ve femur başı ile asetabulum arasındaki yakın ilişki, uygun postnatal gelişim için de çok önemlidir. Doğumda neonatal asetabulum tamamen kıkırdaktan oluşur ve labrum olarak isimlendirilen ince bir fibrokartilaj kenarı bulunur. Asetabulumun hiyalin kıkırdağı, pelvisin üç ana kemik yapısı olan ilium, ischium ve pubisi bölen ve birbirine bağlayan triradiat kıkırdakla devamlı bir yapı oluşturur. Pelvis kemiği ile temas eden yarım küre şeklindeki asetabüler kıkırdak yüzey epifizi oluşturur. Büyüme plakası olarak önemli bir rol oynar. Bu fizisin büyümesi,

asetabulum ve kalçanın gelişimi için esastır ve bu bölgeye herhangi bir zarar, büyüme bozukluğuna neden olabilir. (25) Asetabulum şeklinin büyük bir kısmı, yaklaşık 8 yaşına kadar olan dönemde belirlenir.

Proksimal femur, karmaşık ve sıklıkla yanlış anlaşılan bir büyüme paternine sahiptir. Yenidoğanda üst femurun tamamı femur başı ve büyük ve küçük trokanterler şeklinde bir kıkırdak yapıdadır. Femurun proksimal segmentinin gelişimi, kıkırdaklı üst femur ve femur shaftının birleşme yerindeki bir apofizel ve epifizel büyümenin bir kombinasyonu ile meydana gelir. Normal femurda femur başı ortasında doğum sonrası yaşamın dördüncü ve yedinci ayları arasında bir kemikleşme merkezi belirir. Bu merkez geç ergenlik döneminde fiziksel olarak kapanana kadar büyür; bu zaman boyunca, yetişkin femur başı haline gelir ve ince bir eklem kıkırdak tabakası ile kaplanır. Bu merkez geç ergenlik döneminde fiziksel olarak kapanana kadar büyür; bu zaman boyunca, yetişkin femur başı haline gelir ve ince bir eklem kıkırdak tabakası ile kaplanır. (26) (27)

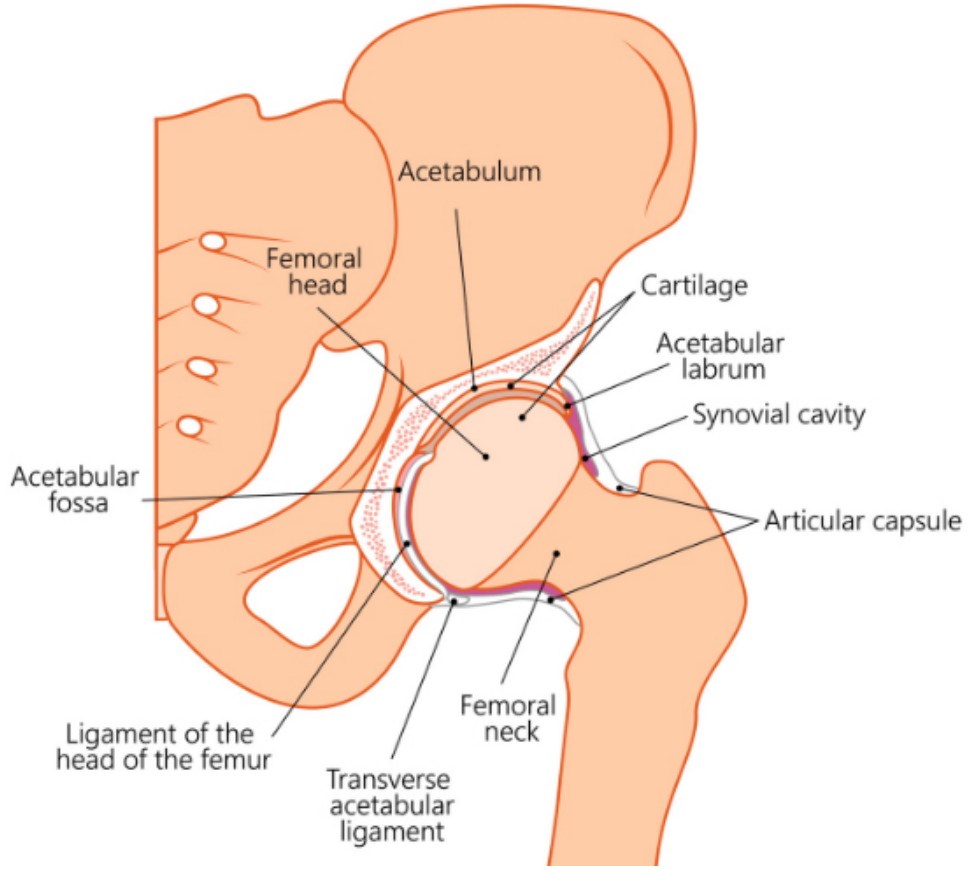
2.2. KALÇA EKLEMİ ANATOMİSİ

Kemik, kas, ligament ve nörovasküler yapılar arasındaki anatomik ilişkilerin bilinmesi kalça eklemi patolojisinin etkin cerrahi ve cerrahi dışı tedavileri için büyük öneme sahiptir. Bu bölümde kalça ekleminin kemik, kapsül, ligament, kas gibi dokuları ve nörovasküler yapıların anatomilerini, klinik olarak en fazla önemi olan yapılara ağırlık verilerek gözden geçirilecektir.

Kalça eklemi; femur başı ve asetabulum birleşimi ile oluşan top-soket tipi bir sinovyal eklemdir. (Şekil 1) Bu nedenle, omuz eklemine benzer şekilde üç eksenli hareket için potansiyele sahiptir. Kalça ekleminin kapsülü, eklemin stabilitesini sağlamaktadır. Kapsül içindeki bağlar ile bu stabilite güçlendirilir. Labrum ve ligamentum teres gibi eklem içi yapılar da stabiliteye katkıda bulunan anatomik elemanlardır. Kalça ekleminin kas yapısı, kalçanın hem hareketliliğine hem de stabilitesine katkıda bulunur. Kalça eklemine innervasyonda klasik olarak obturator sinir birincil kaynak olarak kabul edilir. Bununla birlikte femoral ve siyatik sinirlerin dalları da duyuşal innervasyonuna katkıda bulunur. Kalça eklemi için primer kan dolaşımı kaynağı, femoral ve gluteal damarlardan kaynaklanan medial femoral sirkumfleks arterdir.

Asetabulum yapısı üç leğen kemiği, ilium, ischium ve pubis birleşimi ile oluşur. Kemikli bir soket olarak tanımlanmakla birlikte, asetabulum, alt kısmında bir boşluk bulunan, eksik yapıda bir küredir. Bu boşluk, eklemlenmenin bütünlüğünü korumaya yardımcı olan transvers asetabular ligament ile kaplıdır. Asetabular labrum, eklem kapsülü, kapsül ligamentleri ve kalça kasları bu eklem bütünlüğünün korunmasında rol oynamaktadır. Kalça eklemi hareket aralığındaki bireysel değişkenlik, bu anatomik bileşenlerin herhangi birindeki farklılıkların sonucu olabilir. Kalça eklem bilye ve soket mimarisi sagittal, koronal ve horizontal / transverse düzlemlerde (triplanar) üçlü harekete izin verir. Sonuçta ortaya çıkan kemik eklem hareketler sagittal düzlemde fleksiyon ve ekstansiyon, koronal düzlemde abduksiyon ve adduksiyon ve horizontal / transverse düzlemde iç ve dış rotasyondur. Fleksiyon ve ekstansiyon sırasında femur başının hafif bir posterior veya anterior kayması ile asetabulum üzerinde femur başının dönme hareketi vardır. Abduksiyon sırasında femur başı asetabulumda aşağı doğru hareket eder. Son olarak, asetabulum üzerindeki femur başının öne veya arkaya hareketi, sırasıyla dış ve iç rotasyon sırasında oluşur. Ortalama aktif hareket aralığı 90 derecelik diz fleksiyonu ile, oturma pozisyonunda ölçüldüğünde; yaklaşık 120 derece fleksiyon ve 20 derece ekstansiyon; 40 derece abduksiyon ve yatayda 30 derecelik iç ve dış rotasyon aralığıdır. (28) Yaş değişkeni olarak incelendiğinde, en genç ve en yaşlı bireyler arasındaki hareket aralığındaki değişiklikler küçüktür ve yaşlı bireylerde, gençlere kıyasla hareket aralığında kalça ekstansiyonu hariç %20' lik bir düşüş görülür. Kalçanın en yüksek stabilitesini sağlayan pozisyonu, ekstansiyonda iken bir miktar iç rotasyon ve abduksiyon pozisyonudur. Kalça bu haldeyken eklem yüzeyleri maksimum derecede, tamamen olmasa

da uyumludur.



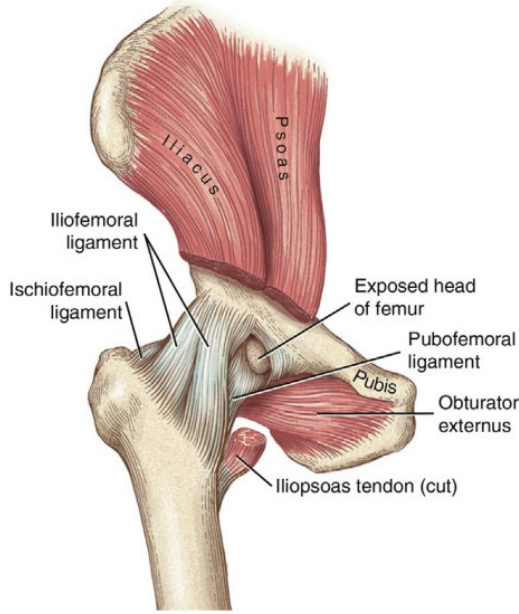
Şekil 1 Kalça eklemi kesitsel anatomi (<https://houstonssportsortho.com/>)

2.2.1 Kemiksel, Dizilimsel, Kapsüler ve Ligamentöz Anatomi

Kalça eklemi (articulatio coxae); femur başı (caput femoris) ile os coxae'nin Lateralindeki asetabulum olarak isimlendirilen eklem çukurluğu arasında oluşur. Os coxae, os ilium, os ischii ve os pubis isimli üç ayrı kemiğin birleşmesi ile oluşur. Corpus ve ala ossis ilii olarak adlandırılan iki parçadan oluşan os ilium, asetabulumun üst 2/5' ini oluşturur ve os coxaenin en büyük parçasıdır. Os ischii, corpus ve ramus ossis ischii isimli iki parçadan oluşur. Os coxaenin arka ve alt kısmında bulunarak asetabulumun arka 2/5' ini oluşturur. Os pubis os coxaenin en küçük parçasıdır. Corpus, ramus superior ve inferior ossis pubis olmak üzere üç bölümden oluşan os pubis, asetabulumun ön 1/5' ini oluşturur. Asetabulumun yapısına her üç kemiğin de corpus kısımları katılır. Os coxaenin lateralinde

bulunan eklem çukurluğuna asetabulum denir. Asetabulumun periferik kısmı hiyalin kıkırdak ile kaplı facies lunata olarak adlandırılan femur başı ile eklemleşen yarım ay şekline kıkırdak yüzeydir. Asetabulumda eklem kıkırdağı içermeyen ligamentum capitis femoris ve pulvinarı içinde bulunduran bölüme fossa asetabuli denir. Asetabulumun foramen obturatoruma bakan tarafındaki yarığa incisura asetabuli denir. (29) Proksimal femur ve asetabulumun morfolojisinde önemli değişkenlik vardır. Femoral ve asetabular dizilimin spesifik yönleri, önemli klinik uygunluğa ve eklem biyomekaniğine etki eder. Femur üst ucunda, caput femoris, collum femoris trokanter majör ve trokanter minör bulunur. Femur başının çok büyük bir kısmı eklem kıkırdağı ile kaplıdır. Femur boynu ile femur cismi arasındaki açı koronal planda $120-130^{\circ}$ olup buna kollodiyafizer açı denmektedir. Femur boynu transvers planda ise öne doğru $12-14^{\circ}$ açılanma gösterir, anteversiyon denir. Collodiyafizer açı; femoral offsetin boyutunu belirler, yani femur başının rotasyon merkezinden femurun uzun eksenini ikiye bölen bir çizgiye olan mesafeyi belirler. Femurun collodiyafizer açısı ve sonuçta ortaya çıkan femoral offset kalça abduktörlerinin mekanik fonksiyonunu etkiler. Collodiyafizer açı azaldığında (coxa vara); abduktörlerin moment kolunu arttırır ve asetabulumdaki femur başı örtünmesinin artması nedeniyle eklem stabilitesinin artmasını sağlar. Collodiyafizer açı arttığında; daha kısa, daha valgus femoral boyun, offseti azaltır ve daha büyük abduktör kuvvetleri ve kalça ekleminde potansiyel olarak artan temas kuvvetleri gerektiren kalça abduktörlerinin moment kolunu azaltır. Anteversiyon, femoral torsiyon açısından bir artıştır. Femoral torsiyon açısından azalma retroversiyon olarak bilinir. Aşırı anteversiyon ve retroversiyon varlığında eklem uyuşmazlığını gidermek için kalça ekleminde telafi edici rotasyon (sırasıyla medial ve lateral) gerektirir. Aşırı anteversiyon, gluteus mediusun momentini de değiştirebilir ve böylece verimini düşürür. Tipik olarak, artmış femoral anteversiyon durumunda, trokanter major posteriora doğru yer değiştirir ve böylece gluteus mediusun kuvvet kolunu ve ardından gücünü azaltır. (30) Kalça temas kuvvetlerinin artmış femoral anteversiyon ile arttığı gösterilmiştir. Femur başının merkezini ve asetabulumun yan

kenarını bağlayan çizginin oluşturduğu açı, merkezi kenar açısı olarak bilinen vertikal

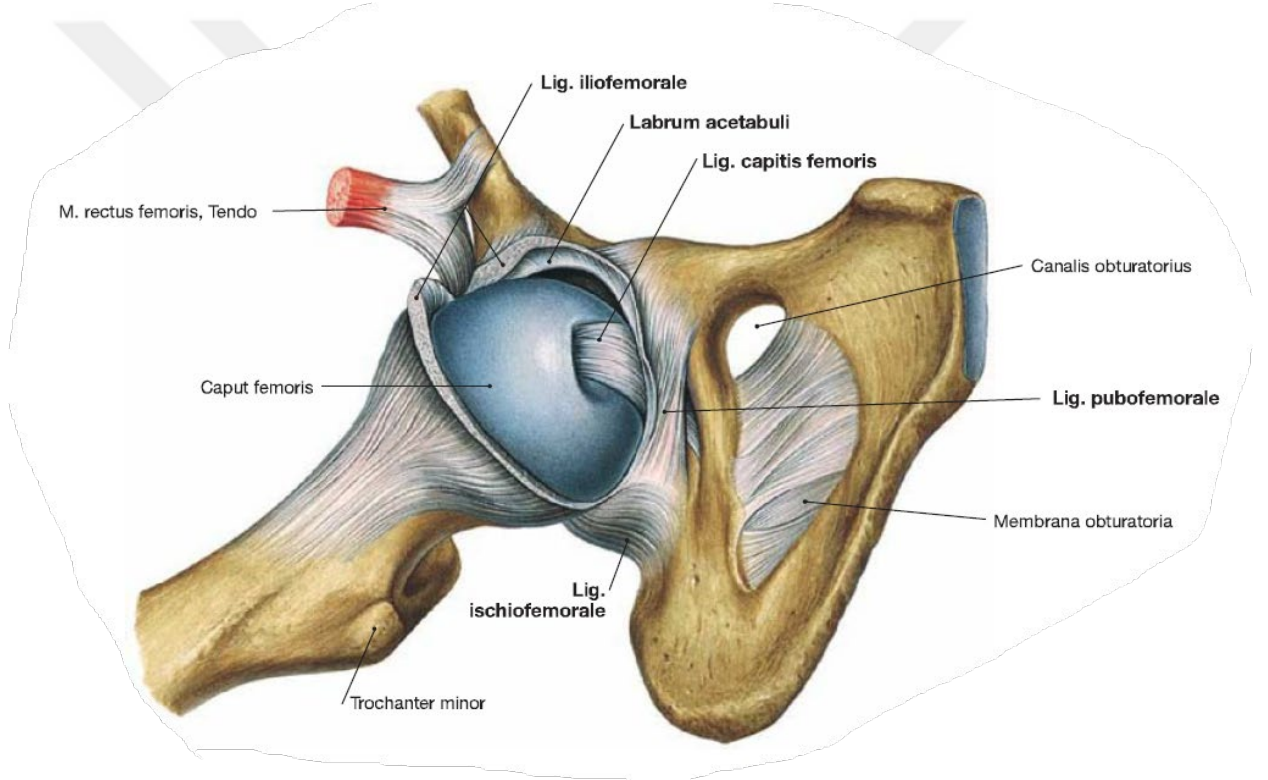


Şekil 2 Kalça eklemi ligamentleri
Neumann, D., 2010b.

bir açı oluşturur, 25 dereceden daha büyük açılar normal kabul edilir. (28) Kalça eklemi articulatio spherioidea grubu, multiaksiyel, sinovyal bir eklemdir. Kalça eklemine eklem kapsülü, üst ekstremitelerde yer alan diğer eklemlerin aksine eklemi çok sıkı şekilde saran bir nevi kalın bağlar topluluğudur. Kapsülün kalınlığının değiştiği gözlemlenmiştir, ancak kapsüler bağlar ile kalıcı bir şekilde takviye güç oluşturur. Anteriorda kapsüler ligamanların en güçlü olanı *iliofemoral ligament*dir. (Şekil 2) Güçlü yapısı sayesinde 300-500 kilogramlık kuvvetlere dayanabilecek yapıdadır. Spina iliaca anterior inferiorun alt sınırından başlayıp intertrokanterik çizgiye kadar ters ‘Y’ şeklinde bir bağıdır. Kalçanın ileri derece ekstansiyon ve addüksiyon yapmasını engeller. Tek ayak üzerinde durmak için gerekli olan stabiliteyi sağlar. (31) Bu ligamanın rektus femoris kasının tendinöz orijini ile güçlendirildiği ileri sürülmektedir. Kalça eklemine önündeki bu ligamanın konumu nedeniyle, dik duruşun korunmasında, vücudun durma sırasındaki femur üzerindeki kuvvetinin dengelenmesi için özel bir rolü olduğu öne sürülmüştür. Pubofemoral ligaman OSB pubisin ramus superiorundan başlayıp intertrokanterik çizginin iç ve alt kısmına uzanır. Kalça eklemine ileri derecede ekstansiyon abduksiyon hareketi yapmasını engeller. İchiofemoral ligament, asetabulumun posterior alt sınırından başlayarak öne, dışa ve

yukarı doğru femurun boyun kısmını sararak ilerler, kapsülün laterale ve trokanter majore yapışır. Kalça eklemine iç rotasyon hareketini sınırlandırır. Zona orbicularis, kalça eklemine halka şeklindeki bir bağ oluşturan çevresel bir fiber bantıdır. (32) Labrum ve kapsül, ilişkili ligamentleri ve zona orbicularis ile distraksiyon sırasında kalça eklemine stabilize sağlar. Eklem kapsülünün stabilizatör olarak rolü, total kalça artroplastisinde özellikle önemli bir husustur. Çünkü araştırmalarda kapsülün yokluğu, artroplasti ameliyatından sonra primer olmasa da dislokasyonun bir nedeni olabilir. (33) Ligamentum teres, bir zamanlar kalça eklemine stabilizasyonunda veya biyomekanikte hiçbir rolü olmayan artakalan bir yapı olarak kabul edildilirdi. Ancak, bu bağın embriyonik bir kalıntıdan daha fazlası olduğu ve kalça eklemi mekaniğine ve patolojisine katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. (34) Insertio sahası, femur başındaki eklem kıkırdağından yoksun olan yuvarlak bir alan olan femur fovea kapitisine yerleşmiştir. (Şekil 3) Ligamentum teres iyi düzenlenmiş tip I, III ve IV kollajen lif demetlerinden oluşur. Kendi sinovyası vardır. Obturator arterin arka bölümünün anterior bir dalı ligamentum teres boyunca ilerleyerek vaskülarize eder ve bu damarın variabl dalları femur başı içine ulaşır. Bazı kişilerde bu dallar femur başı beslenmesi için önem arz eder. Ayrıca kotiloid ligament olarak da adlandırılan asetabular labrum hem kemik asetabulum çevresi boyunca hem de eklem yüzeyine asetabulumu kaplayan eklem kıkırdaklarına bağlantılar yoluyla tutunmuş fibrokartilajen yapıda bir oluşumdur. Ayrıca labrumun anterior ve posterior transvers asetabular ligamanlara yapışıklıkları vardır ve bu yapılarla birlikte kalça eklemine soketini tamamlar. Labrum büyük oranda tip I kollajenden oluşur. Labrumun anterior lifleri asetabulumun kemikli kenarına paralel olarak bağlanarak onları kesme kuvvetlerine duyarlı hale getirirken arka liflerin kemikli kenara dik olarak bağlandıkları ve kesme gerilmelerine karşı koyma kabiliyetlerini arttırdıkları bilinmektedir. (35) Labrum eklem kapsülünden kapsüler recess ile ayrılır. Labrum yüzüne bakıldığında at nalı şeklinde görünür; bununla birlikte, enine kesitte, labrum şeklinde üçgen şeklinde görünür. Ayrıca kotiloid ligament olarak da adlandırılan asetabular labrum hem kemik asetabulum çevresi boyunca hem de eklem yüzeyine asetabulumu kaplayan eklem kıkırdaklarına bağlantılar yoluyla tutunmuş fibrokartilajen yapıda bir oluşumdur. Ayrıca labrumun anterior ve posterior transvers asetabular ligamanlara yapışıklıkları vardır ve bu yapılarla birlikte kalça eklemine soketini tamamlar. Labrum büyük oranda tip I kollajenden oluşur. Labrumun

anterior lifleri asetabulumun kemikli kenarına paralel olarak bağlanarak onları kesme kuvvetlerine duyarlı hale getirirken arka liflerin kemikli kenara dik olarak bağlandıkları ve kesme gerilmelerine karşı koyma kabiliyetlerini arttırdıkları bilinmektedir. Labrum eklem kapsülünden kapsüler recess ile ayrılır. Labrum yüzüne bakıldığında at nalı şeklinde görünür; bununla birlikte, enine kesitte, labrum şeklinde üçgen şeklinde görünür.



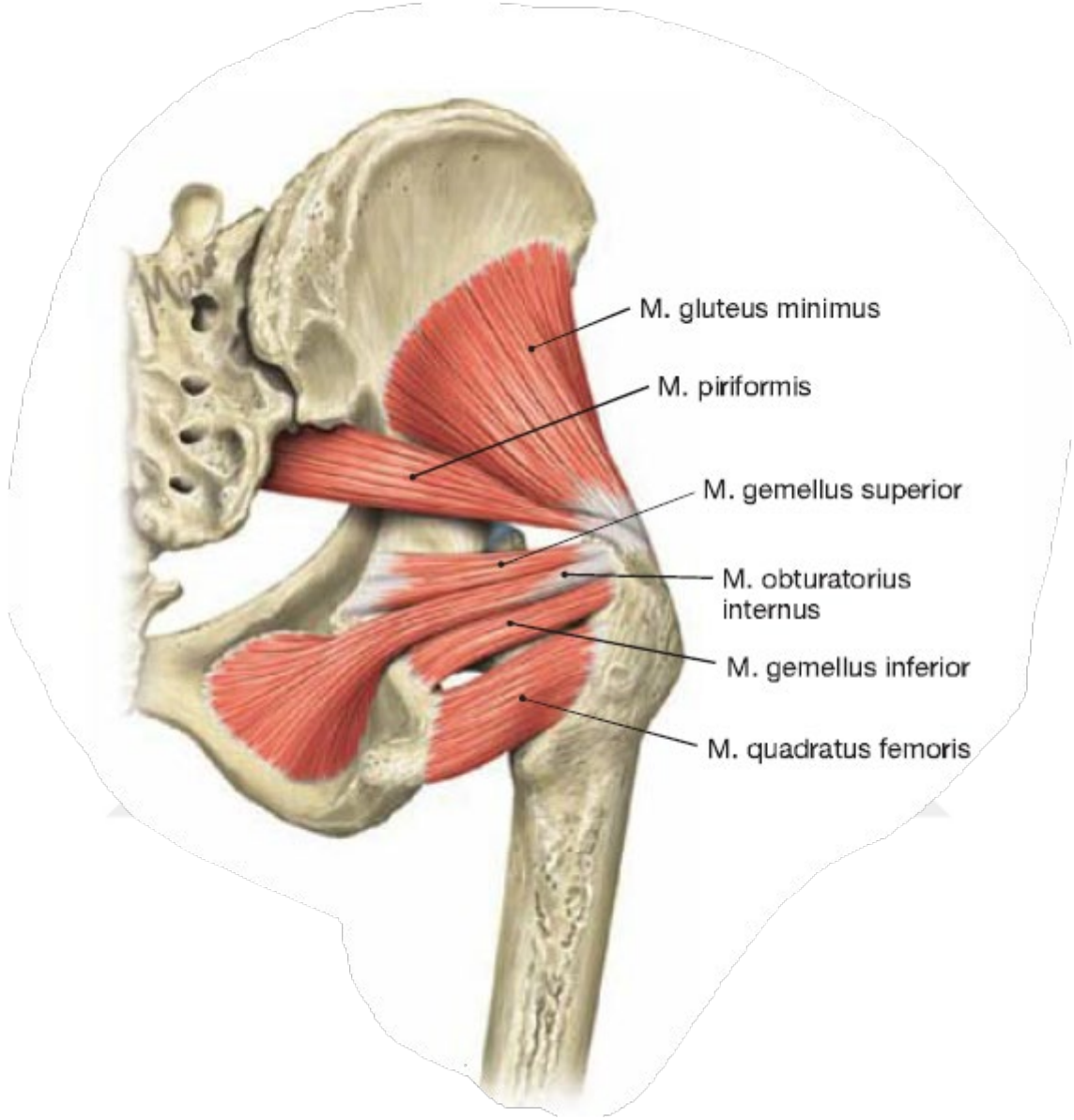
Şekil 3 Kalça eklem anatomisi, Lig. Capitis femoris (Sobotta 15th ed.)

2.2.2 Kalça Eklemine Muskuler Anatomisi

Kalça eklemi gluteal bölgedeki kasları ve uyluğun ön, medial ve arka kompartmanlarının kasları ile hareket eder. Bu bölümde klinik öneme sahip olanlara özellikle dikkat ederek bu bölgesel kas gruplarının bağlanma yerlerini ve etkilerini gözden geçirecektir.

2.2.2.1 Gluteal bölge kasları: Gluteal bölgede kaslar klasik olarak yüzeysel ve derin gruplara ayrılır. Yüzeysel grup gluteus maximus, gluteus medius, gluteus minimus ve

tensör fasya latadır. Bu grupta gluteus maksimus en yüzeysel kastır. Gluteus medius fasyası, ilium, posterior superior iliyak spine'in alt sınırı arasındaki torakolomber fasyadan kaynaklanır. Bu kas için insersiyon bölgesi, femurun trokanter majordeki aponeurotic kökenli iliotibial bant üzerindedir. Kas fasiküllerinin alt üçte biri femurun gluteal tüberositine ulaşır. Bu kas 1. Ve 2. sakral spinal sinirlerin yanındau inferior gluteal sinirden innervasyon alır. Son dönemdeki literatür gluteus maksimus kasının klasik olarak bilinen kalça eklemi ekstansiyonu yanı sıra sakroiliak eklem stabilizasyonu ve gövde ile alt ekstremité arasında yük transferinde yardımcı olduğunu göstermiştir. (36) Gluteus medius kası anterior ve posterior gluteal çizgiler arasındaki iliumdan orijin alır. Gluteal minimus kası klasik olarak anterior ve inferior gluteal çizgiler arasındaki iliumun dış yüzeyinden kaynaklanır. Trokantör majörde sonlanır. Yüzeysel gluteal grubun son kası, tensor fasya lata ise genellikle iliak krestinin anterolateral bölümünden ve SIAS' ın lateral yüzünden orijin alır distalde fasya lataya bağlanır. Özellikle tensör kasının tendonu hemen kas karnının altındaki iliotibial bant yapısına katılır veya bu liflerin kendileri aşağıya doğru devam ederek Gerdy tüberkülüne yapışır. Gluteus medius, minimus ve tensor fasya lataya inervasyonu superior gluteal sinir sağlar. Gluteus medius, minimus ve tensor fasya lata uyluğun abduktörleri olarak birincil bir işleve sahiptir. Diğer görevleri yürüme sırasında kapalı zincirdeki görevleridir. Bunlar pelvisi stabilize eder ve kontralateral ekstremité uzuv ilerlemesi için salınırken pelvik duruş fazında kalçanın düşmesini önlerler. Kalça fleksiyonu pozisyonunda iken gluteus medius ve minimus da uyluğun iç rotatörleri olarak işlev görür. Klasik olarak diğer gluteal kaslara göre daha az vurgulanırken. Gluteus minimusun kapsülü sıkılaştırarak ve femur başı üzerine baskı uygulayarak femur başını asetabulumdaki stabilize etmek gibi fonksiyonu olabileceği öne sürülmektedir. Derin gluteal kas grubu, altı tane dış rotatörden oluşur: piriformis, üst ve alt gemellus kasları, obturator externus ve internus kasları ve quadratus femoris kası. (37) (Şekil 4)



Şekil 4 Kalça derin gluteal kasları (Sobotta 15th ed.)

Piriformis kası önemli bir cerrahi landmarktır. Orijini, ikinciden dördüncüye doğru sakral omurların ön yüzeyinden başlar trokanter majöre uzanır. Piriformis kasının anatomisinde en sık görülen varyantı siyatik sinir tarafından kas karnının superior ve inferior kısımlara bölünmesidir. (38) Piriformis kasının potansiyel olarak sadece kalçanın dış rotasyonunda değil, kalça eklemi fleksiyon yaparken femur başının posterior translasyonunu da kısıtlamada rol oynadığı düşünülmektedir. Bu fonksiyonu kalça artroplastisi sonrası stabilite açısından önemlidir.

2.2.2.2 Uyluğun ön kompartman kasları: Proksimalde, uyluğun ön kompartmanı sartorius, kuadriseps kasının rektus femoris kısmı, iliopsoas ve pektinustan oluşur. Birlikte bu kaslar kalça eklemine farklı derecelerde fleksiyonuna katkıda bulunur ve genel olarak femoral sinirinden aldıkları dallar yoluyla primer olarak innerve edilirler. İstisna olarak iliopsoas kasının psoas majör kısmı lumbal pleksusun ilk iki (L1-L2) dalından, pektineus kası ise aksesuar obturator sinir tarafından innerve edilir.

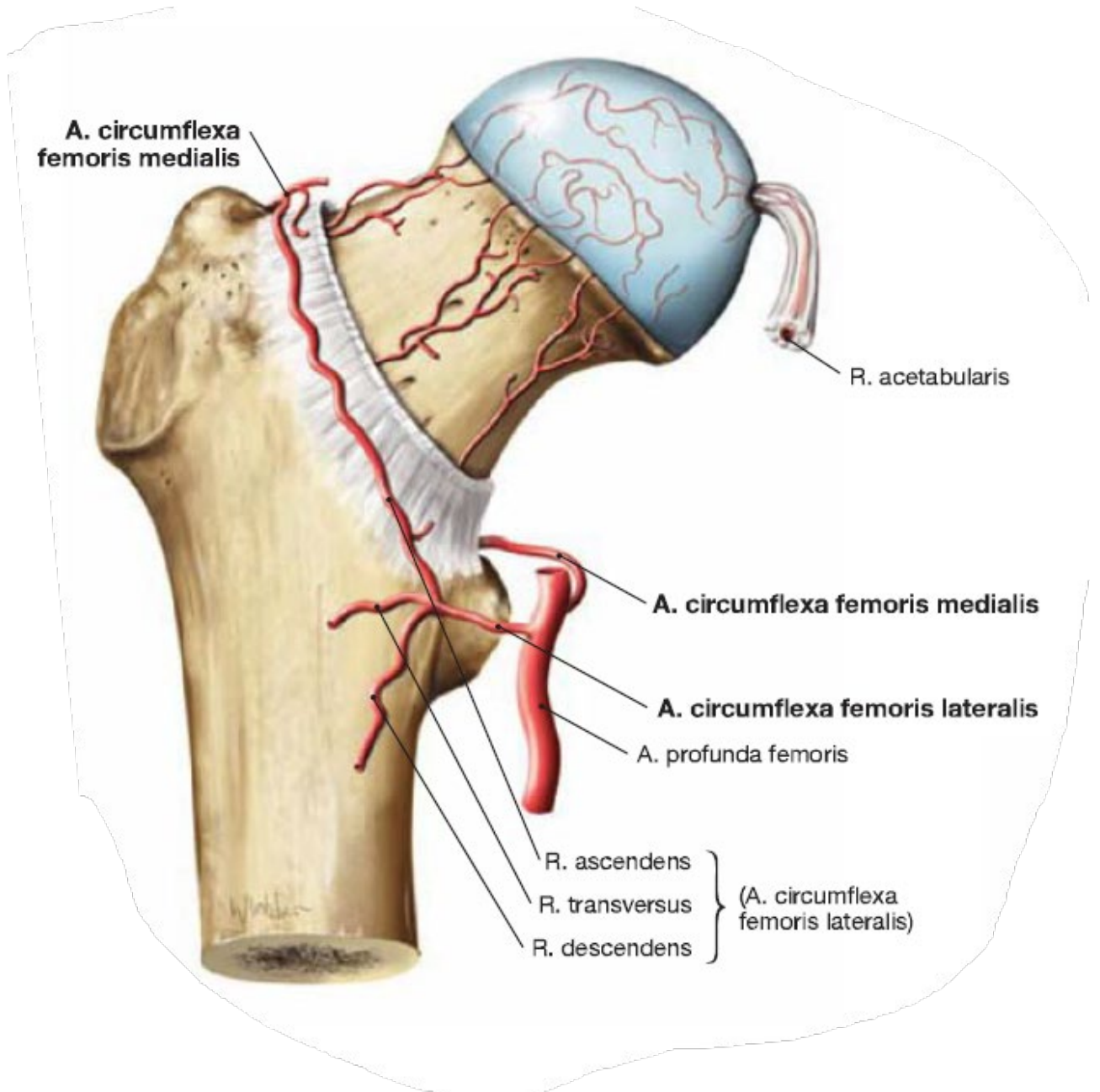
Kalça fleksiyonuna katkıda bulunan kaslardan iliopsoas kalça eklemineki uyluğun en güçlü fleksörüdür. Psoas major ve iliacus, karın ve pelvis içinde iki kas olarak ortaya çıkar. Psoas major 12. torakal spinöz proses - 5. lomber vertebra arasından kaynaklanmaktadır. İliakus kası, ön iliak krestinden ve iliak fossa'nın üst üçte ikisinden kaynaklanır. Psoas ve iliacus kasları inguinal ligament seviyesinde ortak bir tendon oluşturmak için birleşerek distale devam eder. Sartorius kası, spina iliaca anterior superiordan başlar ve pes anserinusta sonlanmak için uyluk boyunca aşağı doğru eğimli olarak uzanır. Kuadriseps kasının rektus femoris kısmı, anterior inferior iliak spine'dan kaynaklanan düz bir tendon ve asetabulum üst kenarının üzerindeki oluktan kaynaklanan diğer bir tendon ile ikili bir kökene sahiptir. Bu kas, patella üst polünde kuadrisepslerin geri kalan üç kasıyla birleşerek quadriceps tendonunu yapar. Sonra patellayı katederek tibial tuberosite indirekt olarak ortak bir tendinöz insersiyoyu gösterir. Pektinus, pubisin pektineal çizgisinden kaynaklanır ve küçük trokanterden linea asperaya uzanan femurun pektineal çizgisine distal olarak insersiyoyu yapar. Pektinus iliopsoas kaslarına medial olarak uzanır ve iki kas femoral üçgeni oluşturarak içindeki femoral damarları sınırlar. Iliopsoas ile birlikte pektinus kalça eklemine birincil hareket olarak uyluğun fleksiyonunu olarak işlev görürler.

2.2.2.3 Uyluğun medial kompartman kasları: Uyluğun medial kompartman kasları, esas olarak kalça eklemine addüktörleridir. Uyluğun fleksörleri ve iç rotatörleri olarak aksesuar hareketleriyle tanımlanır. Bu kas grubu fonksiyonel olarak, adduktor brevis, adduktor longus, adduktor magnus ve gracilis kaslarından oluşur. Bu kaslar, innervasyonlarını, obturator sinirin ön veya arka bölümleri aracılığıyla alır. Adduktor grubunun orijini, pubik kemiktedir. Medial kompartman kasları femur shaftı üzerinde distal bağlantılara sahiptir. Medial tibia'daki pes anserinusa insersiyoyu yapan gracilis ve femurun adduktor tüberkülüne ek bir distal bağlanma olan adduktor magnus istisnaları vardır. Adduktor magnusun iskiyal

tüberosit kaynaklı kısmı, siyatik sinirin tibial dalı yoluyla innervasyonunu aldığı ve uyluğun bir miktar ekstansiyonuna hamstring grubu ile katıldığı için bu kasın “hamstring kısmı” olarak isimlendirilir.

2.2.2.4 Uyluğun posterior kompartman kasları: Uyluğun posterior hamstring kasları; semimembranosus, semitendinosus ve biceps femoris olarak sıralanabilir. Siyatik sinirin tibial dalı ve 1. ve 2. sakral spinal sinirler tarafından inerve edilir. Hamstringler iskial tuberosite ortak bir proksimal bağlantı yaparak yapışır. Bu kaslar uyluğun ekstansiyonuna yardım ederler, ancak çok eklemlili kaslar oldukları için kalçadaki hareketleri dizin mevcut pozisyonundan etkilenir.

2.2.3 Kalça Eklemine Kan Dolaşımı ve Sinirsel İnnervasyonu: Obturator sinir, kalça eklemine innervasyon sağlayan sinir olarak en yaygın şekilde tanımlanır ve kalça eklemi ağrısının kontrolü için sinir bloklarının hedefidir. Kalça eklemine ön ve ön-yan bölgesi femoral sinirden ek bir innervasyon alır. Eklem kapsülünün posterior elemanları, superior gluteal sinirden innervasyon alır ve siyatik sinirden doğrudan dallar ile innervasyonu alır. Nöroseptif ve propriyoseptif lifler, asetabular labrumda bulunur. Ligamentum teres ayrıca, bu yapı içerisinde bulunan en yüksek konsantrasyondaki nöroseptif ve propriyoseptif duyu alır. Kadavra diseksiyonu çalışmalarının sonuçlarına dayanarak, genel olarak kalça eklemine beslenmesinin birincil kaynağının medial femoral sirkumfleks arter (MFSA) olduğu kabul edilir. (39) (Şekil 5)



Şekil 5 Femur başı arteryel anatomisi (Sobotta 15th ed.)

Tipik olarak ön uyluğun femur üçgeninde derin femoral arterin bir dalı olarak ortaya çıkar. MFSA'nın ana gövdesinin trokanter minöre doğru ilerlemesiyle, inen bir dal ve derin bir dal olarak bölündüğü, derin dal; ana gövdenin ve femoral başı besleyen ana damarın devamı olarak tanımlandığı görülmüştür. İnen dallanma, özellikle arka uyluktaki kasları beslemek için ilerler. Derin dalın, obtüratör externusun arka tarafında ve kuadratus femorisin anteriorunda seyrettiği ve ardından kalça kapsülüne girmeden önce iki gemellus kasının ve obturator internusun tendonlarını geçtiği izlenmiştir. Dört ana grup vardır

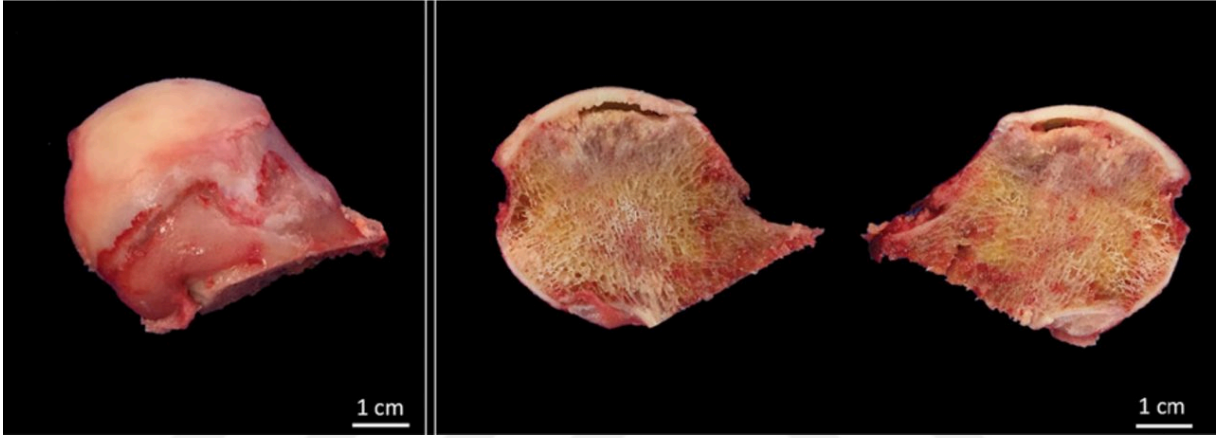
(anterior, medial, lateral ve posterior), lateral grup femoral başın kan kaynağına en büyük katkıyı sağlayan kısımdır. En önemli retinaküler damarlar, medial femoral sirkumfleks arterin derin dalından kaynaklanır. MFSA'nın derin dalının kalça kas yapısı ve femur boynu ile ilişkisi, özellikle kalça kırığı ile arkaya çıkıklarda önemlidir. Bu damarın hasarlanması femoral başın avasküler nekrozu ile sonuçlanmasına neden olabilir. Bu damarın seyri, piriformis tendonun inferior sınırı boyunca olması nedeniyle, inferior gluteal arterin piriformis dalı olarak adlandırılmıştır. (40) Asetabular labrum, obturator arterin yanı sıra, superior ve inferior gluteal arterlerin dalları ile beslenmektedir. Labruma kan temini kapsüler taraftaki küçük damarlardan kaynaklanır. Bu damarlar labrumun cismine derinlemesine nüfuz etmez. Bu labrumun çoğunu avasküler olarak bırakır ve labral yaralanmalarda iyileşme zorluğuna neden olur. Kalça eklemine düzgün çalışması, hareket için elzemdir. Kalça eklemine anatomik bileşenleri, ilişkili kapsüler yapılar, ligamentöz ve kas yapıları yoluyla stabilize ve mobilitayı dengeleyerek işlevine katkıda bulunur. Bu işlev için yeterli kan temini ve innervasyon da bu eklem düzgün çalışmasını sağlar. Kalça eklemi patolojisinin tedavisinde bu yapılar ve aralarındaki anatomik ilişkiler hakkında bilgi sahibi olmak tedavi ve tedavinin başarısı açısından önemlidir.

2.3. FEMUR BAŞI OSTEONEKROZU (AVASKÜLER NEKROZ)

2.3.1 Femur Başı Osteonekrozu Genel Bilgiler

Aynı zamanda avasküler nekroz veya aseptik nekroz olarak da tanımlanan osteonekroz, travmatik veya travmatik olmayan bir kaynaktan kemiğe kan akışının bozulmasını izleyen kemik hücresi ölümü ile seyreden bir süreç olarak tanımlanır. (41) Osteonekroz sıklıkla kalça eklemine (femur başı) gözlenir. Fakat aynı zamanda diğer anatomik bölgelerde de (örneğin omuz, diz ve ayak bileği) görülebilir. Femur başı osteonekrozu (FBON) sıklıkla genç hastalarda görülen ilerleyici bir hastalıktır. Çoğunlukla aktif ve üretken çağındaki bireylerde ortaya çıkan bu hastalık kişinin yaşamını olumsuz etkileyecek morbiditelere yol açarak topluma da ağır bir yük ve iş gücü kaybı getirmektedir. Femur başında osteositlerin ölümü ile başlayan ve ilerleyici nekroz sonrası subkondral kırık sonrası femur başında çökme ve kalça eklemine dejeneratif artrit doğru ilerleyen progresif bir süreçtir. (Şekil 6) FBON, kalça eklemine ilerici bir şekilde tahrip

olmasına yol açar, erken osteoartrit ve erken yaşta total kalça artroplastisi (TKA) gereksinimine yol açar. Kanada, İsveç ve Avustralya verileri, bu tanının tüm primer TKA yaklaşık %2,8 ile %6 'sını oluşturduğunu göstermiştir. İleri evre FBON Kuzey Amerika'da her yıl gerçekleştirilen tüm TKA prosedürlerinin %10' unu oluşturur. Her ne kadar TKA osteoartrit için güvenilir bir cerrahi tedavi olsa da genç hastalarda kullanımı uzun vadede implant yetersizliği ve daha riskli revizyon cerrahisine ihtiyaç duyulmasını gerektirebileceği için karar vermek güçtür. (42)



Şekil 6 Femur başı osteonekrozu makroskopik görüntü (<https://www.ccjm.org>)

FBON erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir ve sıklıkla bilateral olarak ortaya çıkar. Osteonekrozun en sık nedeni, damarsal yapıların hasarlanması ile kan akımında bozulma sonucu oluşan hasar kaskadıdır. (43) Femur başının beslenmesi çok küçük damarlarla sağlanmaktadır. Birçok non-travmatik neden bu damarlarda dolaşımı bozabilir. Bu nedenlerin %90'ını kortikosteroid kullanımı ve alkolizm oluşturmaktadır. (44) Patogenezde birçok hipotez ortaya atılmıştır. Kabaca direk hücresel toksisite, oksidatif stres, koagülopatik olaylar, hiperlipidemi, yağ embolisi, vasküler anomali ve bozukluklar, yükselmiş kemik iliği basıncı sayılmaktadır. Bazı olgularda ise sebep tespit edilemez ve idiyopatik FBON olarak adlandırılır. Hastalığın ilk semptomu genellikle aktivite ve egzersizle artan ağrıdır. İlerleyen zamanlarda istirahatte ağrı ve eklem hareket açıklığında kaybı ile kendini gösterir. Osteonekroz gelişen hastalar genellikle genç, aktif hastalar olduğundan bu hastalar için erken tanı ve kalça koruyucu tedaviler önemli hale gelmiştir. Tedavide ana hedef femur başının korunmasıdır. Ancak çoğu hasta hastalığın ilerlemiş

evrelerinde hekime başvurmaktadır. Bu sürecin yönetiminde erken tanı mümkün olsa da tedavilerin henüz yüz güldürücü sonuçları yoktur. Hastalığın progresif seyri nedeniyle morbiditesi yüksektir. Bu nedenle etiyoolojiyi anlamaya ve tedaviye yönelik araştırmalar son yıllarda hız kazanmaktadır.

2.3.2 Femur Başı Osteonekrozu Epidemiyolojisi

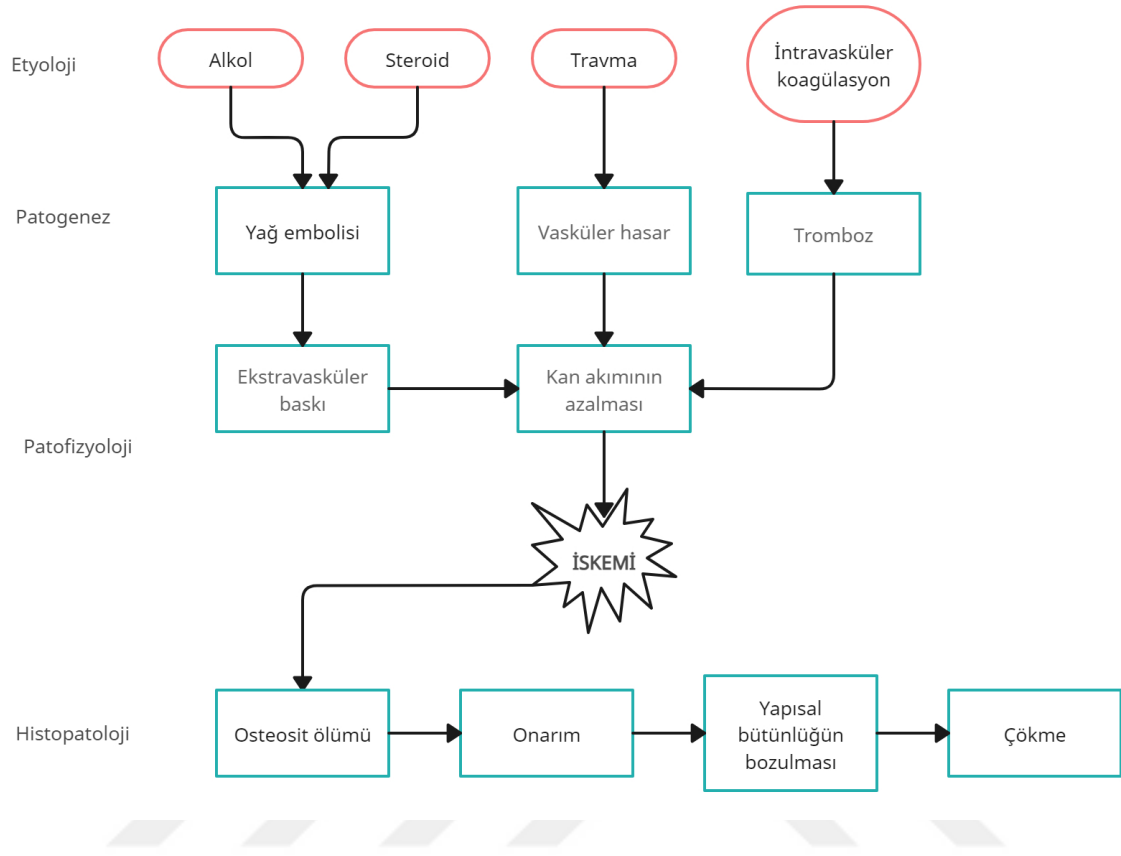
Osteonekroz (ON) epidemiyolojisinin araştırılırken; hastalığın ayrıca aseptik, avasküler veya iskemik nekroz veya kemik enfarktüsü olarak da bilinmesi nedeniyle birkaç farklı takma ad kullanarak yapılan bir araştırmayı ve veri toplamayı gerektirir. Mont ve ark. göre, FBON'lu insanların dünya çapındaki toplam sayısı önümüzdeki on yıl içinde 20 milyona ulaşabilecektir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yıllık prevalans 15.000 ile 20.000 arasında olduğu, Çin'de 15 yaş üstü yaklaşık 8,12 milyon FBON hastası olduğu tahmin edilmektedir. FBON 'nun bu kadar yaygın görülmesi iş gücü kaybına neden olarak topluma ekonomik yönden önemli bir yük oluşturmaktadır. (45) 2004 yılında Japonya'da yapılan ulusal bir epidemiyolojik araştırma, yıllık yaklaşık 11.400 hastanın FBON için tedavi edildiğini ve yılda 2200 hastanın yeni tanı aldığı gösterilmiştir. Erkek kadın oranı 5:4 idi ve kesin tanıdaki en yüksek yaş erkeklerde 40'lar, kadınlarda 30'lardı. FBON' un %51' inde steroidlerle, %31' inde ağır alkol alımı, %3' ünde her ikisi ve %15' inde ikisi de olmadığı raporlanmıştır. FBON, erkek hastaların %34' ünde ve kadınların %76' sında steroid kaynaklı olarak bulundu. Steroid tedavisi gerektiren altta yatan hastalıklar incelendiğinde; %31,2'de sistemik lupus eritematozus (SLE), %6,3' te nefritik sendrom, %4,9'da polimiyozit/dermatomiyozit, %4,5'de astım, %4,4 trombositopenik purpura ve geri kalanında diğer bağ dokusu hastalıkları bildirilmiştir. (46) FBON oluşumu ile bir yıl içinde birikmiş steroid dozu, maksimum doz ve ortalama günlük doz arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışmada, günde 16,6 mg / gün prednizolon alan SLE hastalarında günde 12,3 mg'dan daha az alan hastalara göre 3,4 kat daha yüksek FBON riski bildirildi. Benzer şekilde, 20,4 mg / gün prednizolondan daha fazla alan böbrek nakli alıcıları, 14,92 mg / günden daha az alan hastalara kıyasla 5.0 kat daha yüksek FBON riski taşıyordu. (47) (7) Bir meta-analize göre steroid ile ilişkili FBON da oral steroid alımındaki her 10 mg/günlük artış hastalığın gelişme ihtimalinde 4,6 kat artışa neden olmaktadır. (48) FBON için eşik toplam doz 2000 mg olarak bildirilmiş ancak kısa dönem steroid kullanımında hastalık oluşturabileceği belirtilmiştir. (49) Steroid uygulamasına bağlı multifokal osteonekroz

yalnızca femur başında değil humerus başında, diz eklemlerinde ve ayak bileği eklemlerinde görülebilmektedir. Multifokal osteonekrozu saptanan hastaların %91'inde steroid tedavisi öyküsü olduğu bildirilmiştir. (50) Steroid kaynaklı FBON'lu 250 hastanın MRI tarama çalışması dizlerinde %50'sinde ve humerus başlarının % 24'ünde osteonekroz bulmuştur.

FBON herhangi bir etiyoloji ya da risk faktörü bulunmadan yani idiopatik (primer) olarak da görülebilir. Ancak günümüzde etiyolojik etkenlerin aydınlatılması ile sekonder olgular daha ağırlıklıdır. İdiopatik grubu dışarda tutacak olursak FBON'a neden olan sebepler tablo 1'te gösterilmiştir. Tablo 1' de ki sebepler FBON patogenezinde farklı süreçler ile osteonekroza yol açarlar. Travma sonrasında mekanik vasküler yaralanma, kemik iliği dolgunluğu, venöz boşalım tıkanıklığı, tromboz ve embolizm, damar duvarı hasarı gibi süreçler daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir. (Şekil 7)

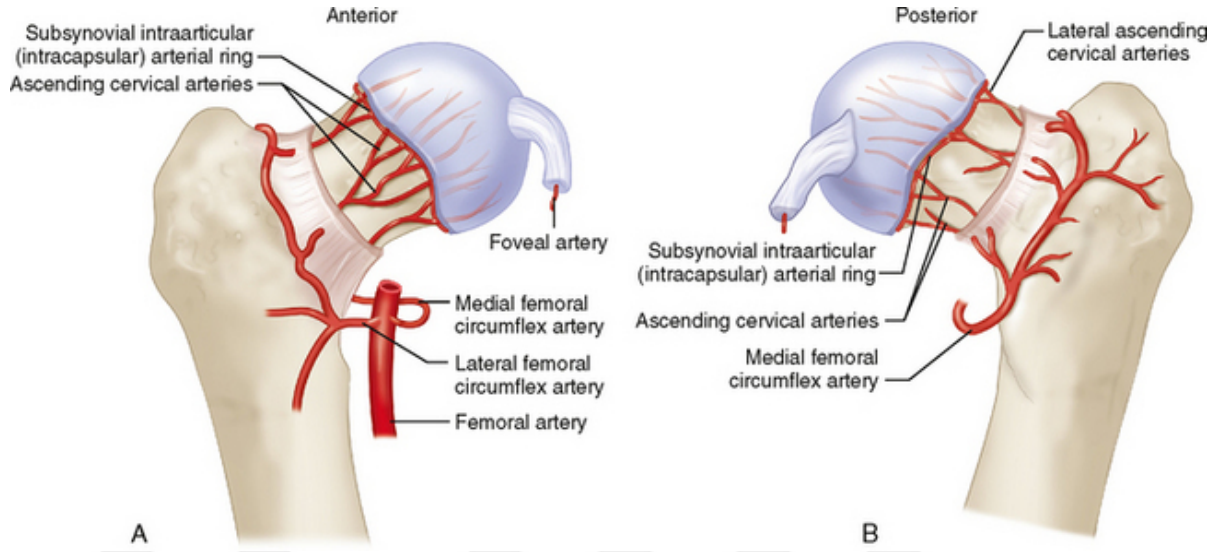
Tablo 1FBON (femur başı osteonekrozu) etyolojisi

TRAVMATİK NEDENLER	ATRAVMATİK NEDENLER		
1. Femur boyun kırığı 2. Kalça çıkığı 3. Kalçanın crush yaralanması 4. Vasküler yaralanma 5. Kalça cerrahisi 6. Kalça manipülasyonu 7. Geniş yanıklar	<table> <tr> <td data-bbox="647 1122 1007 1883"> 1. Sistemik steroid kullanımı (En sık neden) 2. Aşırı alkol kullanımı 3. Kontraseptif ilaç kullanımı 4. Gebelik 5. Hiperlipidemi 6. Caisson (dekompresyon) hastalığı 7. Yüksek irtifada uzun süre kalmak 8. Organ transplantasyonu 9. Sigara kullanımı 10. Radyasyona maruz kalma 11. Koagülasyon sorunları ve hematolojik hastalıklar (Antitrombin III eksikliği, Protein C ve S eksikliği, Plasminojen aktivatör eksikliği, Hemofili, Polistemi, Orak hücreli anemi, Talasemi) </td><td data-bbox="1094 1122 1426 1570"> 12. Metabolik hastalıklar (Hiperparatroidizm, Gut hastalığı, Cushing hastalığı, Gaucher hastalığı) 13. Gastrointestinal sistem hastalıkları (Pankreatit, Crohn , Ülseratif Kolit). 14. Kollajen vasküler hastalıklar (SLE, Romatoid artrit, vaskülitler) </td></tr> </table>	1. Sistemik steroid kullanımı (En sık neden) 2. Aşırı alkol kullanımı 3. Kontraseptif ilaç kullanımı 4. Gebelik 5. Hiperlipidemi 6. Caisson (dekompresyon) hastalığı 7. Yüksek irtifada uzun süre kalmak 8. Organ transplantasyonu 9. Sigara kullanımı 10. Radyasyona maruz kalma 11. Koagülasyon sorunları ve hematolojik hastalıklar (Antitrombin III eksikliği, Protein C ve S eksikliği, Plasminojen aktivatör eksikliği, Hemofili, Polistemi, Orak hücreli anemi, Talasemi)	12. Metabolik hastalıklar (Hiperparatroidizm, Gut hastalığı, Cushing hastalığı, Gaucher hastalığı) 13. Gastrointestinal sistem hastalıkları (Pankreatit, Crohn , Ülseratif Kolit). 14. Kollajen vasküler hastalıklar (SLE, Romatoid artrit, vaskülitler)
1. Sistemik steroid kullanımı (En sık neden) 2. Aşırı alkol kullanımı 3. Kontraseptif ilaç kullanımı 4. Gebelik 5. Hiperlipidemi 6. Caisson (dekompresyon) hastalığı 7. Yüksek irtifada uzun süre kalmak 8. Organ transplantasyonu 9. Sigara kullanımı 10. Radyasyona maruz kalma 11. Koagülasyon sorunları ve hematolojik hastalıklar (Antitrombin III eksikliği, Protein C ve S eksikliği, Plasminojen aktivatör eksikliği, Hemofili, Polistemi, Orak hücreli anemi, Talasemi)	12. Metabolik hastalıklar (Hiperparatroidizm, Gut hastalığı, Cushing hastalığı, Gaucher hastalığı) 13. Gastrointestinal sistem hastalıkları (Pankreatit, Crohn , Ülseratif Kolit). 14. Kollajen vasküler hastalıklar (SLE, Romatoid artrit, vaskülitler)		



Şekil 7 Osteonekroz diyagramı

Epifiz, femur başının büyüme plakasına yakın kısmıdır. Metafizinin geniş bir kısmı da femur başını oluşturur. Epifizin ve metafizin femur başı yapısına farklı anatomik katkısı, vasküler destek noktasında bir benzerliğe sahiptir. Femur başı dolaşımına katılan damarlar lateral epifizeal arterler, superior metafizeal arterler, medial epifizeal arter, inferior metafizeal arterler ve intramedüller arterlerdir. Lateral epifizeal arterde kan akışının bozulması, avasküler nekrozdaki ana dolaşım sorununu temsil eder. (Şekil 8)



Şekil 8 Femur başı kanlanması, A: önden görünüm B: Arkadan görünüm (<https://musculoskeletalkey.com>)

2.3.4 Kortikosteroid Kullanımının Femur Başı Osteonekrozundaki Patogenezi

Non-travmatik FBON'un en sık nedeni kortikosteroid kullanımıdır. (44) 1951'de romatoid artrit tedavisi için kortizonun kullanılmasından bir yıldan az bir süre sonra araştırmacılar, Cushing sendromunda nadir görülen zararlı etkilerin farkına vardılar. (51) Bu etkiler uykusuzluk, gastrointestinal kanama, kortizon sonrası yoksunluk sendromu ve kalça kırığı olarak bildirildi. (52) Sadece birkaç yıl sonra, osteoporoz ve kırıklar, kortizon, prednizolon ve prednizon ile uzun süreli tedavinin iskelet sistemi üzerindeki komplikasyonları olarak açıkça kabul edildi. Yüksek doz steroid terapisinden sonra femur ve humerus başlarının çökmesi, bazen savunması zor olan bu tedavi için kısa bir süre sonra herkesçe kabul görmüştür. Deksmetazon ve diğer glukokortikoidler, idiyopatik trombositopenik purpura (İTP), nefrotik sendrom ve sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi enflamatuar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ortopedi ve Travmatoloji pratiğinde sinir yaralanmalarından sonra da yüksek doz kortikosteriod tedavisi verilir. Glukokortikoid ile indüklenen osteonekrozu olan ilk büyük hasta serisi 1971'de bildirilmiştir. (53) Femoral osteonekroz, topikal glukokortikoid merhem ile bile görüldüğü not edilmiştir. (54) (55) Günümüzde osteonekroz, uzun süreli tedavi alan hastaların %10-40' ında gelişir ve glukokortikoid kaynaklı osteoporoz olmadan ortaya çıkabilir. Kortikosteroidler travmatik olmayan osteonekrozun en yaygın nedeni olarak en kapsamlı olarak incelenmiş olanıdır. Osteonekroz gelişimi için düşünülen

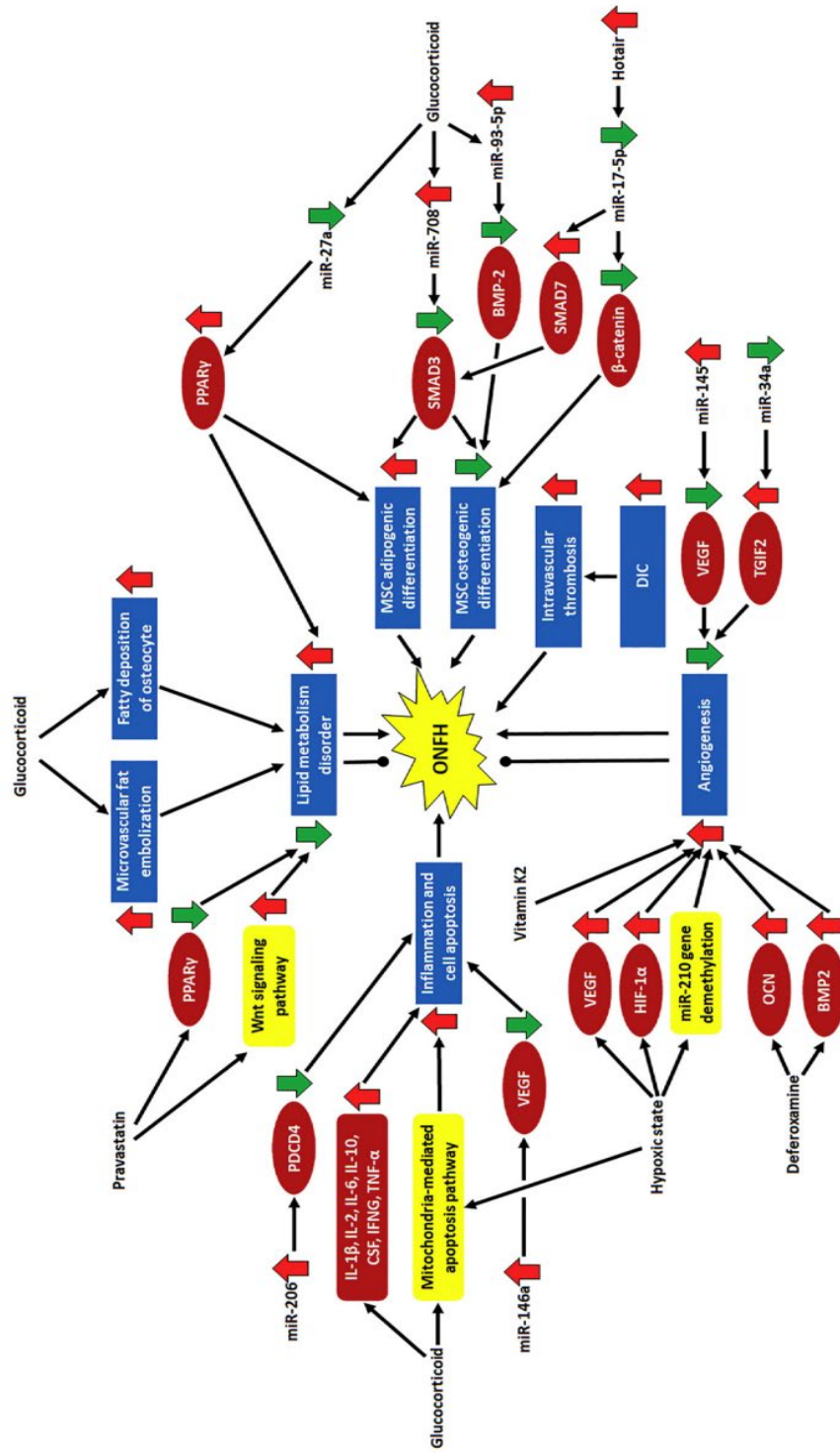
mekanizmaların çoğu kortikosteroidlerin immünolojik ve hücrel etkileriyle paraleldir ve bunlardan bazıları diğer etiyolojilerden osteonekroz için ortak olabilir. (Şekil 9)

Glukokortikoidlerin immün sistem üzerindeki etkileri çok sayıda ve son derece karmaşıktır. Glukokortikoidler hem inhibitör hem de uyarıcı yolları aktive eden birçok seviyede gen transkripsiyonunu etkileme yeteneğine sahiptir. Önceki klinik çalışmalar göstermiştir ki steroid kaynaklı femur başı osteonekrozunun ortaya çıkması aşırı steroid kullanımının en ciddi komplikasyonlarından biridir. (56) Glukokortikoid kaynaklı kırıkların önlenmesine olan ihtiyaç konusunda farkındalık artmaktadır. Glukokortikoid uygulaması genellikle travma dışı osteonekrozun en yaygın nedeni olarak göz ardı edilmektedir. Primer histopatolojik lezyon osteosit apoptozu olduğundan osteonekroz ismi yanıltıcıdır. Kümülatif ve onarılamayan bir kusur olan glukokortikoide bağlı osteosit apoptozu; osteosit- laküner- kanaliküler sistemin mekanosensör fonksiyonunu bozar ve böylece femur başı çökmesine neden olan olayların kaçınılmaz dizisini başlatır. Steroid tedavisine başlama ile kalça ağrısının ilk semptomları arasındaki ortalama süre 33 aydır ancak bazı osteonekroz vakalarında sadece 3 ay sonra görüldüğü de bildirilmiştir. (57)

Steroid kaynaklı osteonekrozun kemikteki iskemi nedeniyle gelişmesi düşünülmese de rağmen, ayrıntılı mekanizma net olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle, steroid uygulamasından dolayı steroid kaynaklı patogenezi anlamak ve bu durumu önlemek için önleyici yöntemler gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Kortikosteroide bağlı osteonekrozun mekanizması halen tam olarak aydınlatılmamıştır. Üzerinde yoğunlaşan hipotezler; yağ hücresi hipertrofisi, yağ embolisi, intravasküler koagülasyon, osteosit apoptozisidir. Yakın tarihli bir derleme makalesinde, Wang ve arkadaşları, steroid kaynaklı FBON patogenezi hakkında beş ana teori listelemişlerdir: lipid metabolizması bozuklukları; azalmış osteogenez potansiyeli, yetersiz kan temini; hücre apoptozu ve gen polimorfizmi. Yazarlar, steroidin indüklediği FBON'un steroid kullanımı ile ilgili multipl mekanizmaların kombine eyleminin sonucu olduğu sonucuna varmışlardır. (58) Tüm bu hipotezlerin ortak sonucu ise kemik ve kemik iliğinin kanlanması bozulması, kemik yapılarında iskemik nekroz oluşması, mekanik yetmezlik gelişmesi ve sonunda femur başında yapısal çökmedir. Yüksek doz kortikosteroid verilen tavşanlarla yapılan bir çalışmada, yağ doku hipertrofisi ve yağ embolisi gösterilmiştir. Femur başlarında yağlı kemik iliği hücrelerinde artış saptanmış ve yağ embolilerinin femur başı kanlanmasını

bozduğu sonucuna varılmıştır. Kortikosteroid verilen farelerle yapılan başka bir çalışmada ise benzer şekilde kemik iliğinde yağ hücrelerinde hipertrofi gösterilmiştir. Kortikosteroid verilmesi sonrası oluşan yağ hücre hipertrofisinin, kısıtlı bir hacmi olan femur başında küre içi basınç artışı oluşturduğu düşünülmektedir. Bu durumun da zaten bir hasar almış olan kan perfüzyonunun azalmasına ve osteonekroz gelişmesine yol açtığı varsayılmaktadır. Diğer taraftan yağ embolilerinin subkondral damarlarda ve sinüslerde toplanması sonrası, kompleman yolun aktivasyonu ile immün kompleks depolanır. İmmün kompleksler trombotik yolların aktivasyonu ile de intravasküler koagülasyon oluşturarak osteonekroz gelişebileceği düşünülmüştür. (59) Kortikosteroid alan tavşanlarda kullanılan lipid düşürücü ajanların, büyük yağ hücrelerinin azalmasına, intrakortikal basıncın düşmesine ve kan akımının iyileşmesine yardımcı olduğu raporlanmıştır. (60)

Son zamanlarda kortikosteroid kullanımına bağlı oluşan osteonekrozun patogenezinde mekanizma olarak osteosit apoptozisi düşünülmektedir. (61) (62) Kortikosteroidle bağlı FBON nedeniyle TKA yapılan hastalarda femur başının patolojik incelemesinde apoptotik osteositler dikkat çekicidir. Bu bulgular travma ya da alkole bağlı FBON'daki femur başı patolojilerinde görülmemiştir. Bu apoptotik hücrelerin birikerek osteosit-lakunar-kanalikular sistemin ve damarsal boşlukların bozulmasına ve femur başının çökmesine yol açtığı varsayılmaktadır. Son zamanlardaki çalışmalarda, *in vivo* oksidatif stresin steroide bağlı osteonekrozun patogenezinde rol oynadığı bildirilmektedir. (63) (64) Oksidatif stresin vasküler hasar ve hücre ölümü yoluyla çeşitli hastalıkların patogenezinde yer aldığı giderek daha açık hale gelmiştir. Oksidatif stres koşulları altında, vasküler ve doku hasarları bir sonuç olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenlerden dolayı, bu tez çalışmamızda steroid kaynaklı FBON gelişiminde rol oynadığı düşünülen oksidatif strese dikkat çekildi. Son evre artiküler kollapstan önce FBON' un erken tespiti, kronik steroid yapıda ilaç kullanımı olan hastalarda, hastalığın ilerlemesini geciktirme veya hatta geri çevirme potansiyeline sahip olan daha az morbid kemik koruyucu prosedürler; cerrahi müdahaleye izin verdiği için arzu edilir.



Şekil 9 Osteonekroz patogenezi (58)

Bu ihtiyaç, hematolojik maligniteler, otoimmün ve solunum yolu hastalıklarının tedavisinde steroid kullanımı için genişleyen endikasyonlar göz önüne alındığında daha belirgin hale gelmektedir.

2.3.5 Femur Başı Osteonekrozunda Klinik Bulgular ve Semptomlar

Hastalığın erken dönemleri genelde asemptomatiktir. Nekroz alanının fibröz vasküler doku ile tamirinin başladığı andan itibaren ilk semptom ağrıdır ve ağrı genellikle kasıktadır ama hastalar kalça veya dizdeki ağrı şikâyeti ile de başvurabilir. Nadir olarak hastalar ağrılarını trokanter üzerinde veya gluteal bölgede de hissedilebilir. Olguların yaklaşık %40'ında gece ağrısı vardır. Yürüme ve ayakta durmayla ağrı kötüleşebilir, ağrı derin, aralıklı ve zonklayıcı tarzdadır. Steroide bağlı FBON' larda ise ani ağrı krizleri görülebilir. FBON' un muayene bulguları için kalçanın iç rotasyonunda olan ağrısı tipiktir. Ciddi derecede kısıtlanmış kalça iç rotasyonu femur başı çöküşüne işaretler. Son evrede kısalık, kontraktür gibi artroz ve çökmeye ait diğer bulgular da kendini gösterir. FBON' da bilateral tutulum oranının %50'nin üzerinde olduğu bilinmektedir, muayene yapılırken karşı tarafa da bakmalıdır. Erken dönemde eklem hareketleri korunmuştur. İlerleyen dönemlerde ise tamir işlemi fibröz dokunun ilerlemesi ile devam eder. Bu dokunun duvarları avaskülerdir ve subkondral kemikte oluşan segmenter çökmeye neden olur. Hastalığın bu döneminde hastanın ağrısının özellikle iç rotasyonda arttığı ve bu hareketin kısıtlandığı görülür. Hastalığın son dönemlerine kadar eklem kıkırdağı ve asetabulum korunur. Ancak eklem kıkırdağının bozulmasıyla bazı hastalarda, hareketlerle birlikte “klik” sesi duyulmaya başlar. Bu semptomun eklem içi serbest fragman varlığına bağlı olduğu düşünülmektedir. Kalçada dejeneratif artrit başlanmasıyla beraber ağrının şiddeti artar, eklem hareketleri daha da kısıtlanır.

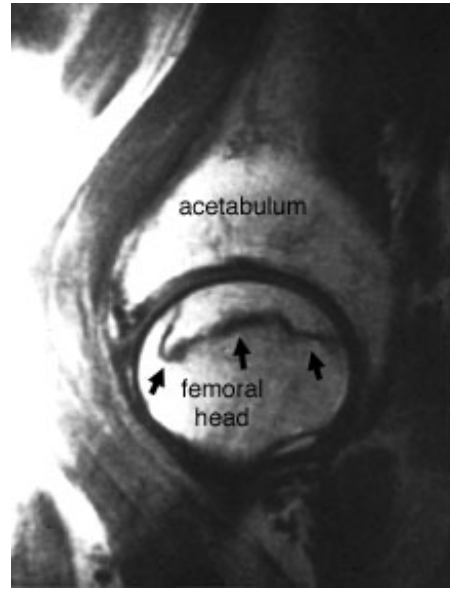
Femur başı osteonekrozunda tedavisinde başarıya ulaşmanın yolu erken tanıdır. Erken tanının önemi hastalığın erken evrelerinde alınacak önlemlerin ve uygulanacak tedavi yöntemlerinin kalça eklemi korumaya yönelik olmasıdır. Bu bakımdan Ortopedi ve Travmatoloji polikliniğine kasık ağrısı ile başvuran hastaların osteonekroz açısından değerlendirilmesi ve tetkik edilmesi önemlidir.

2.3.6 Femur Başı Osteonekrozunda Tanı

Kalça eklemine korumaya yönelik tedavi seçeneklerine olanak sağlamak açısından FBON’da hastalığın erken evrelerinde tanı konulması oldukça önemlidir. Erken tanı koymak için iyi bir anamnez ve fizik muayeneye ilave olarak görüntüleme yöntemlerinin etkin kullanılmasına ihtiyaç vardır. Başarılı tedavi tanı anındaki evreleme ile doğrudan ilişkilidir. Evrelemede kullanılabilecek yöntemler; anterior-posterior ve lateral direkt grafiler, manyetik rezonans görüntüleme (MRG), bilgisayarlı tomografi (BT), Teknesyum-99 kemik sintigrafisi ve pozitron emisyon tomografisidir. Tanıda en çok kullanılan yöntemler direkt grafiler ve manyetik rezonans görüntülemedir (MRG). Hastalık ilerledikçe radyografik olarak femur başında yaygın osteopeni ve sklerotik bir sınırla çevrili radyolüsent alan, son evrelerde ise femur başında kollaps ve kalça eklemine dejeneratif düzensizlikler ve değişiklikler izlenebilir. Tanıda altın standarttır. (65) Radyografik değerlendirmede subkondral ‘*crescent sign*’ osteonekroz için patognomoniktir (Şekil 10) ancak bu işaret erken değildir ve MRG femur başı şeklindeki herhangi bir değişiklikten veya subkondral kırık (crescent) görünümünden önce geniş osteonekrozu gösterebilir. Özellikle diyafizometafizyel yerleşimli osteonekrozlarda görülen erken radyografik bulgular yeterince özgül değildir. Net olarak seçilemeyen parçalı radyolüseni şeklinde izlenen bu



Şekil 10 Evre III olguda crescent bulgusu



Şekil 11FBON Erken evre MRI

bulgular, kemik destrüksiyonunu, osteomyeliti ve hatta agresif tümörleri taklit edebilir.

Hastanın semptomatik olması ancak direkt grafilerinde patolojik bulgu saptanmaması durumunda MRG inceleme yapılması gerekir. Eklem efüzyonları, kemik iliği konversiyonu, ödem ve eklem kıkırdağındaki değişiklikleri gösterebilen MRG, bu açılardan bakıldığında da sintigrafi, direkt grafiler ve BT' den daha üstündür. MRG günümüzde FBON için en yaygın kullanılan tanı yöntemidir ve altın standart denilebilir. FBON hastalarında MRG incelemede saptanan ilk patolojik bulgu T1 ağırlıklı görüntülerde normalde yüksek sinyal yoğunluktaki kemik iliğinde düşük sinyal yoğunluklu yaygın alanların (nekrotik alanlar) görülmesidir. Ancak bu görüntü FBON' u için özgün değildir ve kemik iliğindeki ödeme bağlı olduğu düşünülmektedir. T1 ve T2 ağırlıklı görüntülerde iskemik kemik bölgesi düşük sinyalli bantlar veya hatlar içerir. T1 ağırlıklı görüntülerde kalın bant tarzında sağlıklı ve nekrotik kemik doku ayrımını gösteren lezyon görülür. Dıştaki düşük sinyal intensitesi sklerotik kemiği, içteki yüksek sinyal intensitesi ise vaskülarize granülasyon dokularını temsil eder. T2 ağırlıklı görüntülerde bu lezyon çift çizgi (çift hat işareti) şeklindedir (Şekil 11); avasküler nekroz için yüksek özgünlüktedir ve karakteristiktir. Bu bulgu röntgende skleroz olarak, sintigrafide hot spot olarak görülebilir. Osteonekrozda femur başına ve boynuna yayılan difüz olarak dağılmış, sinyal değişiklikleri izlenebilmekte olup bu difüz tutulum şekli ağrı ve kemikte çökme gibi ilerleme bulguları ile koreledir. Femur başında ve boynunda izlenen ödem, kalçanın geçici osteoporozu ile karıştırılabilir, klinikle birlikte değerlendirilmelidir.

Femur boyun kırığı gibi bir travma sonrası MRG' de FBON lezyonlarının oluşumu travma sonrası 4.haftada dolaylarında görülmüştür. Bununla birlikte, steroid kullanımının başlamasından sonra MRG' de FBON lezyonlarının oluşumunun zamanlaması çeşitli araştırmalarda bakılmıştır ve altta yatan hastalığa göre lezyonların ortaya çıkış süreleri değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Steroid kullanımından sonra MRG' de FBON lezyonlarının görülmesi 2- 12 haftalar arasında değişirken klinik semptomların, ağrının oluşması 6 ay- 2 yıl arasında görülür.

Bilgisayarlı tomografi hastalığın erken tanısı için kullanılmaz. Avasküler nekrozun seyrinde görülen kemikte çökmeyi, eklem içi serbest cisimleri ve dejeneratif hastalığı tanımak için yardımcı olur ve tutulumun uzaysal yerleşimini gösterir.

Avasküler nekroz tanısında Teknesyum 99 metilen difosfonat kemik sintigrafisi kullanılabilir. Kemik taraması, bazen hastanın MRG kontrendikasyonları olduğunda veya diğer birçok eklem durumunu değerlendirirken faydalı olabilir. Enfarkt etrafındaki kemiğin reaktivitesi, geç dönem görüntülerde artmış izotop tutulumu şeklinde görülür. Ölü ve reaktif kemik doku bileşkesindeki artmış kemik döngüsünde, radyonükleotid birikimi ortaya çıkar. Nekrotik bölgede azalmış, onu çevreleyen alanda ise artmış aktivite tutulumu ile karakterize olan “cold in hot” görünümü nadir ama karakteristik bir görünümdür. (66) Femur başının sintigrafik görünümü ile kalça ağrısı ve fonksiyonu arasında bir korelasyon yoktur.

Hastaya genel anestezi verilerek yapılan bazı invaziv tanı yöntemleri de bildirilmiştir. İntertrokanterik bölgeden sokulan kanül yardımı ile kemik iliği basıncı ölçümü (>30 mmHg olması tanı koydurur). Aynı kanülden 5 cc izotonik verilerek yapılan stres testi (basıncın 10 mmHg’dan fazla artış olması tanı koydurur). Aynı kanülden 10 cc radyopak madde verilerek yapılan intramedüller venografi ve nekrotik femur başından core-dekompresyon yöntemi ile biyopsi alınması bunlara örnektir.

2.3.7 Femur Başı Osteonekrozunda Ayırıcı Tanı

Subkondral kistler, avasküler nekrozlar ile karışabilir. Ancak subkondral kistler daha keskin ve yuvarlak sınırlı olmaktadır. Subkondral yetmezlik kırıkları, travma sonucu ortaya çıkmayan genellikle femur başı süperolateral kesiminde yerleşmiş lezyonlardır. Femur başı osteokondral lezyonları ise travmatik yaralanmalar sonucu ortaya çıkar. Metastazlar femur başında ender görülmekle birlikte avasküler nekrozlar ile karışabilecek görüntü yapabilir. Fovea santralis femur başının normal bir anatomik yapısıdır ve avasküler nekroz ile karıştırılmamalıdır. (Şekil 12)

Öngörülebilir prognoz, hastanın en uygun tedavi planının oluşturulmasında ve komorbiditeler ile mücadelede birincil adımdır. Radyolojik yöntemler hastalığın tanısı yanında prognozunun tahmin edilmesinde de kullanılır. Yüksek prognostik değere sahip



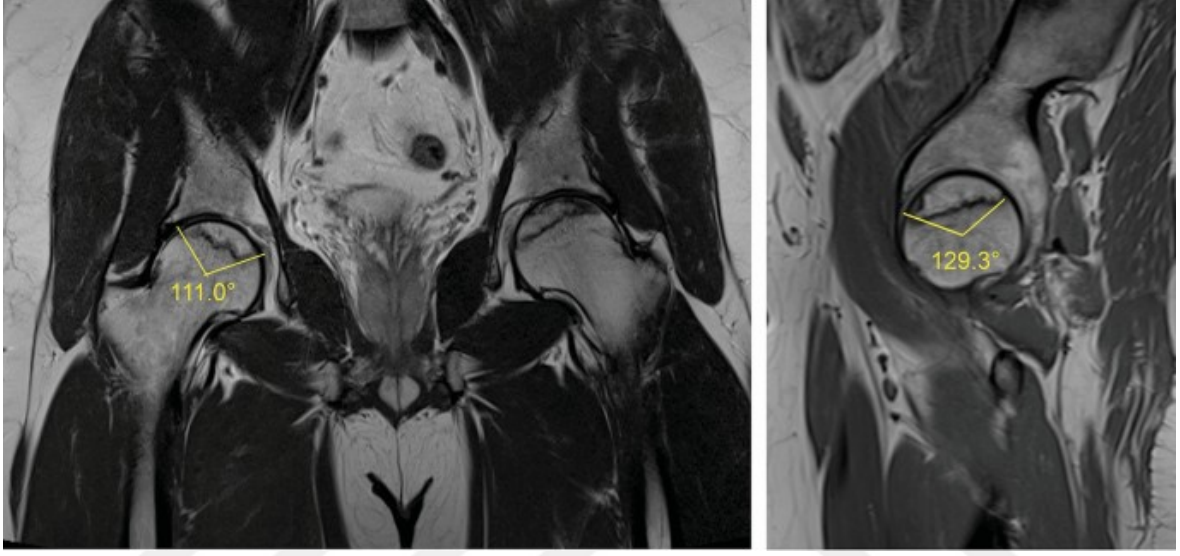
Şekil 12 Normal kalça MRG, fovea centralis

dört radyolojik bulgu bildirilmiştir; çökme, nekrotik alanın boyutu, femur başındaki çökme derecesi ve asetabuler tutulum olduğunu göstermektedir.

a. Çökme: Nekrotik kemiğin mekanik olarak yetersiz kalması sonucunda ortaya çıkar. Çökmeyle ilgili ilk bulgu, femur başı avasküler nekrozunun tanı koydurucu bulgusu olarak da tanımlanan ve çökmeye başlayan subkondral kemik ile kırık arasına sızan eklem sıvısının neden olduğu ince radyolüsen bir hat ile gözlenen hilal (crescent sign) bulgusudur. Radyolojik çökme görüntüsü, artık femur başının kurtarılamayacağını da işaretidir. Buna karşın, çökme oluşmadan tanı konan olgularda femur başının kurtarılma olasılığı da yüksektir. (67) Erken tanı bu nedenle önemlidir. (Şekil 14)

b. Nekrotik Alanın Büyüklüğü: Nekroze alanın boyutu, hastalığın seyrini önemli ölçüde etkiler ve doğrudan grafilerle ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile kombine edilerek ölçülür. Anteroposterior (AP) ve lateral kalça grafilerinde nekrozlu alanın kavis açıları (Kerboul açısı) ölçülür. Anteroposterior ve lateral grafilerdeki açılar toplamı 160° 'nin altındaysa, lezyon "küçük" olarak kabul edilir; 161° - 200° arasındaysa "orta", ve 200° 'den büyükse "büyük" olarak sınıflandırılır. Aynı amaçla MRG kullanıldığında, koronal ve

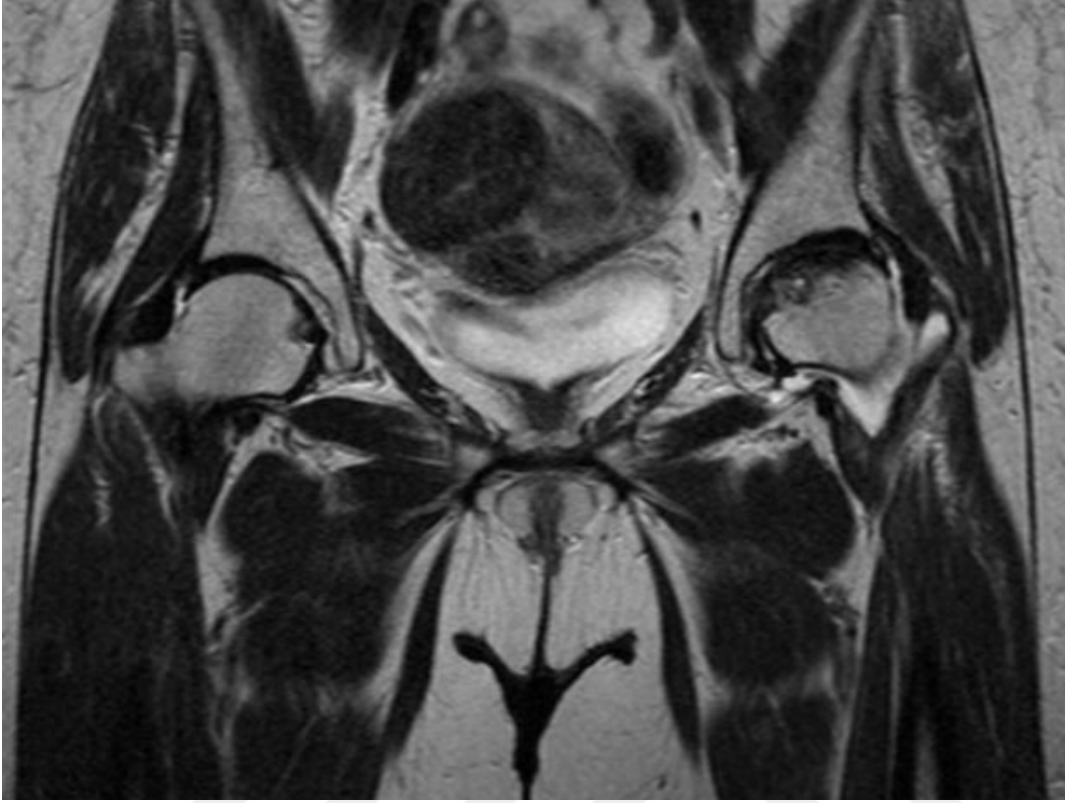
aksiyel kesitlerden yararlanılarak, nekrotik alanın toplam hacmi hesaplanır. (Şekil 13) Femur başının %15'inden azını etkileyen lezyonlar "küçük", %15- 30'unu etkileyen lezyonlar "orta" ve %30'un üzerini etkileyen lezyonlar "büyük" olarak sınıflandırılmıştır. Küçük ve orta boyutlu lezyonların prognozunun genellikle iyi olduğu bildirilmiş, ancak büyük boyutlu lezyonların prognozunun oldukça kötü olduğu bildirilmiştir. (65)



Şekil 13 Coronal ve sagittal planda birleşik nekrotik açı ölçümü

c. Femur Başındaki Çökme Miktarı: Femur başındaki çökmenin milimetrik olarak ölçümleri, prognozun öngörülmesi açısından son derece önemlidir. Femur başındaki çökmenin 2 mm'den az olduğu olgularda prognoz genellikle iyidir. Ancak 4 mm'nin üstünde çökme olan olgularda femur başının korunabilmesi neredeyse imkansızdır, erken yaşta artroplasti gerekliliği olabilmektedir.

d. Asetabuler Tutulum: Subkondral nekroz sonucunda meydana gelen çökme radyografik incelemede eklem aralığının rölatif genişlemesi olarak görülebilir ancak sağlam tarafla karşılaştırıldığında, etkilenen tarafta eklem aralığının daraldığı gözlenirse, bu asetabuler tutulumun bir işareti olarak yorumlanır. Bu tür durumlar, osteoartrit olarak da adlandırılabilir ve tedavi seçenekleri genellikle rekonstrüktif cerrahi müdahalelerini gerektirir.



Şekil 14 Sağ tarafta sağlıklı kalça fovea capitis. Sol taraf FBON

İdiopatik geçici kalça osteoporozu sıklıkla görülen bir hastalıktır. (Şekil 15) Bu hastalığın diğer bir adı geçici kemik iliği ödemi sendromudur. Bu hastalığın etiyolojisi tam bilinmemektedir. Hastalık 2-6 hafta içinde semptomatik yaklaşımla ve kalçalar üzerine ağırlık vermekten kaçınmakla kendiliğinden geriler. Konvansiyonel grafilerde kalçada osteopeni mevcuttur. MRG’de T1 ağırlıklı görüntülerde hipointens T2 ağırlıklı görüntülerde hiperintens görünüm dikkat çekmiştir. Geçici osteoporoz ve osteonekroz arasındaki ayrımı yapmak genellikle mümkündür. Geçici osteoporozun kemik iliği ödemi femur başından intertrokanterik alana doğru uzanım gösterir ve proksimalde nekrotik segment olarak bir demarkasyon hattı izlenimi yoktur.



Şekil 15 Sağ kalçada geçici osteoporoz MRI görüntüsü

2.3.8 Femur Başı Osteonekrozunda Sınıflandırma

FBON sınıflaması zaman içinde birçok değişikliğe uğramıştır. Yapılan sınıflandırmalar prognoz ve tedavi için yol gösterici olmalıdır. Birçok sınıflama tanımlanmış olmasına rağmen bu bölümde sık kullanılan sınıflamalara değineceğiz.

Literatürde, FBON için çoğu temelinde MR ve radyografiye dayanan 16'dan fazla farklı sınıflandırma tanımlanmıştır. Hastalık sınıflandırması, prognoz belirlemeyi ve tedavi seçeneklerine yönelik karar vermeyi kolaylaştırır. Literatürde en yaygın kullanılan sınıflandırmalar arasında Ficat ve Arlet (%63'lük oranda), Steinberg (%20), Association Research Circulation Osseous (ARCO) (%12) ve Japon Ortopedi Birliği (%5) kullanılmaktadır. (68)

Femur başı osteonekrozu için en sık kullanılan sınıflandırma şemaları yukarıda belirtildiği gibi Ficat ve Arlet sistemi (Tablo 2) ve Steinberg sistemidir (Tablo 3). Her ikisi de Steinberg sistemine MRI eklenerek düz radyografilerin değerlendirilmesiyle yapılmaktadır. Association Research Circulation Osseous (ARCO) sistemi nadiren kullanılır ve kavram olarak Steinberg sistemine benzer (Tablo 3).

Yong-Chan ve arkadaşları MRG’de modifiye Kerboul yöntemini kullanarak; midsagittal ve midkoronal MRG kesitlerinden ölçülen başın eklem tutulumunun birleşik açısının, kollaps öncesi osteonekrozlu kalçalarda çökme öngörüsü olduğu göstermişlerdir. (65) (Şekil13)

Tablo 2 Femur başı osteonekrozu Ficat ve Arlet Sınıflaması

Evre	Semptom	Radyoloji	Kemik tarama	Patolojik bulgu	Biyopsi
0	Yok	Normal	Azalmış uptake		
1	Yok-Hafif	Normal	Femur başında ‘cold spot’	Femur başı yük alan kısımda infarct	Bol ölü kemik hücreleri, osteoblastlar, osteojenik hücreler
2	Hafif	Femur başında dansite değişikliği (skleroz veya kist) Normal eklem hattı, normal femur başı	Artmış uptake	İnfarkt olmuş alanın spontan onarım	Nekrotik trabeküler arasında biriken yeni kemik
3	Hafif-orta	Düzleşme (crescent sign) Sferite kaybı, kollaps	Artmış uptake	Subkondral kırık, kollaps, nekrotik segmentte kompaksiyon ve fragmantasyon	Kırık çizgisinin her iki tarafındaki ölü kemik trabekülleri ve kemik iliği hücreleri
4	Orta- Ciddi	Eklem aralığı daralması, Asetabuler değişiklikler	Artmış uptake	Osteoartritik değişiklikler	Asetabular kırıkta dejeneratif değişiklikler

Tablo 3 Femur başı osteonekrozu ek sınıflamalar

Evre	Steinberg et al	ARCOS
0	Normal veya tanısal olmayan radyografik, kemik taraması ve MRG bulguları	Kemik biyopsisi osteonekroz ile uyumludur; diğer test sonuçları normal
I	Normal radyografik bulgular, anormal kemik taraması ve / veya MRG bulguları A: Hafif, <%15 baş tutulumu B: Orta, %15-30 tutulum C: Ciddi, >%30 tutulum	Kemik taraması, MRG veya her ikisinde de pozitif bulgular A: <%15 baş tutulumu (MRG) B: %15-30 tutulu C: >%30
II	Femur başındaki lüsen ve sklerotik değişiklikler A: Hafif, <%15 baş tutulumu B: Orta, %15-30 tutulum C: Ciddi, >%30 tutulum	Radyografilerde femur başı benekli görünümü, osteoskleroz, kist oluşumu ve osteopeni; radyografide veya BT'de femur başının kollaps belirtisi yok; kemik taraması ve MRG ile ilgili pozitif bulgular; asetabulumda değişiklik yok A: Hafif, <%15 B: Orta, %15-30 C: Ciddi, >%30
III	Femur başında düzleşme olmadan subkondral kollaps (<i>crescent sign</i>) A: Hafif, <%15 baş tutulumu B: Orta, %15-30 tutulum C: Ciddi, >%30 tutulum	Anteroposterior ve lateral radyografilerde görünümlere göre sınıflandırılan ' <i>crescent sign</i> ' lezyonlarının varlığı A: <%15, crescent veya <2 mm depresyon B: %15-30 crescent sign veya 2-4 mm depresyon C: > %30 crescent sign veya >4 mm depresyon
IV	Femur başında düzleşme A: Hafif, <%15 baş tutulumu B: Orta, %15-30 tutulum C: Ciddi, >%30 tutulum	Eklem yüzeyi düzleşmesi; eklem boşluğu daralması; Asetabulumda osteoskleroz, kist oluşumu ve marjinal osteofit bulguları ile değişim
V	Eklem daralması ve /veya asetabuler değişiklikler A: Hafif, <%15 baş tutulumu B: Orta, %15-30 tutulum C: Ciddi, >%30 tutulum	----
VI	İleri dejeneratif değişiklikler	-----

2.3.9 Femur Başı Osteonekrozu Tedavi Seçenekleri

FBON'un progresyonu iyi belirlenememiştir, bu nedenle spesifik bir tedavi yönteminin hastalığın doğal seyrini değiştirip değiştirmediğini değerlendirmek zordur. Subkondral çökmeden önce erken evredeki osteonekroz öyküsü hala belirsizliğini korumakta, ancak kanıtlar özellikle semptomatik hastalarda ilerleme oranının yüksek olduğunu bildirmektedir. Tıbbi tedavi ve cerrahi müdahalenin semptomatik rahatlama sağladığı gösterilmiştir. Çökmeden önce erken müdahalenin eklem koruyucu prosedürlerde başarılı sonuçlar ve sakatlık azaltmak için kritik olduğu gösterilmiştir. Asemptomatik hastalarda yaklaşım tartışmalı olup, bazı yazarlar 'bekle ve gör' stratejisini önermektedir. (69) Ancak asemptomatik FBON'un semptomatik olma riskinin yüksekliği düşünüldüğünde bu yaklaşım ideal olmayabilir. (70) Bu tedaviler kabaca konservatif ve girişimsel tedaviler olarak gruplanabilir. Medikal ve cerrahi tedavide son 50 yılda kaydedilen ilerlemelere rağmen, FBON'un ideal tedavisi konusunda halen fikir ayrılıkları mevcuttur. (71) Lezyonun femur başı alanının %30'undan az olduğu klinik olarak asemptomatik olan osteonekroz hastalarının 5 yıldan fazla bir sürede yüksek oranda (%95) asemptomatik kaldığı gösterilmiştir. Lezyon boyutu arttıkça, ağrılı osteonekroz yüzdesi artmış, büyük lezyonlu (femur başı alanının >%50'si) kalçalarda ağrılı hale gelme oranı %83'e kadar artmıştır.

Osteonekrozlu, kollaps olmamış femur başlarının 5 yıllık uzunlamasına bir çalışmasında modifiye Kerboul yöntemini kullanılarak, Ha ve ark. 190 dereceden daha az kombine bir nekrotik açığa sahip hiçbir femur başı çökmezken, 240 dereceden daha fazla birleşik nekrotik açığa sahip tüm femur başları çöktüğünü bildirdiler. (65) Femur başında çökme, femur başı kıkırdağında > 2 mm'lik bir değişiklik olduğunda tanımlanır ve bu durum daha kötü prognozun habercisidir. Bir çalışmada FBON saptanan ve femur başında çökmesi olan hastaların %92' sinin ileriki tedavisinde TKA gerektirdiği görülmüştür. Ayrıca, MRG' nda asetabular duvar tutulumu varsa femur başının kurtarılması için yapılan tedavilerin başarısız olacağı ve bu vakaların TKA gerektireceği bildirilmiştir. (72)

Subkondral çökme öncesi hastalık sürecini durdurmak veya subkondral çökmeden sonra femur başındaki tahribatı ve osteoartrite gidişatı yavaşlatmak için tamamen etkisi kanıtlanmış bir tedavi yöntemi bildirilmemiştir. Hastalığın ilerleme hızı ve seyri öngörülemezdir ve radyografik görüntü klinik belirtilerle genellikle uyumlu olmayabilir. Bazı hastalar femur başı çökmesinden sonra uzun bir süre semptom göstermeyebilirler. Ficat evre II osteonekrozun bile spontan remisyonu bildirilmiştir ancak bu durum nadirdir. Koltuk değneği ile yürüme veya yatak istirahati gibi konservatif tedaviler genellikle etkili olmazlar. Femur başını koruyucu bir cerrahi teknikten fayda sağlayabilecek semptomatik hastalar, geçen sürede çökme olasılığını önlemek amacıyla cerrahi tedaviden önce koltuk değneklerine alınabilirler. (68)

ARCO evre 0, I ve II, femur başının prekollaps osteonekrozunu temsil eder ve kalça koruyucu cerrahiler ve medikal tedavinin uygulandığı/denendiği evrelerdir. ARCO evre III ve IV ise artiküler yüzeyde çökmeyi temsil eder ve genellikle kalça resurfacing veya artroplasti gibi ciddi cerrahi girişimleri gerektirir. (68)

2.3.9.1 Femur başı osteonekrozunda konservatif tedavi: FBON tedavisinde farklı konservatif tedavi protokolleri mevcuttur. En çok kullanılan yöntemlerden bir tanesi tek başına veya başka tedavilere ek olarak yükten kurtarmadır. Asemptomatik AVN hastasının incelendiği bir çalışmada (819 hasta), ortalama 2,8 yıllık takip süresinde hastaların %78'inin cerrahi geçirdiği bildirilmiştir. Bu nedenle, femur başı osteonekrozunda etkili patofizyolojik mekanizmaları tersine çevirmeyi ve femur başı çökmesini önlemeyi amaçlayan tedavilerin geliştirilmesine olan ilgi ve ihtiyaç artmıştır. Tam yük, parsiyel yük ve yükten kurtarma arasında bir fark bulunamamıştır. Yükten kurtarmanın hastalığın ilerlemesini engellemekte tek başına yetersiz olabileceği ortak kabul görmüştür. Aktivite değişikliği, fizik tedavi ve ağırlık vermeyi kısıtlamak, femur başı osteonekrozu olan hastalarda eklem reaktif kuvvetlerini azaltır ve teorik olarak yeniden şekillenmeyi teşvik eder.

Özellikle koagülopati zemininde FBON olan hastalarda antikoagülan kullanımı hakkında çeşitli yayınlar mevcuttur. Glueck ve ark., yaptıkları klinik çalışmada enoksaparin tedavisinin trombofili-hipofibrinoliz mevcut olan hastalarda sıklıkla primer FBON'nun progresyonunu engelleyebileceğini yayınlamıştır. (73) Deneysel çalışmalarda

klopidogrel ve varfarinin de aynı amaçla kullanılabileceğini gösteren çalışmalar olmuştur. (74) (75)

Kemik dokunun yağ hücreleri ile infiltrasyonu ON' nin karakteristik bir özelliğidir. Kortikosteroid tedavisinin hiperlipidemiye yol açarak yağ hücresi boyutu ve hacminde büyümeye neden olduğu bilinmektedir. Kemik iliğindeki artmış yağ içeriğinin intraosseöz basıncı artırıp iskemi yaratabileceği ve buna bağlı FBON gelişebileceği hipotezi statinlerin FBON tedavisi ve profilaksisinde araştırılmasını beraberinde getirmiştir. Statinlerin hem hayvan çalışmalarında hem de klinik çalışmalarda steroid zemininde gelişen FBON insidansını azalttığı bildirilen çalışmalar mevcuttur. (76) (77)

Osteoklastik aktiviteyi azaltmaları sebebiyle bifosfonatlar, osteoporoz hastalarında kemik mineral yoğunluğunun artırılması için sıklıkla kullanılmaktadır. FBON'de subkondral kollapsa sebep olan, nekrozun kendisinden ziyade tamir sürecinin bir parçası olarak kemik yıkımının yarattığı mekanik zayıflıktır. Buradan yola çıkarak teorik olarak bifosfonat tedavisinin subkondral kollapsı önleyebileceği hipotezi öne sürülmüştür. Bazı kanıtlar erken evrede (prekollaps) bifosfonat kullanımının faydalı sonuçları olabileceğini göstermekle beraber, çelişkili veriler olup tedavi dozu ve süresi hakkında net kılavuzlar yoktur. (78) (79) (80)

Hiperbarik oksijen tedavisi, vazokonstriksiyon yaparak hücresel ödemi azaltır. Buna ek olarak intrasellüler oksijen düzeyini artırarak hücre düzeyinde iskemi ve intrasellüler basıncı azaltmakta, ayrıca anjiogenezi ve mikrosirkülasyonu da arttırmaktadır. (81)

ON tedavisinde elektrik stimülasyon ve ultrason kullanımı da tek başına ve başka tedavilere ek olarak incelenmiştir. (82) Massari ve ark.'nın Journal of Bone and Joint Surgery'de 2006 yılında yayınladığı bir çalışmada FBON tanılı 66 hastanın toplam 76 kalçasına pulse elektromanyetik alan stimülasyonu uygulanmıştır. Kalça ekleminin korunmasında veya ameliyata kadar olan süreyi uzatmada etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Kanıt düzeyi: IV). (83) Ancak sınırlı sayıdaki kanıt düzeyi yüksek çalışmada benzer sonuçlar elde edilemediğinden günlük pratiğe girmemiştir. (84)

2.3.9.2 Femur başı osteonekrozunda cerrahi tedavi: Cerrahi tedavi, femur başında çökme gerçekleşmesi beklenen ve belirtileri olan hastalarda tercih edilmelidir. FBON'u tedavi etmek için cerrahi yöntemler genellikle iki kategoride incelenebilir. Eklem koruyucu cerrahiler ve artroplasti. Eklem koruyucu cerrahi prosedürler; core dekompresyon, kemik grefti (vasküler veya vasküler olmayan) ile birlikte core dekompresyon, proksimal femoral osteotomi gibi özel prosedürler olarak sayılabilir. Eklem koruyucu cerrahiler genellikle çökme olmayan veya hafif çökme olan genç veya orta yaşlı (aktivite düzeyi yüksek) hastalarda tercih edilir. (85)

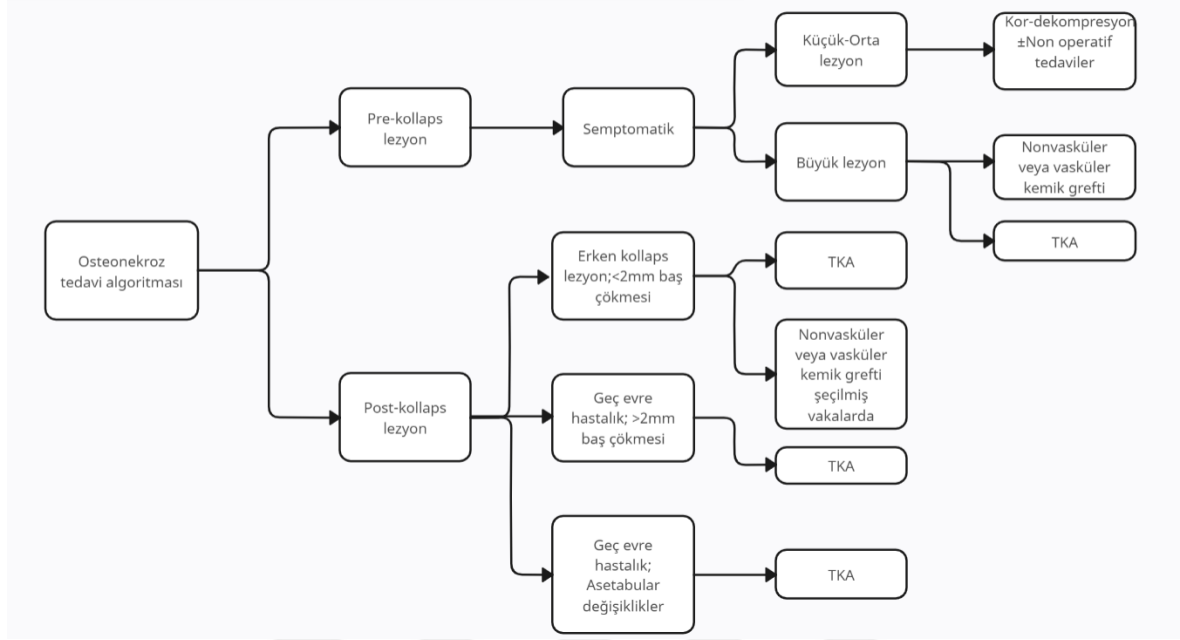
Core dekompresyon (CD), MR keşfedilmeden önce FBON hastalarına tanı koymak için biyopsi örnekleri almak amacıyla geliştirilmiştir. Ficat tarafından tanımlanmış olup pre kollaps lezyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Femur başının intraosseöz basıncını azaltması ve vasküler akışını geri kazandırması hedeflenmektedir. Yapılan bir çalışmada, CD uygulanan 133 kalça üzerinde iyi sonuçların elde edilmiştir. Hastalara yapılan ortalama 9.5 yıllık takip süresinden sonra minimal ilerleme gözlemlendiği saptanmıştır (58ob). CD hakkındaki mevcut öneriler, konservatif tedaviden daha etkili bir seçenek olduğunu belirtmektedir. CD, subkondral çökme bulgusu olmayan kalçalarda en iyi sonuçları verir. Bu nedenle Ficat evre I ve II için birinci basamak tedavidir. Ancak uzunca bir süredir bu prosedürle ilgili geniş bir literatüre rağmen, endikasyonlar hala net değildir.

Non vaskülarize kemik greftinin, teorik olarak, kalan subkondral kemiğe yapısal destek sağlaması nedeniyle CD'den üstün olması anlaşılabilmektedir. Kortikal otogreftler, trabeküler otogreftler ve allogreftler olmak üzere çeşitli greftleme teknikleri tanımlanmıştır. Phemister, ilium kemiği, tibia veya fibuladan elde edilen kortikal otogreftlerle CD ile oluşturulan kanalını doldurmayı yaygınlaştırmıştır. 2006'da yayınlanan bir çalışmada, CD ve tibia otogreft ile CD ve fibula allogrefti ile tedavi edilen 80 FBON hastası değerlendirilmiştir. Otogreft grubunun altı yıl boyunca belirgin olarak daha iyi bir sağkalım süresine sahip olduğu bildirilmiştir. Vaskülarize fibula grefti tekniğinde ise fibulanın merkezi kısmı ve arteri kullanılır. Vasküler pedikül, lateral cicumfleks femoral arterin dallarına anastomoz yapılır. Greft, core dekompresyon yapılan kanala yerleştirilir ve

bir K-teli ile fikse edilir. Genellikle endikasyonlar şunlardır; femur başında çökme belirtisi yoktur, kırıkta çökme <3 mm ve başın %50'sinden az tutulum mevcuttur. (86) Yapılan diğer bir çalışmaya göre, bu tekniğin başarısı, femur başının iyi bir dekompresyonuna, nekrotik kemiklerin temizlenmesine, artiküler yüzeyin korunarak üzerine oturtulmasına ve ilk haftalarda yük almaktan korumaya bağlıdır. Cerrahi teknik gereği mikrocerrahi becerilerin gerekliliğine de dikkat çekilir. (87)

Proksimal femoral osteotomiler, 20. yüzyılın başlarında kalça displazisi ve osteoartrit tedavisi için yetişkinlerde kullanımı yaygınlaşan tekniklerdendir. Varus ve valgus osteotomileri, eklem uyumunu arttırmayı ve yük taşıyıp bozulan eklem bölgesinin yerine etkilenmemiş eklem yüzeyini getirerek şikayetleri azaltmayı amaçlar. FBON tedavisinde amaç, intramedüller basıncı azaltmak ve kalça eklem mekanizmasını korumak için femur başındaki osteonekrotik segmenti yük taşımaktan kurtarmaktır. Osteotomi seçimi, nekrotik segmentin konumuna ve büyüklüğüne bağlı değişkendir. Mont ve arkadaşları, proksimal femur etrafında kullanılabilecek farklı osteotomileri yayınlamıştır. Bunlar genellikle intertrokanterik osteotomiler (valgus-fleksiyon ve varus) ile transtrokanterik (rotasyon) osteotomilerinden oluşur. (88) (89)

Çökme başladığında, kalça eklemi kaçınılmaz olarak son aşama artrite ilerler. Büyük lezyonlar ve ileri hastalık için seçenekler, yüzey kaplama artroplastisi ve total kalça artroplastisi olacaktır. Çökme meydana geldiğinde ve semptomlar artroplastiyi gerektirdiğinde, metal-metal yatak gibi yüzey kaplama artroplastisinin getirebileceği problemleri düşünüldüğünde, hastalar için TKA kullanımı daha çok tercih edilmektedir. (Şekil 16) Önceden, FBON hastalarında TKA klinik sonuçları, yüksek gevşeme, çıkık ve sınırlı sağkalım nedeniyle osteoartrit hastalarına kıyasla kötüydü. (90) Ancak modern TKA, genç yaş ortalamasına rağmen, osteoartrit hastalarıyla kıyaslandığında FBON hastalarının ana tedavi seçeneği olarak kabul edilmektedir. Bu durum, protezlerdeki önemli iyileştirmelerden (biyomalzemeler, tasarım ve poroz yüzey) ve modern cerrahi tekniklerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, FBON hastalarında TKA sağkalımı önemli ölçüde artmış ve osteoartrit hastalarındakiyle eşit hale gelmiştir. (91)

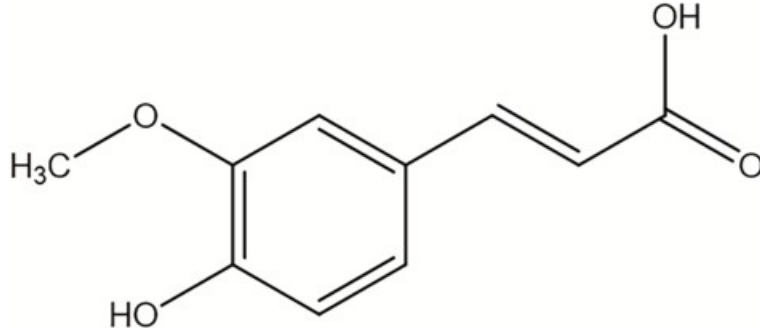


Şekil 16 Femur başı osteonekrozunda tedavi algoritması Mont et al , 2020 (89)

2.4. FERULİK ASİT

2.4.1 Ferulik Asitin Kimyasal Yapısı:

Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinamik asit, FA) ilk kez 1866 yılında kimyager Hlasiwetz Barth tarafından Ferula foetida'dan izole edilmiş ve 1925 yılında ise kimyasal olarak sentezlenmiştir. FA, sinamik asidin fenolik türevi olup cis ve trans yapılarına sahiptir. FA, oda sıcaklığında suda tam çözünmez ancak sıcak su, etil asetat, etanol ve etil eterde çözünür. (92) (93) (94) Ferulik asidin kimyasal yapısı Şekil 17’te verilmiştir.



Şekil 17 Ferulik asit kimyasal yapısı

2.4.2 Ferulik Asitin Doğal Kaynakları:

FA hem serbest formda hem de bitkilerin hücre duvarında polissakaritler, glikoproteinler, poliaminler, lignin ve hidroksi yağ asitleri ile kovalent olarak konjuge halde barınmaktadır. (95) FA'nın doğal kaynakları arasında pirinç, buğday, yulaf, meyveler, fasulye, kahve tohumları, enginar, fıstık ve fındık sayılabilir. Angelica sinensis, Cimicifuga racemosa ve Ligusticum chuangxiong gibi Çin bitkilerinin içerisinde de bulunur. (96) Bazı besin maddelerinin ferulik asit içeriği Tablo 4' te gösterilmiştir.

Tablo 4 Besinlerin ferulik asit içeriği

BESİN ÖGESİ	FA (MG/100MG)
Beyaz Ekmek	8.2
Makarna	12
Tahıl Kepeği	13-33
Domates	6
Patlıcan	7.3-35
Brokoli	4.1
Greyfurt	11
Portakal	9,5
Muz	5,4
Kahve	9.1-14.3
Angelica Sinensis	20-175
Cimicifuga Foetida	25
Ligusticum Chuangxiong	10.6
Kırmızı Pancar	25
Soya Fasülyesi	12
Fıstık	8.7
Ispanak	7.4
Kırmızı Lahana	6.3-6.5
Turp	4.6
Havuç	1.2-2.8
Taze Yeşil Fasulye	1.2
Avokado	1.1
Mısır	313

2.4.3 Ferulik Asitin Farmakokinetik Özellikleri:

FA, oral yol ile verildiğinde mide mukozasından hızlıca emilmeye başlar ve mide asidi tarafından değişikliğe uğramadan ince bağırsağa geçer. Kolonda yaklaşık %90 oranında pasif difüzyon ve çok az miktarda monokarboksilik asit taşıyıcısı aracılığı ile aktif taşıma ile emilir. Serum albümin, FA'nın başlıca taşıyıcı proteinidir. Sıçan midesinde FA inkübasyonundan 30 dakika sonra FA'nın %70'nin emilmesi ve gastrik mukoza, kan, safra ve idrarda bulunması FA'nın gastrik absorpsiyonunun hızlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca uygulanan FA'nın sadece %0,5-0,8'i feçesle atılması FA için çok verimli bir absorpsiyon oranı olduğunu göstermiştir. (97) Sodyum ferulatın oral yoldan verilmesinden 10 dakika sonra insan plazmasında serbest FA'nın saptandığı rapor edilmiştir, bu da serbest FA'nın insanlarda hızlıca emildiğini gösterir. Serbest FA'nın plazma konsantrasyonları oral uygulamadan 24 dakika sonra maksimum seviyelere ulaştığı gösterilmiştir. (95) (98) Oral yoldan verilen FA'nın mide mukozasında %4, kanda %10 ve karaciğer ve böbrek dahil olmak üzere diğer dokularda ise %53 oranında bulunduğu bildirilmiştir. (98)

Bitkilerde FA oluşumu, aromatik amino asitlerden L-fenilalanin ve L-tirozin ile başlayan şikimat yolunun metabolik yolağı ile gerçekleşir. Fenilalanin ve tirozin, sırasıyla fenilalanin amonyak liyaz ve tirozin amonyak liyaz yardımıyla sinnamik ve p-kumarik aside dönüştürülür. Hidroksilasyon ve metilasyon reaksiyonu ile p-kumarik asit FA'ya dönüştürülür. FA metabolizmasının ana yolu glukuronik asit ve/veya sülfat ile konjugasyon reaksiyonudur. FA konjugasyonu esas olarak karaciğerde sülfotransferazlar ve üridin difosfat glukuronosil transferazların aktiviteleri yoluyla gerçekleşirken, küçük miktarda da bağırsak mukozasında ve böbrekte gerçekleşir. (99) Plazmada modifiye edilmemiş FA'nın yalnızca düşük bir yüzdesi (~%9-20) bulunur. En çok miktarda bulunan FA metabolitleri glukuronid (~%3-20) ve sulfoglukuronid (~%60-90)'dir. Hem FA hem de metabolitleri serbest FA ve glukuronik konjugatları olarak idrar yoluyla böbreklerden atılır. FA'nın yarı ömrü, doz ve uygulama yoluna bağlı olarak sıçanlarda 10 ila 30 dakika arasında değişir. FA yarı ömrünün kısa olması sayesinde düşük toksisiteye sahiptir. (100) (95) Sıçanda ve insanda FA'nın ana farmakokinetik parametreleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5 FA (Ferulik asit) farmakokinetik özellikleri (99)

FA Farmakokinetik Özellikleri							
Biyoyararlanım(%)		Plazma proteinine bağlanma	Plazma doruk konsantrasyonuna ulaşma (dk)	Plazma doruk konsantrasyonu	Yarılanma ömrü(dk)	Metabolizma	Atılım
Sıçan	9-20	-	5-15	25 (70 mg/kg doz uygulandıktan sonra)	30	Karaciğer [glukuronid (%3-20) ve sülfoglukuronid (%60-90) türevleri]	İdrar
İnsan	~20	%70	24	2-3 (4,3µmol/kg doz sonrası)	42	Karaciğer (glukuronid, sülfoglukuronid ve glisin türevleri)	İdrar

2.4.4 Ferulik Asitin Genel Etkileri:

FA; antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanserojenik (akciğer, meme, kolon ve cilt kanseri), antimikrobiyal, antiviral, vazodilatör, antitrombotik, antidiyabetik olarak sıralanabilecek geniş spektrumlu etkilere sahiptir. Ayrıca cilt bakım formülasyonlarında ışıktan koruyucu bir bileşen olarak, gıda endüstrisinde lipid peroksidasyonunu önlemek için bir katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. (100) (101) (102) (103)

2.4.4.1 Ferulik asitin antioksidan etki mekanizması: FA'nın antioksidan özellikleri ilk olarak Japon araştırmacılar tarafından pirinç yağından elde edilen FA ile keşfedilmiştir. (104) Fenolik çekirdek ve karboksilik yan zincire sahip, rezonans stabilize bir fenoksi radikali olan FA'nın antioksidan etki mekanizması, doğrudan kimyasal yapısı ile ilgilidir. FA'nın benzen halkası üzerindeki 4-hidroksil grubu ve 3-metoksi grupları serbest radikallerin doğrudan temizlenmesi ve serbest radikalleri temizlemekten sorumlu olan antioksidan enzim aktivitesinden sorumlu kısımlarıdır. (94) (96) Doymamış C-C çift bağına bitişik terminal karboksil grubu FA'nın lipid tabakasına bağlanmasında rol oynayarak lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar. Bir serbest radikale karşılaşıncı FA'nın hidrojen atomu kolayca radikale transfer edilir ve oldukça kararlı bir fenoksi radikali oluşur. (105) FA serbest radikallerin oluşumunun inhibisyonu, serbest radikallerin temizlenmesi, demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatlanması ve lipid

peroksidasyonunun önlenmesinde çeşitli rolleri vardır. Sadece bir serbest radikal süpürücü değil, aynı zamanda serbest radikal oluşumunu katalize eden enzimleri inhibe etme yeteneğine sahip bir antioksidandır. (101) Son yıllarda yapılan çalışmalar, ferulik asidin oksidatif serbest radikalleri temizleyerek, ROS oluşumunu engelleyerek ve çeşitli sinyal yollarına katılarak antioksidan rolünü göstermiştir. (94)

2.4.4.2 Ferulik asitin antiinflamatuvar etki mekanizması: FA, inflamasyonda merkezi bir rol oynayan immün hücreleri ve makrofajlara etki ederek ROS, proinflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar mediatörlerin düzenlenmesinde rol alır (112) indomet). FA, IL-6, IL-1 β , TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri azaltarak, antiinflamatuvar sitokinlerin, belirli genlerin ekspresyonunu ve hücre sinyal yollarını modüle eden bazı antioksidan molekülleri artırarak antiinflamatuvar ajan olarak rol oynar. (105) Birçok çalışmada, FA'nın endometrit, akut respiratuvar distres sendromu, Alzheimer hastalığı, karaciğer ve böbrek işlev bozukluğu gibi çeşitli hastalıklarda güçlü bir antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. (94)

Bu bilgiler ışığında FA'nın daha önce steroid ile indükte edilen FBON modelinde etkisinin araştırılmamış olması ve bu modele eşlik eden inflamasyon ve oksidatif stres üzerinde iyileştirici etkisinin değerlendirilmemiş olması nedeniyle bu çalışma planlanmıştır.

2.4.4.3 Ferulik asitin endotel koruyucu etki mekanizması: Suzuki ve ark. FA (1-100 mg/kg) oral olarak verildikten sonra, spontan hipertansif (SHR) sıçanlarında sistolik kan basıncının (SBP) doz bağımlı şekilde anlamlı derecede azaldığını bulmuşlardır. (106) NO biyoyararlanımını artırarak, eNOS aktive ederek ve TNF-a ekspresyonunu inçhibe ederek koruyucu etki yapar. FA endotelin-1 (ET-1) reseptörünü antagonist etki ile vaşzodiladatör ve endotel koruyucu fonksiyonu vardır. (107)

2.4.4.4 Ferulik asitin antiapoptotik etki mekanizması: Bcl-2 artırarak Bak, bax gibi apoptotik mediatörleri azaltarak antiapoptotik etki yapar. (108) (109) Serebral arter oklüzyon modelinde, FA (100 mg/kg, i.v.) glial fibriller asidik protein (GFAP), mitokondriyal Bax, sitokrom C ve Kaspas-3'ün ekspresyonunu anlamlı derecede düşürmüş ve fosforile p-p38 MAPK/p38 MAPK oranını, fosforile Bad (p-Bad) ekspresyonunu ve

Bcl-2/Bax oranını sitoplazma ve mitokondriyalarda etkili bir şekilde geri kazandırmıştır. (110)

2.4.4.5 Ferulik asitin antiplatelet etki mekanizması: FA (50–200 μ M), adenosin difosfat (ADP), trombin, kolajen ve arakidonik asit (AA) gibi çeşitli trombosit agonistlerini doz bağımlı şekilde inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Ayrıca, FA (50–200 μ M), trombosit agonisti tarafından indüklenen hücre içi Ca^{2+} mobilizasyonunu ve tromboksan B2 (TXB2) üretimini azaltabilir. In vitro olarak, trombositler tarafından salgılanan serotonin düzeyindeki azalma, FA'nın trombin uyarımıyla indüklenen trombosit aktivasyonunu inhibe edebileceğini göstermektedir. Çalışma ayrıca, FA'nın (100 μ M, $p < 0.05$) P-selektin (trombosit aktivasyonunun bir göstergesi) ekspresyonunu anlamlı derecede azalttığını ve kolajen ile indüklenen trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini bulmuştur. (111) (112) (113) (114) Diğer bazı hastalılarda etkisi tablo 6' da özetlenmiştir.

Tablo 6 Ferulik asitin diğer hastalıklarda etkisi

Disease	Effeccts/mechanisms
Alzheimer's disease	$\downarrow$ Neuroinflammation ($\downarrow$ IL-1b) $\downarrow$ Apoptosis ($\downarrow$ caspase activation) $\downarrow$ β -secretase activity $\uparrow$ Cytoprotective systems (ERK1/2, Akt) $\uparrow$ Antioxidant enzymes (HO-1, Hsp70)
Cancer	$\uparrow$ Centrosome assembly ($\uparrow$ RABGAP1, CRP2) $\uparrow$ Antioxidant enzymes ($\uparrow$ SOD, CAT) $\downarrow$ Blockade cell cycle progression ($\uparrow$ SMC1L1, $\downarrow$ CCNA2, CCNB1, MYC, ODC1) $\downarrow$ COX-2 activity
Cardiovascular diseases	$\downarrow$ Hypertension ($\downarrow$ angiotensin II, $\uparrow$ NO synthesis, $\downarrow$ superoxide anion) $\uparrow$ Left ventricle performance $\downarrow$ Potassium channels and b-adrenoceptors $\uparrow$ Kidney function $\downarrow$ Serum lipids
Diabetes	$\downarrow$ NF-k β $\uparrow$ Plasma insulin $\downarrow$ Glycemia ($\uparrow$ glycogen synthesis, $\uparrow$ glucokinase) $\downarrow$ Maltase and sucrase activities $\downarrow$ Aldose reductase activity $\downarrow$ TGF- β $\uparrow$ Therapeutic effects of metformin and THD

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ÇALIŞMA PLANI

Bu tez çalışmasının hayvan deneyleri yerel etik kurul onayı; Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi (BADABEM)'den alınmıştır (Toplantı tarihi: 29.03.2024, Toplantı No: 2024/22, Proje No: 2024-05). Bu tez çalışması; deneysel hayvan çalışması şeklinde tasarlanmıştır. Çalışmamız tüm süre boyunca ETS-123, Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Omurgalı Hayvanların Korunması için Avrupa Konseyi Standartları'na (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) uygun olarak BADABEM'de tamamlanmıştır. Çalışma planlanırken klinik öncesi hayvan çalışma ve araştırmaları ile ilgili standart prosedürler tasarlandı ve uygulandı. (115)

Çalışmamız, ortalama ağırlığı 295 gram olan (275-320 gram); yaşları 11 hafta olan toplam 32 adet Sprague-Dawley cinsi genç-erişkin dişi sıçan ile gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar, günlük olarak, çalışma süresince 22°C sıcaklıkta olan bir ortamda 12 saat aydınlıkta ve 12 saat karanlıkta tutuldu. Çalışma boyunca, ilaç uygulama öncesi ve sonrası dönem ayırt edilmeksizin, limitsiz miktarda standart kemirgen yemi ve musluk suyu (ad libitum) imkânı verildi. Çalışmamızda kullanılan deney hayvanları, laboratuvar sorumlusu veteriner hekim Duygu Sultan Oran tarafından günlük olarak takip edildi.

Çalışmamızda kullanılan sıçanların tümünün sağlıklı olması, dişi cinsiyette olması, Sprague Dawley cinsinden olması, yaşlarının 11 hafta olması, herhangi bir sistemik hastalığının olmaması ve daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış olması çalışmaya dahil etme kriterlerimizdir. Çalışmadan hariç tutma kriterleri aşağıdaki durumlardan biri gerçekleştiğinde uygulanmıştır: veteriner hekimin uygun görmemesi, hayvanın proje boyunca %20'den fazla kilo kaybetmesi, düzenli yem ve su alamama, uyarılara belirgin derecede azalmış yanıt verme, enfeksiyon gelişmesi. (116)

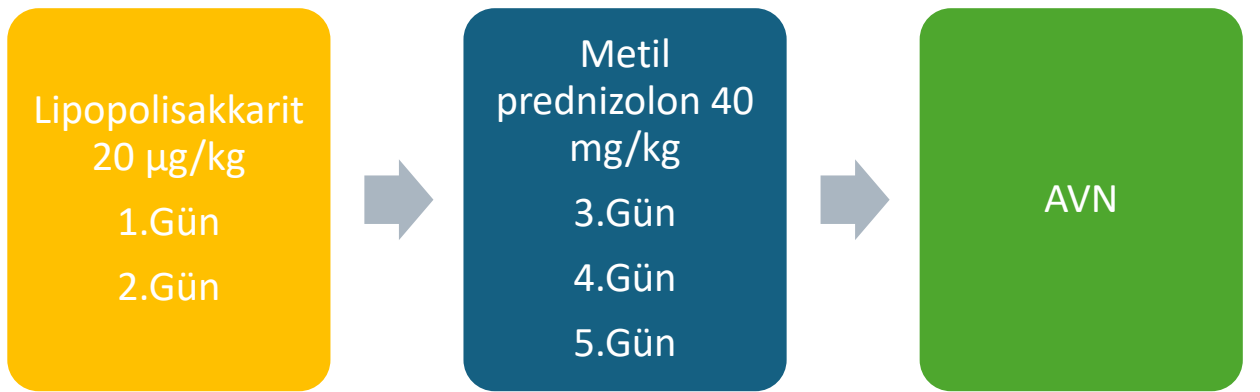
Çalışmamızda kullanılan hiçbir sıçan, çalışma için uygunsuz olacak herhangi bir kritere sahip olmadığı için çalışma dışına çıkarılmamıştır. FBON modeli uygulanmadan önce hiçbir hayvan ölmemiştir. FBON oluşturma sonrası 4. Gün çalışmaya dahil edilen 4

hayvan ölmüştür (2 kontrol grubu, 1 AVN grubu, 1 AVN+İlaç grubu). Çalışma tamamlanana kadar başka komplikasyon ve ölüm gerçekleşmemiştir.

3.1.1. Sıçanlarda Gruplama ve Femur Başı Osteonekroz Modeli Oluşturulması

Tüm sıçanlar, deneyin başlamasından önce altta yatan hastalık olasılığını dışlamak için hayvan bakım laboratuvarında 7 gün boyunca gözlemlendi ve takiplerinde problem görülmedi. Deneyde bir kontrol grubu ve diğer üç çalışma grubu olmak üzere toplam dört gruba ayrıldı. Her grupta 8 sıçan rastgele seçilerek toplamda 32 sıçan çalışmaya dahil edildi. 32 hayvan, eşit sayıda 4 gruba rastgele olarak ayrılarak ebatları 60x21x21 cm boyutunda olan toplam 4 kafeste 8 sıçan içerecek şekilde yerleştirildi.

Çalışmamızda, Dong ve arkadaşlarının kullandığı steroid ve lipopolisakkarit ile indüklenmiş femur başı osteonekroz modeli kullanılmıştır (117) FBON modeli oluşturulan 3. ve 4. gruplardaki toplam 16 sıçana; çalışmanın 1. ve 2. Günlerinde intraperitoneal yolla 20 µg/kg Lipopolisakkarit (LPS, Echerichia Coli O55:B5, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) iki doz olarak 24 saat ara ile verildi ve aynı sıçanlara 24 saat sonra 3., 4. ve 5. günlerde 24 saat ara ile üç doz intramüsküler yolla 40 mg/kg Metilprednizolon Sodyum Süksinat etken maddeli Prednol (Mustafa Nevzat İlaç Sanayi AŞ, Türkiye) ilacı uygulandı. (Şekil 18)



Şekil 18 AVN modeli ilaç uygulamaları

Çalışmanın toplam süresi dört hafta olup, dördüncü haftanın sonunda tüm gruplardaki sıçanlar genel anestezi altında intrakardiyak kan alma işlemi sonrası sakrifiye edilerek sağ femurları cerrahi olarak çıkartıldı. Deney hayvanları çalışma başında 4 eşit gruba ayrılmıştır. Grupların dağılımı tablo 7’ de özetlenmiştir.

Tablo 7 Deney hayvanları gruplaması

Deney Grupları	Grup Adları	Sıçan Sayısı
1.Grup Distile su	Kontrol	8
2. Grup FA	İlaç	8
3. Grup LPS+Steroid+ Distile su	AVN	8
4. Grup LPS+Steroid+FA	AVN+İlaç	8

1. Grup: Bu grup, '*Kontrol (K) grubu*' olarak adlandırılmıştır. Çalışma başlangıcında bu gruptaki tüm sıçanlara, ilk günden itibaren avn modeline ilaç yapıldığı her gün ve bir kez olmak üzere intraperitoneal/intramüsküler yolla salın solüsyonu verildi. Tüm sıçanlara, dört haftanın sonunda genel anestezi altında kan alınarak ve sakrifikasyon işlemi uygulanarak sonlandırıldı.

2.Grup: Bu grubumuz '*İlaç*' olarak tanımlanmıştır. Çalışma başında bu gruptaki tüm sıçanlara avn modeline ilaç yapıldığı her gün ve bir kez olmak üzere intraperitoneal/intramüsküler yolla salın solüsyonu verildi. Çalışma başından itibaren ise 50mg/kg dozda ferulik asit (Galenik İlaç) oral gavaj olarak verildi. Tüm sıçanlara dördüncü haftanın sonunda genel anestezi altında kan alma ve sakrifikasyon işlemi uygulanmıştır

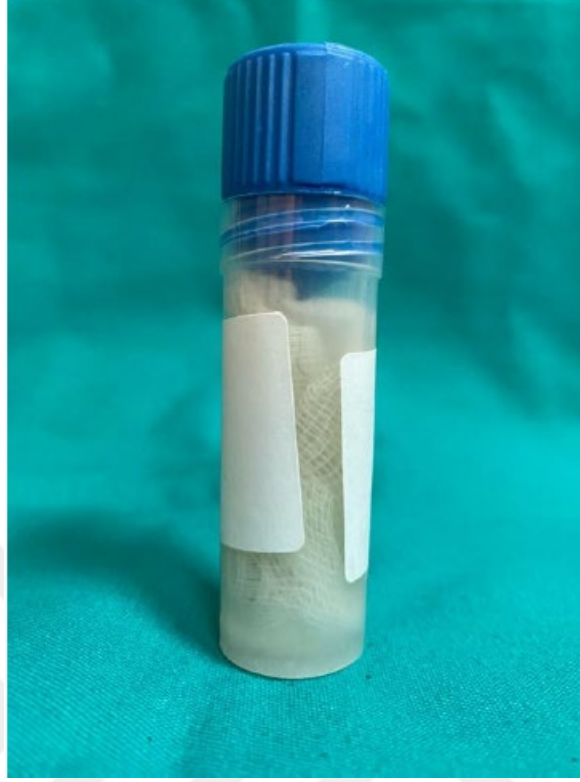
3.grup: Bu grubumuz '*AVN grubu*' olarak tanımlanmıştır. Bu gruptaki tüm sıçanlara femur başı osteonekrozu oluşturmak amacıyla literatürde belirtildiği şekilde uygulamalar yapılmıştır: İlk olarak, 1. ve 2. günlerde (24 saat arayla) 20 μ g/kg Lipopolisakkarit (LPS, Echerichia Coli O55:B5, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA) intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Ardından, 3., 4. ve 5. günlerde (24 saat arayla) birer doz olmak üzere intramüsküler yolla 40 mg/kg Metilprednizolon Sodyum Süksinat etken maddeli Prednol (Mustafa Nevzat İlaç Sanayi AŞ, Türkiye) ilacı uygulanmıştır. Dördüncü haftanın sonunda, tüm sıçanlara genel anestezi altında kan alma ve sakrifikasyon işlemi uygulanmıştır.

4.grup: Bu grubumuz ‘AVN+İlaç’ olarak adlandırılmıştır. Gruptaki tüm sıçanlara femur başı osteonekrozu oluşturmak amacıyla literatürde belirtildiği gibi aşağıdaki protokol uygulanmıştır: İlk olarak, 1. ve 2. günlerde (24 saat arayla) intraperitoneal yolla 20 μ g/kg Lipopolisakkarit (LPS, Echerichia Coli O55:B5, Sigma, St.Louis, MO, USA) uygulanmıştır. Daha sonra, 3., 4. ve 5. günlerde (24 saat arayla) birer doz olmak üzere intramüsküler yolla 40 mg/kg Metilprednizolon Sodyum Süksinat etken maddeli Prednol (Mustafa Nevzat İlaç Sanayi AŞ, Türkiye) uygulanmıştır. Çalışma süresince bu gruptaki tüm sıçanlara ilk günden başlamak üzere her gün 50mg/kg dozda ferulik asit oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Tüm sıçanlara dördüncü haftanın sonunda genel anestezi altında kan alma ve sakrifikasyon işlemi uygulanmıştır.

Ferulik asit, Galenik İlaç (Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Çözücü olarak dimetilsülfoksit (DMSO) ve distile su karışımı kullanılmış olup günlük olarak hazırlanarak oral yolla uygulanmıştır.

Tüm denekler, dördüncü haftanın sonunda anestezi altında kan alındıktan sonra sakrifiye edildi ve femur kemikleri çıkarıldı. Cerrahi teknik kısmında anlatılacağı şekilde femur kemiklerinin çıkarılması işlemi uygulandı. Çalışma prosedürü içinde model oluşturma, kan alma ve ameliyat işlemleri, tüm hayvanlar için aynı cerrah tarafından uygulandı.

Tüm kemikler, histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler için %10'luk formaldehit çözeltisi içeren kaplarda ve her bir kapta bir kemik olacak şekilde femur kemikleri gazlı beze sarılarak bu kaplara yerleştirildi (Şekil 19). Daha sonra hastanemiz patoloji bölümünde formik asit ve nitrik asit ile dekalsifikasyon işlemine tabi tutuldu. Histolojik inceleme için hazırlandı.

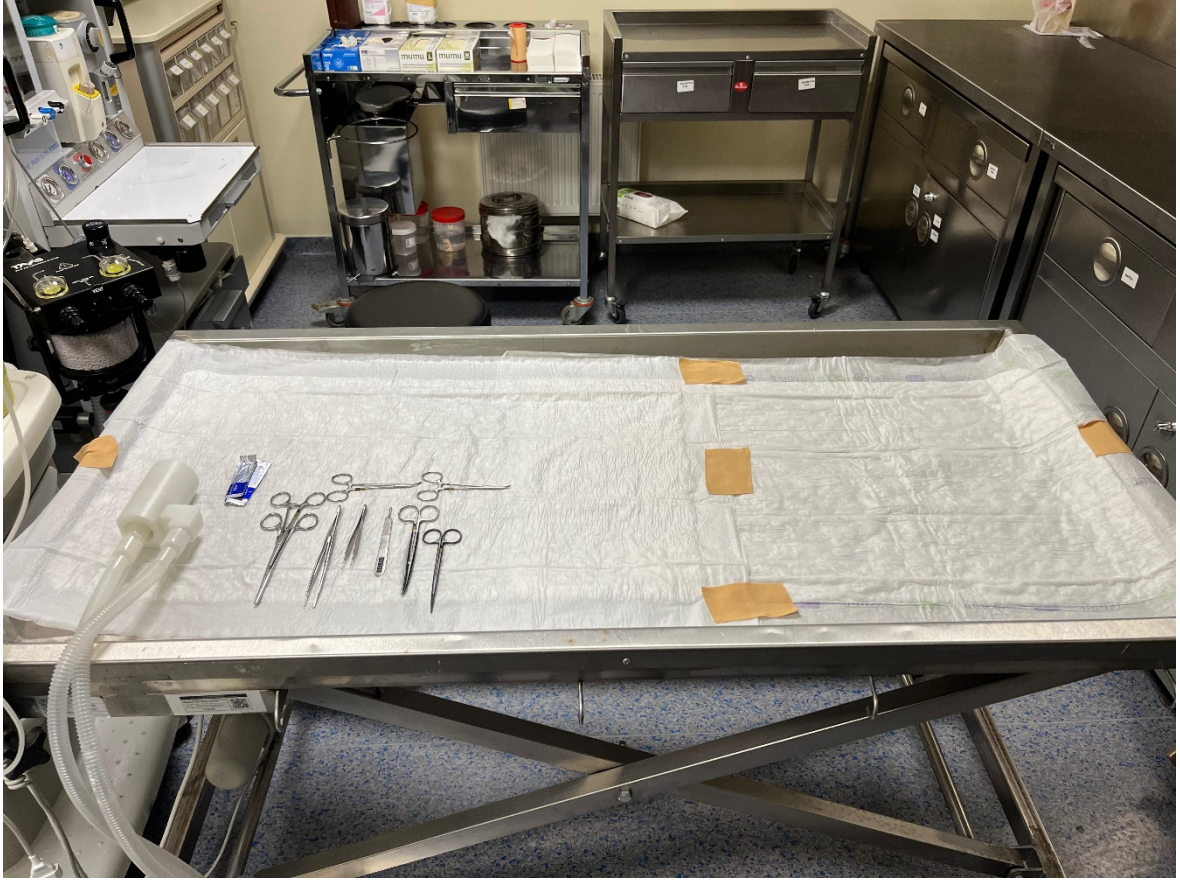


Şekil 19 Çıkarılan femur kemiği formolde saklanması

3.2. CERRAHİ TEKNİK

3.2.1. Anestezi

Dördüncü haftanın sonunda tüm sıçanlara BADABEM operasyon salonu-1 'de genel anestezi uygulandı. (Şekil 20) Her bir sıçanın ağırlığı, elektronik tartı ile alınarak kaydedildi ve genel anestezi için gerekli olan dozlar belirlendi. İntraperitoneal 80 mg/kg Ketamin HCl (*Ketalar®*, Pfizer, Türkiye) ve intraperitoneal 5 mg/kg Ksilazin HCl (*Rompun®*, Bayer, Türkiye) verilerek genel anestezi uygulandı. Tüm deneklerin anestezi ilaç uygulaması sonrası ile intrakardiyak kan alma işlemi yapıldı. Bunlar daha sonra serumdan biyokimyasal olarak değerlendirme yapılmak üzere santrifüj edildi. Kan alma işleminden sonra tüm sıçanlar genel anestezi altında iken servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edildi.



Şekil 20 BADABEM Ameliyathane-1salonu

3.2.2. Cerrahi Teknik

Sakrifikasyon sonrası, tüm sıçanların aynı cerrah tarafından opere edildi. Aynı cerrahi yaklaşımla (lateral yaklaşım) femur kemikleri çıkarıldı. Çalışmamızda kullanılan sıçanlar ameliyat masasına alındı ve sakrifikasyonun ardından sağ kalça ve uyluk bölgeleri tıraş edildi (Şekil 21). Sağ uyluk lateralinde trokanter major ve femur diafizi palpe edilerek yaklaşık 3 cm posterolateral cilt insizyonu ile girildi. Süperfisyel gluteal kas ve tensor fascia lata kesilerek orta ve derin gluteal kaslar ortaya çıkarıldı, ardından bunlar öne doğru çekilerek eklem kapsülü görüldü. Eklem kapsülü kesilerek femurun başı ortaya çıkarıldı. Femur dışa döndürülerek round ligament görünür hale getirilip kesildi. Ardından femur başı asetabulumdan çıkarıldı. (118) Daha sonra aynı insizyondan distalde diz eklemine

kadar devam edilip kaslar sıyrılarak tüm femur, femur başına zarar verilmeden çıkartıldı (Şekil 22).



Şekil 21 Cerrahi alanın tıraş edilmesi ve insizyonun belirlenmesi



Şekil 22 Yumuşak dokulardan arındırılmış sıçan femuru

3.3. HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOMORFOMETRİK İNCELEMELER

Tüm örnekler kemik nekrozu varlığı açısından histopatolojik incelemeye tabi tutulmak üzere uzun kemiklerinden arındırılan tüm femur başları %10'luk tamponlu formol solüsyonunda bir hafta boyunca fikse edildi. Fiksasyonun ardından %10'luk formik asit solüsyonunda 10 gün boyunca, 48 saat süreyle de nitrik oksit içerisinde dekalsifiye edildikten sonra kasetlere alındılar. Daha sonra, kapalı sistem doku takip cihazında alkol, aseton, ksilen ve parafin aşamalarından geçerek dehidrate edildi. Parafin bloklama işlemi yapıldıktan sonra, her bir bloktan 3-4µm kalınlığında longitudinal kesitler alındı ve her bloğun birer preparatına hematoksilin-eozin (H+E) boyaması uygulandı. Boyanmış lameller otomatik kapama sistemine yerleştirilerek kapatıldı. Histopatolojik inceleme için Olympus DP21 ışık mikroskobu ve fotoğraflama için Olympus cellSens Entry programı kullanıldı. Osteonekroz varlığı, femoral baş morfolojisi, trabeküler kemiklerin morfolojisi ve kemik iliği içeriği incelendi ve gruplar arasında karşılaştırıldı. Ayrıca, piknotik hücreler, boş lakünler ve trombuslu damarlar sayılarak yüzdeleri ve ortalamaları hesaplandı ve gruplar arasında karşılaştırıldı.

Histomorfometrik ölçümler için Olympus DP21 mikroskobu Olympus cellSens Entry programı ve ToupTek ToupView görüntü analiz yazılımı kullanıldı. Tüm parametreler literatüre ve standart terimlendirmeye uygun olarak ifade edildi. (119) (120)

Femoral baştaki toplam alan ve hacim, trabeküler kemik alanı ve hacmi, toplam çevre ve trabeküler kemik çevresi hesaplandı. Histomorfometride genel kemik yapısı için şu parametreler hesaplandı ve gruplar arasında karşılaştırmaları yapıldı:

- ☐ Kemik hacmi / toplam hacim (% BV/TV)
- ☐ Trabeküler kemik çevresi / toplam hacim (BS/TV, mm²/mm³)
- ☐ Trabeküler kemik çevresi / Kemik hacmi (BS/BV, mm²/mm³)
- ☐ Trabeküler kalınlık (Tb.Th, µm)
- ☐ Trabeküler sayı (Tb.N, mm⁻¹)

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Femur başı dokusunda apoptoz yolaklarının belirlenmesi için anti-apoptotik protein Bcl-2 ve vasküler hasarın belirlenmesi için platelet/endotelyal hücre adezyon molekülü 1 (PECAM / CD31) ve vasküler endotelyal büyüme faktörüne (VEGF) karşı antikörler kullanıldı. Bu işaretlenmiş monoklonal ve poliklonal antikörler kullanılarak Streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama uygulandı. Bu işlem için ışık mikroskopik incelemelerde kullanılmak üzere hazırlanan parafin bloklardan, 3-4 µm kalınlığında poli-L-lizin kaplı lamalar üzerine alınan longitudinal kesitler, 58°C etüvde 1 gece süreyle deparafinize edildikten sonra, azalan dereceli alkollerle rehidrate edildi. Isı ve/veya mikrodalga ışıyım yollarıyla antijeni ortaya çıkarma işleminden sonra kesitler endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için %0,3'lük H₂O₂ çözeltisinde bekletildi. Daha sonra parafin kesitlerin tümü hidrofobik bir kalem ile sınırlanacak ve her bir doku kesiti, immün boyama için kullanılan kitin prosedürüne uygun olarak bloklama solüsyonunda bekletildi.

Bu işlemden sonra bloklama solüsyonu ortamdan uzaklaştırıldı ve dokular 1 gece boyunca optimal dilüsyonda yukarıda belirtilen primer antikörler kullanılarak +4°C' de nemli ortamda inkübe edildi. Daha sonra 0.01 M fosfat tamponlu salin (PBS-Phosphate buffered saline) ile yıkayıp 15 dk. sekonder antikorda inkübe edildi, ardından PBS ile yıkayıp 15 dk. HRP streptavidin-kompleks ile muamele edildi. Boyamalarda kromojen olarak DAB (3,3'-Diaminobenzidine) kullanıldı. PBS ile yıkama sonrası rehidrate edilen kesitler aköz kapama solüsyonu ile kapatıldı.

Spesifik immün işaretlenmenin varlığı negatif ve pozitif kontrol boyamaları ile karşılaştırmalı olarak mikroskop altında saptandı. Negatif kontrol için seçilen doku örneğinde bütün prosedür aynen uygulandı, ancak primer antikör yerine antikör dilüent kullanıldı. İlgili antijenlerle pozitif immün işaretlenme gösteren beş bölge boyanma şiddeti açısından semi-kantitatif olarak değiştirilmiş H-SCORE ile analiz edildi. Beş bölge için iki araştırmacı tarafından 0-300 arasında skorlar verildi ve ortalamaları alındı. Böylece bu proteinlerin femur başı lokalizasyonları belirlenip, proteinlerin ekspresyonlarındaki değişiklikler ve bölgesel farklılıklar semi-kantitatif olarak saptandı. (121)

3.5. İSTATİKSEL YÖNTEMLER

Tüm bulguların istatistikleri GraphPad Instat ver. 3.06 (GraphPad Inc, CA, ABD) bilgisayar programı ile yapıldı. Tüm numerik verilerin sonuçları ortalama $\pm$ standart sapma olarak ve tüm kategorik değişkenler mevcut hayvan sayısı / toplam hayvan sayısı olarak kaydedildi. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov and Smirnov testi ile test edildi. Kategorik değişkenler Chi-squared Test for Independence testi ile karşılaştırıldı. Normal dağılım gösteren numerik değişkenler one-way Analysis of Variance (ANOVA) testi ile karşılaştırıldı ve post-hoc testi olarak Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen numerik değişkenler ise Kruskal Wallis (Nonparametric ANOVA) testi ile karşılaştırıldı ve post-hoc olarak Dunn's Multiple Comparisons Test kullanıldı. $p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0,001$ değerleri farklı gruplar için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6. ÇIKAR ÇATIŞMASI (CONFLICT OF INTEREST)

Bu tez projesine katılan tüm araştırmacılar; çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

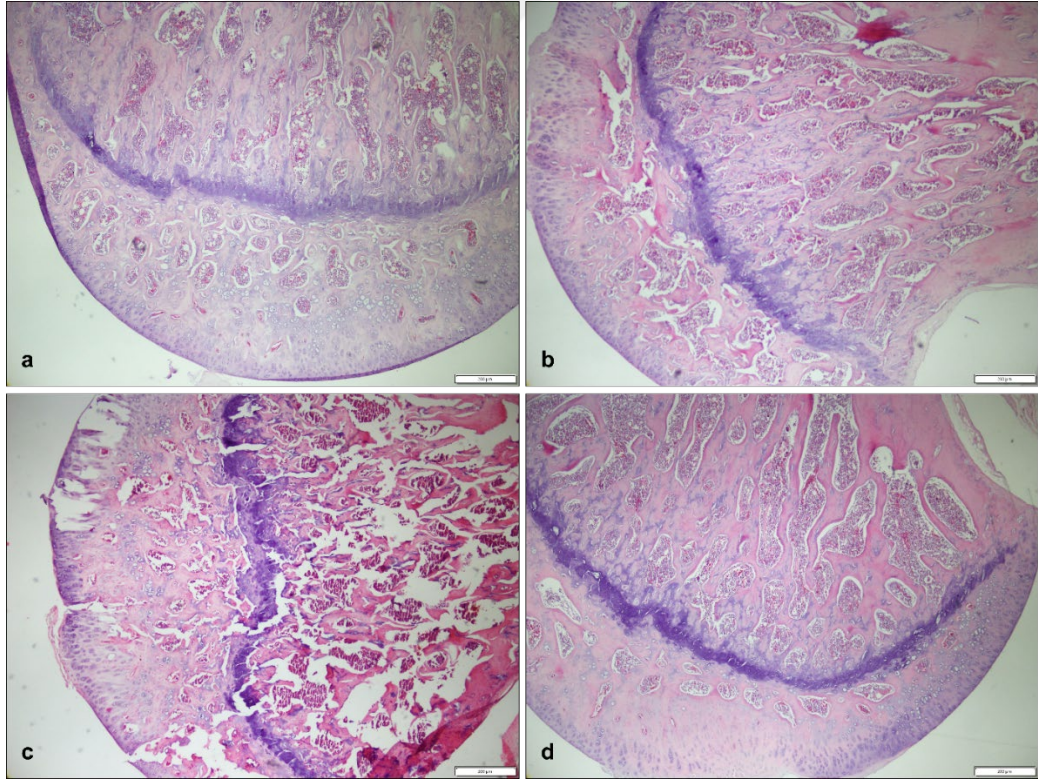
4. BULGULAR

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Avasküler nekroz modelinde ferulik asitin femur başı dokusundaki histopatolojik etkilerini incelemek amacıyla her bir femur başından longitudinal olarak alınan kesitleri, Hemotoksilen ve Eozin boyanarak ışık mikroskobu altında iki patolog tarafından incelendi ve fotoğraflandı (Şekil 23). Osteonekroz varlığı kemik trabeküllerinde boş lakünlerin veya piknotik nukleuslu osteositlerin varlığı ve difüz dağılımına eşlik eden ve ek olarak kemik iliğinde nekroz varlığıyla tanımlandı. Kontrol ve ilaç grubuna kıyasla AVN grubunda, femur başında belirgin nekrotik alanlar, anomaliler ve soluk görünümlü anterolateral alanlar saptandı. Ayrıca kemik trabeküllerinin kontrol grubuna kıyasla yer yer incelmış olduğu, hayvanların çoğunda düzensiz olduğu, aralıklı yerleştikleri ve dokuda boşlukların meydana geldiği saptandı. Trabeküllerde seyrek osteositler ve çok sayıda piknotik hücreler ve boş lakünlere rastlandı. Bu gruptaki hayvanların birinde fibrozis izlenirken, granülasyona ve apozisyona hiçbir hayvanda rastlanmadı. Yine AVN grubunda kemik

iliğinin, kontrol grubuna kıyasla normal morfolojisini kaybettiği, adiposit üç hayvanda arttığı ve makrofaj sayısının da iki hayvanda arttığı görüldü. Bu grubun beş hayvanında kemik iliği hücrelerinin azaldığı ve buna nekroz ve hemorajinin eşlik ettiği tespit edilirken üç hayvanda trombüs belirlendi (Şekil 23).

AVN grubuna kıyasla ilaç verilen grupta femur başında osteonekrozun ve anomalilerin azaldığı ancak soluk görünümlü anterolateral alanların benzer olduğu saptandı. Ayrıca kemik trabeküllerinin kontrol grubuna benzer şekilde bütün ve düzenli yapısını koruduğu, boşlukları ve aralıkların yok olduğu görüldü. Trabeküllerde osteosit sayısının normale döndüğü ve piknotik hücrelerin ve boş lakünlerin sayısının azaldığı tespit edildi. İlaç uygulanan beş hayvanda kontrol grubuna benzer şekilde kemik iliğinin normal morfolojisini koruduğu ve iki hayvanda adiposit sayısının arttığı görüldü. Bu grubun iki hayvanında kemik iliği hücrelerinin azaldığı ve birinde trombüs ve makrofajların eşlik ettiği belirlendi. Sadece ilaç uygulanan grupta üç hayvanda hematopoetik hücre sayısının arttığı gözlenirken trombüse rastlanmadı (Şekil 23).



Şekil 23 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. Hematoksilin + Eozin, 40x.

Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin histopatolojik değerlendirmelerinin gruplara göre dağılımı ve istatistiksel karşılaştırılması Tablo 8’de sunulmuştur. AVN bulguları ve femur başı anomalileri bulguları gruplar arasında karşılaştırıldığında kontrol ve ilaç grubunda avasküler nekroz ve femur başı anomalisi gözlenmezken (0/6 ve 0/8), AVN grubunda altı hayvanda osteonekrozun indüklendiği bulguları saptandı. Ferulik asit verilen AVN+İlaç grubunda ise sadece üç hayvanda avasküler nekroz tespit edildi ($p=0,0010$). AVN grubunda üç hayvanda ve AVN+ilaç tedavisi grubunda sadece 1 hayvanda femur başı anomalisi saptandı ancak gruplar arasında femur başı anomalisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,0719$).

Trabeküler yapı kontrol grubunda tüm hayvanlarda düzenli görünüm sergilerken, AVN grubunda altı hayvanda belirgin düzensizlik saptandı. Ferulik asit tedavisi alan AVN+İlaç grubunda, düzensiz trabeküler yapı oranı AVN grubuna kıyasla daha düşük bulundu ($p=0,0078$). İnce trabeküller AVN grubunda altı hayvanda gözlenirken, sadece ilaç ve AVN+İlaç grubunda ikişer hayvanda tespit edildi ($p=0,0093$). Trabeküllerde aralıklı/boşluklu yapı AVN grubunda belirgin şekilde artmış olduğu, AVN+İlaç grubunda kısmen azaldığı, ancak istatistiksel olarak sınırda anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p=0,0698$). Tüm gruplar arasında sadece AVN grubunda bir hayvanda kırık trabeküller tespit edildi ($p=0,3748$). Hiçbir hayvanda granülasyona saptanmazken AVN grubunda sadece bir hayvanda fibrozis belirlendi ($p=0,3748$) (Tablo 8).

Belirgin osteositlerin kontrol ve ilaç grubunda sırasıyla altışar hayvanda korunduğu, AVN grubunda belirgin osteositlerin azaldığı, seyrek osteositlerin ise arttığı tespit edildi. AVN+İlaç grubunda ise osteosit sayısı AVN grubuna kıyasla daha yüksek bulundu ($p=0,0052$), bu da ferulik asitin osteosit kaybını azaltıcı etkisini desteklemektedir.

Kemik iliğinin normal yapısı kontrol grubunda tüm hayvanlarda korunurken, AVN grubunda altı hayvanda belirgin bozulmalar saptandı. AVN+İlaç grubunda kemik iliği normal yapısının korunduğu hayvan sayısının, AVN grubuna kıyasla daha yüksek olduğu tespit edildi ($p=0,0018$). Kemik iliğinde adiposit değişimleri, trombus ve makrofaj miktarı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark belirlenmedi ($p>0,05$). AVN grubunda hematopoietik hücre sayısının diğer gruplara kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı ($p=0,0193$) ve ilaç verilen gruplarda arttığı tespit edildi ($p=0,1399$) (Tablo 8).

Piknotik hücre sayısı oranı AVN grubunda belirgin şekilde arttığı (7,0 [4,0–10,1]), ferulik asit uygulaması sonrası bu oranın anlamlı şekilde düştüğü görüldü (3,5 [2,0–4,0], $p<0,0001$). Benzer şekilde, boş lakün yüzdesi AVN grubunda belirgin şekilde yükseldiği (6,0 [5,0–8,0]), ferulik asit uygulanan grupta anlamlı bir azalma olduğu izlendi (3,0 [3,0–5,0], $p<0,0001$) (Tablo 8).

Histopatolojik değerlendirmeler, steroidle indüklenen osteonekroz modelinde ferulik asit uygulamasının kemik yapısını koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle trabeküler yapıdaki düzensizliğin azalması, osteosit kaybının önlenmesi ve kemik iliği yapısındaki bozulmanın hafiflemesi, ferulik asitin potansiyel koruyucu rolünü desteklemektedir.

Tablo 8 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin histopatolojik değerlendirmelerinin gruplara göre dağılımı ve istatistiksel karşılaştırılması

PARAMETRE	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ
AVN BULGULARI	0/6	0/8	6/7	3/7	0,0010
FEMUR BAŞI ANOMALİSİ	0/6	0/8	3/7	1/7	0,0719
KEMİK TRABEKÜLLERİ	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ
DÜZENLİ	6/6	6/8	1/7	4/7	0,0078
KISMEN DÜZENLİ	0/6	2/8	1/7	2/7	
DÜZENSİZ	0/6	0/8	5/7	1/7	
İNCE	0/6	2/8	6/7	2/7	0,0093
ARALIKLI/BOŞLUKLU	1/6	1/8	5/7	2/7	0,0698
KIRIK	0/6	0/8	1/7	0/7	0,3748
GRANÜLASYON	0/6	0/8	0/7	0/7	-
FİBROZİS	0/6	0/8	1/7	0/7	0,3748
OSTEOSİTLER	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ
BELİRGİN	6/6	8/8	2/7	5/7	0,0052
SEYREK	0/6	0/8	5/7	2/7	
KEMİK İLİĞİ	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ

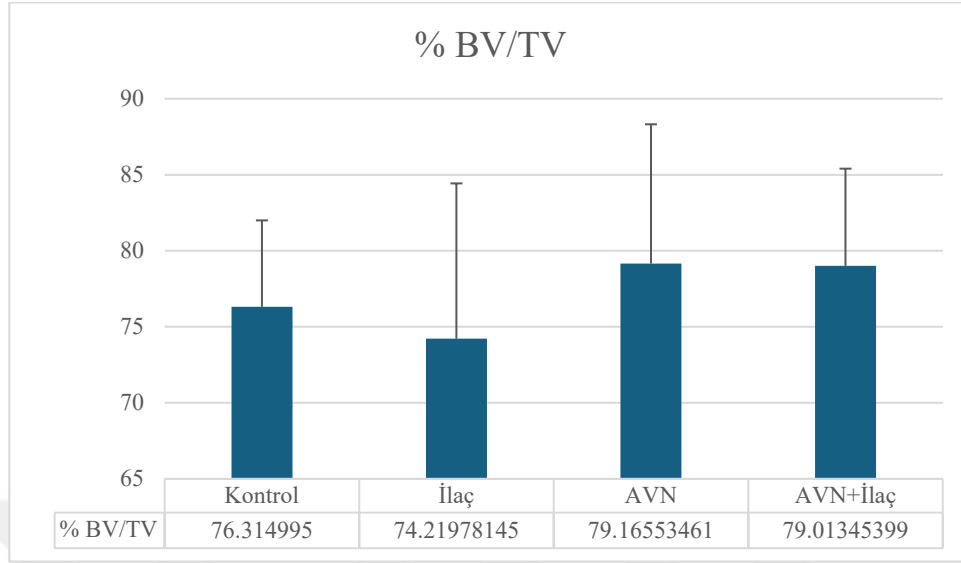
NORMAL	6/6	7/8	1/7	5/7	0,0018
ARTMIŞ ADİPOZİT	2/6	1/8	3/7	2/7	0,6195
BÜYÜK ADİPOZİT	0/6	0/8	0/7	0/7	-
TROMBUS	1/6	0/8	3/7	1/7	0,188
MAKROFAJ	1/6	1/8	2/7	1/7	0,8564
ARTMIŞ HH	0/6	3/8	0/7	2/7	0,1399
AZALMIŞ HH	1/6	0/8	5/7	2/7	0,0193

	Median [Min-Maks]				
	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ
PİKNOTİK HÜCRE (%)	1,0 [0,0 –10]***	1,5 [0,0 – 2,0]**	7,0 [4,0 –10,0]	3,5 [2,0 – 4,0]*	<0,0001
BOŞ LAKÜN (%)	1,0 [0,0 – 2,0]***	1,0 [0,0 – 2,0]***	6,0 [5,0 – 8,0]	3,0 [3,0 – 5,0]**	<0,0001

X/N Mevcut hayvan sayısı / Toplam hayvan sayısı, HH: Hematopoetik hücreler, $\bar{X} \pm SS$: Ortalama $\pm$ Standart Sapma. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ ve $P < 0,001$ vs AVN grubu

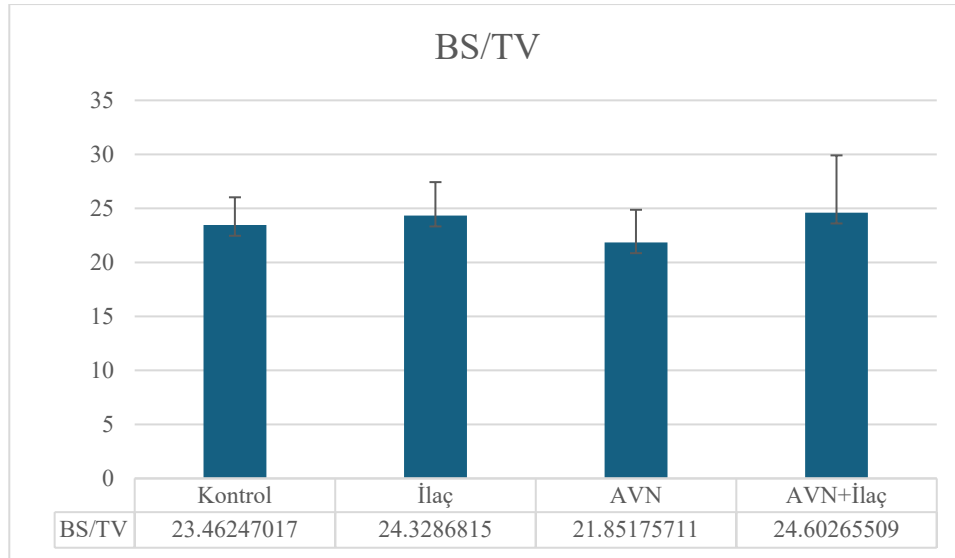
4.2. HİSTOMORFOMETRİK BULGULAR

Avasküler nekroz modelinde femur başının genel trabekül yapısının histomorfometrik indeksleri Tablo 9’de verilmiştir. Kemik hacminin doku hacmine oranı (BV/TV) kontrol grubunda $76,31 \pm 5,69$ olarak ölçüldü. AVN grubunda bu oran $79,17 \pm 9,16$ ile benzer düzeydeydi. İlaç grubunda BV/TV oranı $74,22 \pm 10,22$, AVN+İlaç grubunda ise $79,01 \pm 6,39$ olarak saptandı. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p=0,7876$). (Şekil 24)



Şekil 24 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından kemik hacminin doku hacmine oranlarının (%BV/TV) karşılaştırılması $p=0,7876$

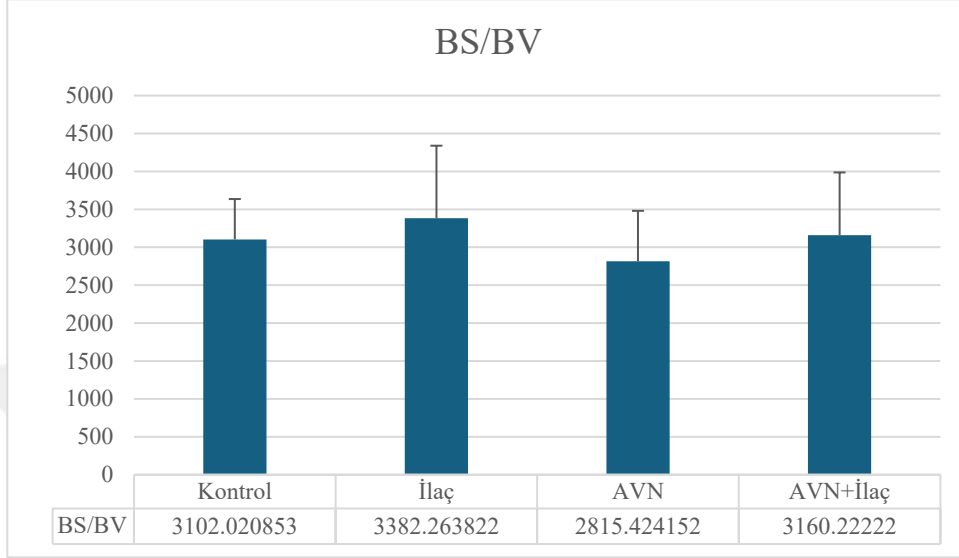
Kemik yüzeyinin doku hacmine oranı (BS/TV) açısından gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmedi ($p=0,3958$). Kontrol grubunda $23,46 \pm 2,56$, AVN grubunda ise $21,85 \pm 3,02$ olarak ölçüldü. Ferulik asit tedavisi sonrası AVN+İlaç grubunda değer $24,60 \pm 5,30$ olarak tespit edildi (Tablo 9). (Şekil 25)



Şekil 25 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından trabeküler kemik çevresinin toplam hacme oranlarının (BS/TV, mm²/mm³) karşılaştırılması $p=0,3958$

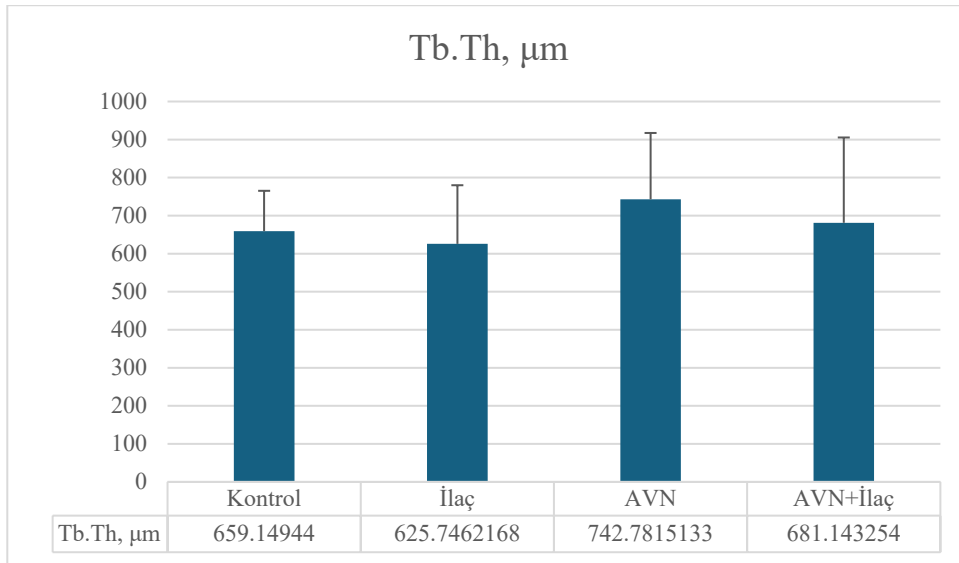
Trabeküler yüzey alanının kemik hacmine oranı (BS/BV) kontrol grubunda $3102,0 \pm 533,8$, AVN grubunda $2815,4 \pm 664,8$ olarak ölçüldü. AVN+İlaç grubunda ise değer

3160,2 ± 826,5 olup, ferulik asit tedavisinin bu parametre üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı gözlemlendi (p=0,5651) (Tablo 9). (Şekil 26)



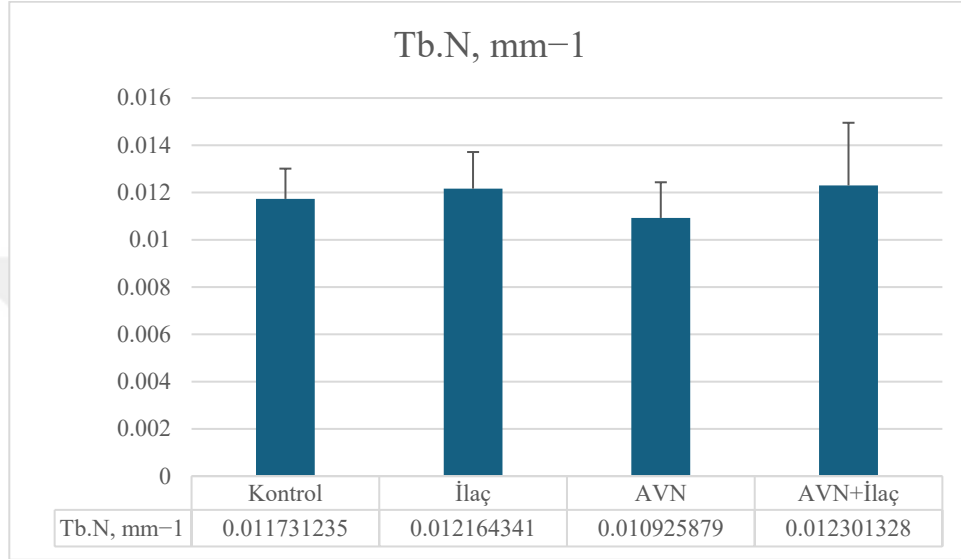
Şekil 26 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgular p = 0.5651

Femur başı trabeküler kalınlığı (Tb.Th) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p=0,5974). Kontrol grubunda trabeküler kalınlık 659,15 ± 106,13 µm, AVN grubunda 742,78 ± 174,55 µm, AVN+İlaç grubunda ise 681,14 ± 224,32 µm olarak saptandı (Tablo 9). (Şekil 27)



Şekil 27 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından trabeküler kalınlıkların (Tb.Th, µm) karşılaştırılması p=0,5974

Trabeküler sayılar (Tb.N) incelendiğinde, AVN grubunda trabeküler sayıda hafif bir düşüş gözlemlendi ($0,011 \pm 0,002$). Kontrol grubunda bu değer $0,012 \pm 0,001$, AVN+İlaç grubunda ise $0,012 \pm 0,003$ olarak ölçüldü. Ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,3957$) (Tablo 9). (Şekil 28)



Şekil 28 Femur başı osteonekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik bulgularından trabeküler sayıların (Tb.N, mm-1) karşılaştırılması $p=0,3957$

Histomorfometrik analizlerde, avasküler nekrozun modelinde ferulik asit uygulamasının, BV/TV, BS/TV, BS/BV, Tb.Th ve Tb.N gibi parametrelerde belirgin bir iyileşme sağlamadığı, ancak trabeküler yapıyı koruma eğilimi gösterdiğini belirlendi. Çalışmanın bulguları, ferulik asitin histomorfometrik iyileşmeye katkı sağlamak için uzun vadeli bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Tablo 9 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin histomorfometrik indeksleri ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ
PARAMETRELER	X ± SS				
BV/TV (%)	76,31 ± 5,69	74,22 ± 10,22	79,17 ± 9,16	79,01 ± 6,39	0,7876
BS/TV (mm ² /mm ³)	23,46 ± 2,56	25,33 ± 3,10	21,85 ± 3,02	24,60 ± 5,30	0,3958

BS/BV, mm²/mm³	3102,0±533,8	3382,3±956,9	2815,4±664,8	3160,2±826,5	0,5651
Tb.Th, µm	659,15±106,1	625,75±154,1	742,78±174,5	681,14±224,3	0,5974
	3	9	5	2	
Tb.N, mm⁻¹	0,012±0,001	0,012±0,002	0,011±0,002	0,012±0,003	0,3957

X ± SS: Ortalama ± Standart Sapma, BV/TV: Kemik hacminin doku hacmine oranının ortalaması, BS/TV: Trabeküler kemik çevresinin toplam hacme oranı, BS/BV: Trabeküler kemik çevresinin kemik hacmine oranı, Tb.Th: Femur başı trabeküler kalınlıkları, Tb.N: Femur başı trabeküler sayıları

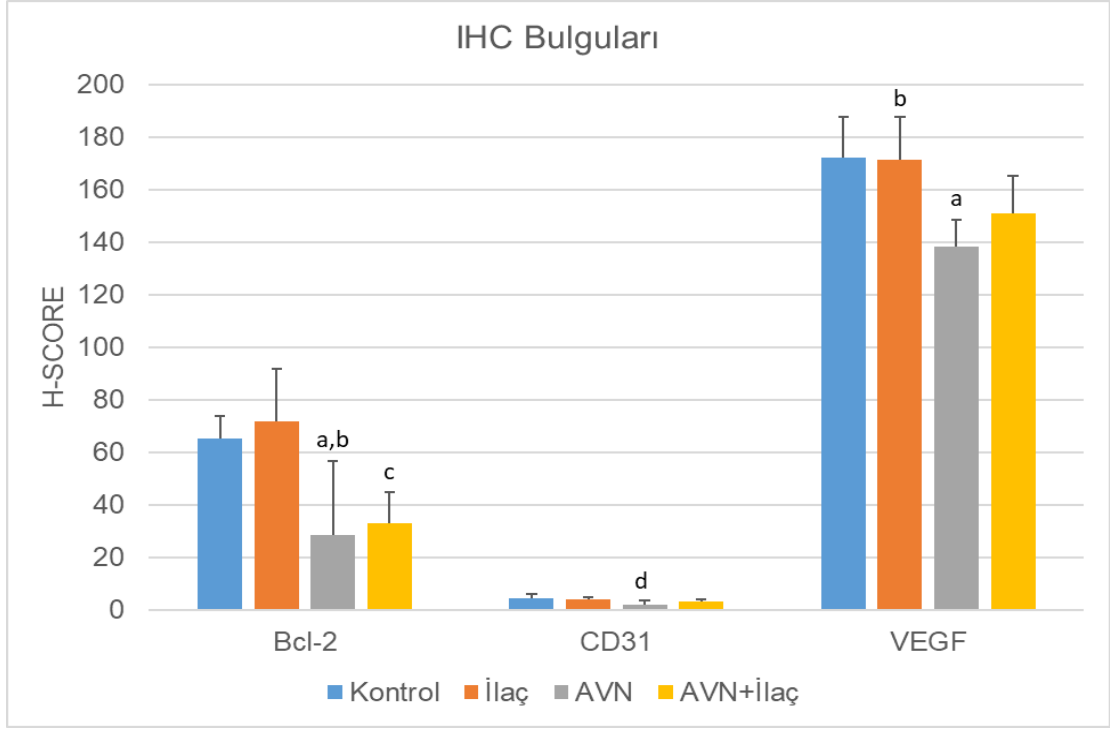
4.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinde proteinlerin immunohistokimyasal H-SCORE skorları ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması Tablo 10’da ve Şekil 29’te verilmiştir. Femur başı dokusunda apoptoz yollarının belirlenmesi için anti-apoptotik protein olan Bcl-2 immunoreaktiviteleri incelendi (Şekil 30). Bcl-2 düzeyi, kontrol grubunda 65,13 ± 8,53, ilaç grubunda ise 71,65 ± 20,09 olarak ölçüldü. AVN grubunda Bcl-2 seviyesi anlamlı olarak azalarak 28,34 ± 11,00’e düştüğü tespit edildi (P=0,0002). Ferulik asit uygulaması yapılan AVN+İlaç grubunda ise Bcl-2 seviyesi 32,77 ± 12,07 olarak ölçülerek, AVN grubuna göre hafif bir artış izlendi. Ancak, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

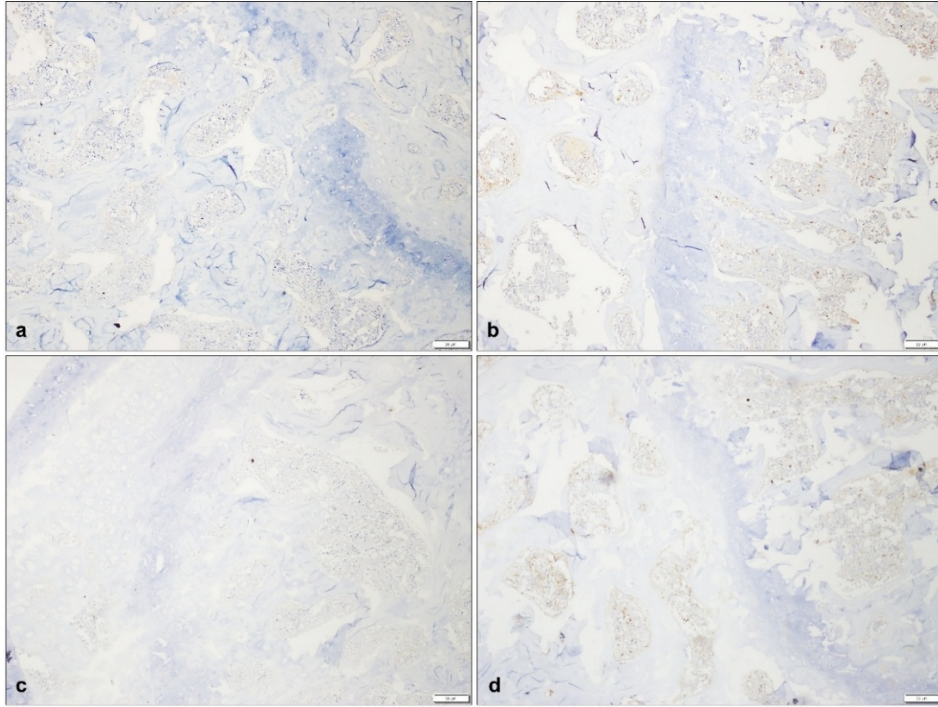
Tablo 10 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinde proteinlerin immunohistokimyasal skorları ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması

	KONTROL (N=6)	İLAÇ (N=8)	AVN (N=7)	AVN+İLAÇ (N=7)	P DEĞERİ
PARAMETRELER	X ± SS				
Bcl-2	65,13 ± 8,53	71,65 ± 20,09	28,34 ± 11,00 ^{a,b}	32,77 ± 12,07 ^c	0,0002
CD31	4,57 ± 0,79	4,13 ± 1,46	2,0 ± 1,26 ^d	3,14 ± 1,46	0,0096
VEGF	172,13 ± 15,55	171,43 ± 16,21 ^b	138,34 ± 10,07 ^a	150,8 ± 14,61	0,0003

X ± SS: Ortalama ± Standart Sapma, Bcl-2 (B hücresi lenfoma 2), PECAM/CD31: Platelet/endotelial hücre adezyon molekülü 1, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü. a P<0,01, d P<0,05 vs kontrol grubu, b P<0,01, c P<0,05 vs ilaç grubu

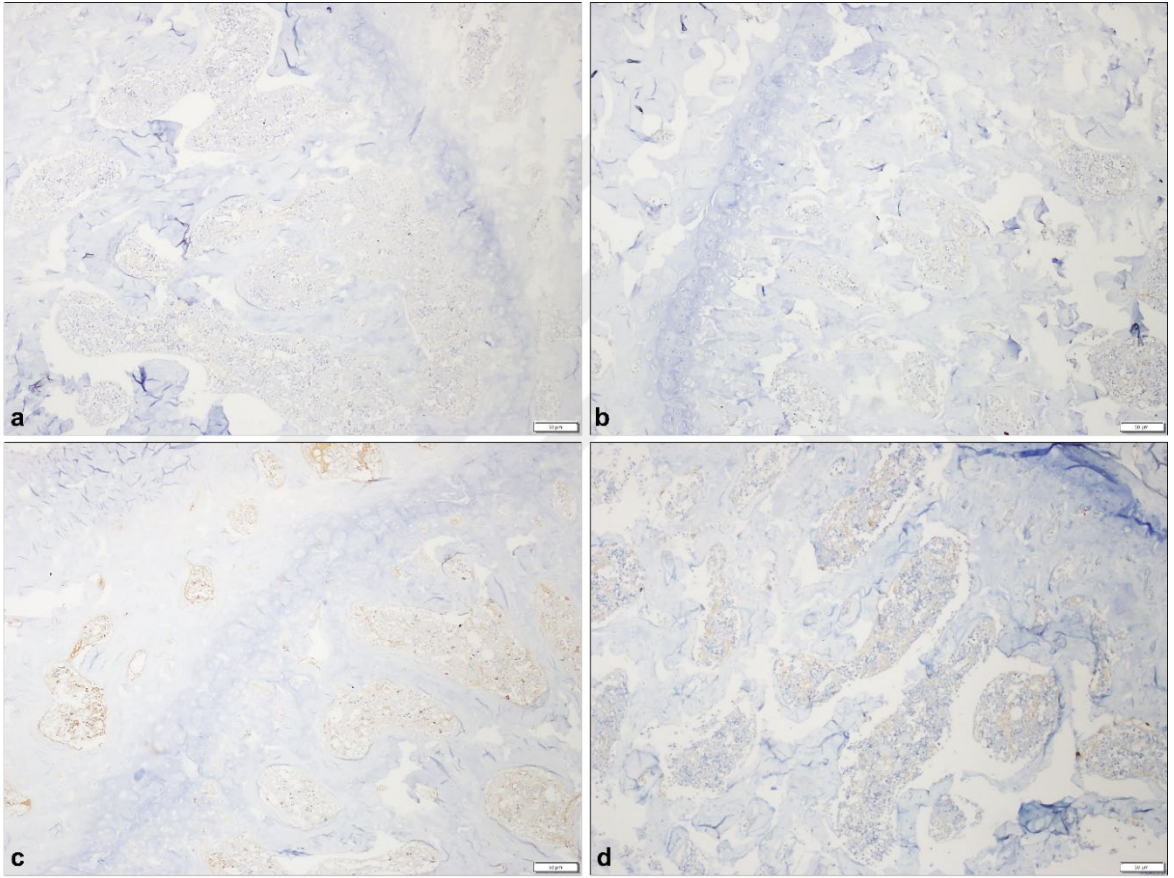


Şekil 29 Femur başı dokusunda Bcl-2 (B hücresi lenfoma 2), PECAM/CD31 (Platelet/endotelial hücre adezyon molekülü 1) ve VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) protein immunoreaktivitelerinin değerlendirilmesi ve gruplara göre istatistiksel olarak karşılaştırması. a $P<0,01$, d $P<0,05$ vs kontrol grubu, b $P<0,01$, c $P<0,05$ vs ilaç grubu.



Şekil 30 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin Bcl-2 protein immunohistokimya analizlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. 100x. a: kontrol, b: ilaç, c: AVN, d: AVN+ilaç

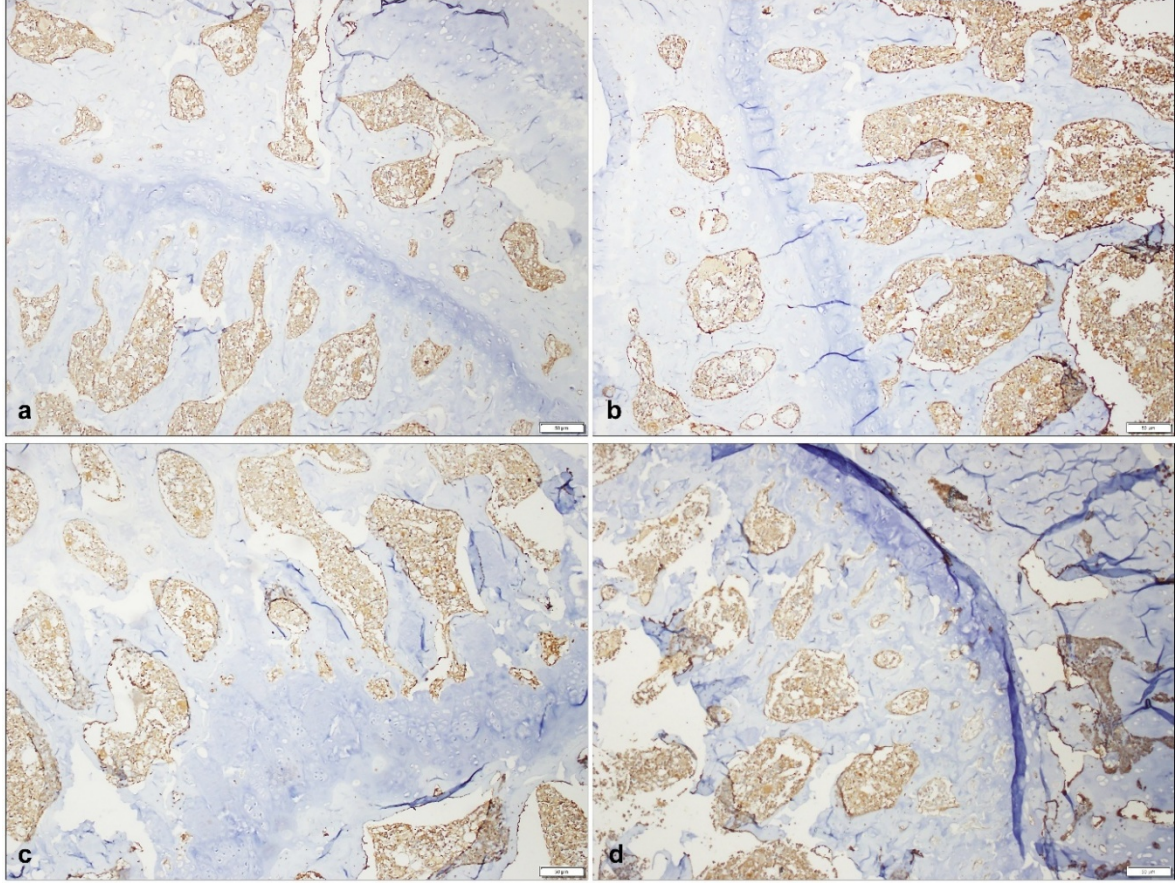
Endotelial hücre belirteci olan PECAM / CD31 immunoreaktivitesi femur başı dokularında sadece damarlarda incelendi (Şekil 31). PECAM/CD31 düzeyi ortalamaları kontrol grubunda $4,57 \pm 0,79$, ilaç grubunda $4,13 \pm 1,46$ olarak belirlendi. AVN grubunda PECAM/CD31 seviyesinde anlamlı bir azalma tespit edildi ($2,0 \pm 1,26$; $P=0,0096$). Ferulik asit uygulanan AVN+İlaç grubunda PECAM/CD31 ekspresyonu $3,14 \pm 1,46$ seviyesine ulaşarak AVN grubuna kıyasla bir miktar artış gösterdi. Ancak, bu düzey kontrol ve ilaç grubuna göre hala daha düşük bulundu.



Şekil 31 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin PECAM/CD31 (Platelet/endotelial hücre adezyon molekülü 1) protein immunohistokimya analizlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. 100x. a: kontrol, b: ilaç, c: AVN, d: AVN+ilaç

Diğer bir endotelial hücre belirteci olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeyleri (Şekil 32), kontrol grubunda $172,13 \pm 15,55$, ilaç grubunda $171,43 \pm 16,21$ olarak izlendi. AVN grubunda VEGF seviyesi anlamlı olarak azalarak $138,34 \pm 10,07$ olarak tespit dildi ($P=0,0003$). Ferulik asit uygulaması yapılan AVN+İlaç grubunda

ise VEGF ekspresyonu $150,8 \pm 14,61$ seviyesine ulaşarak AVN grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdi. Ancak, bu artış kontrol grubuna kıyasla düşük kaldı.



Şekil 32 Avasküler nekroz modelinde femur başı kesitlerinin VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) protein immunohistokimya analizlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. 100x. a: kontrol, b: ilaç, c: AVN, d: AVN+ilaç

Bu bulgular, steroid ile indüklenen avasküler nekrozda Bcl-2, CD31 ve VEGF ekspresyonlarının anlamlı derecede azaldığını göstermektedir. Ferulik asit uygulaması, Bcl-2 ve VEGF düzeylerinde kısmi bir iyileşme sağlamış olsa da kontrol seviyelerine ulaşamamıştır. Özellikle CD31 ekspresyonundaki düşüş, damar oluşumundaki azalmayı desteklemektedir. Bu sonuçlar, ferulik asitin avasküler nekroz üzerindeki koruyucu ve vasküler yapıyı destekleyici etkisini göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Osteonekroz (ON), ağırlıklı olarak femur başının yapısal düzenini bozan ve yavaş yavaş subkondral kemiğin kırılıp femur başı yüzeyinin çökmelere neden olup, böylece kalça ekleminde tahribata doğru ilerleyen patolojik bir süreçtir. Dünyada her yıl on binlerce insanda FBON gelişmektedir. Bu hastaların sayısı, özellikle steroid tedavisi sonrası FBON olanların sayısı yıllar içinde artmaktadır. (46) Hastalığın erken yaşta başlaması ve geç tanı ve tedavi almaları; hastaların genç yaşta kalça artroplastisi olmasına zemin hazırlamaktadır. Erken yaşta kalça artroplastisi ve bunun getirdiği sosyoekonomik sonuçlara katlanmalarına neden olmaktadır. ON etiyojisi bir dizi faktöre atfedilse de bunlar içinden glukokortikoid (steroid) uygulamaları en sık ON gelişimiyle ilişkili predispozan faktördür. (56) Kortikosteroid kullanımı vazokonstriksiyona neden olur ve protrombotik faktör üretiminde artışa yol açar. Kemik dolaşımı bozulur. Ayrıca, kortikosteroid kullanımı adipogenezisi artırır, osteogenezisi azaltır ve yağ emboli üretimi yoluyla kemik onarımını ve remodelling'i azaltır. Çeşitli farmakolojik tedavilerin osteonekroza bağlı kemik kaybını ve FBON'u etkilerini azalttığı gösterilmiştir. Önerilen tedavilerin ekti mekanizmaları genel olarak sıralanırsa; vazodilatörler, statinler, bisfosfonatlar ve antikoagülanlar femur başını revaskülarize etmek için sayılabilir. (122) (123) (77) (73) (124) Farmakolojik tedavi için mevcut çeşitli seçeneklere rağmen, şu anda bu ajanlardan herhangi birinin diğerine karşı üstünlüğü konusunda güçlü bir konsensus ve bilimsel veri yoktur. Son yıllarda çeşitli alternatif terapötik yaklaşımlarla deneysel çalışmalar yayınlanmıştır. (125)

Çalışmamızda sıçanlarda steroid ile indüklenmiş FBON modelinde, ilk olarak *Ferula foetida* bitkisinden izole edilen ferulik asit tedavisinin antioksidan, antiosteoklastik, osteoblastik, hipolipidemik ve vasküler endotel koruyucu etkilerinden faydalanarak osteonektotik alanlarda etkinliğini ve sistemik etkilerini değerlendirmek amacıyla histopatolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal analizler gerçekleştirdik. (126)

(127) (128) (129). Elde edilen sonuçlar, steroidlerin kemik dokusunda yapısal ve fonksiyonel bozulmalara yol açtığını, ferulik asidin ise bu patolojik değişiklikleri kısmen önleyebileceğini göstermektedir.

Ferulik asit; pirinç, buğday, yulaf, meyveler, fasulye, kahve tohumları, enginar, yer fıstığında ve yeşil sebzelerde bulunan sinnamik asidin fenolik bir türevidir. (96) FA' in gastrik absorpsiyonu hızlıdır ve mide asidi tarafından değişikliğe uğramadan ince bağırsağa geçişi olur. Sıçanlarda FA'nın yarı ömrü, doz ve uygulama yoluna bağlı olarak yaklaşık 30 dakikadır. Bu hızlı yarılanma ömrü düşük toksisiteye sahip olmasını sağlar. (100) (95) Uygulama farklı çalışmalarda 10 mg/kg ile 100 mg/kg doz aralığında oral veya intraperitoneal olarak uygulanmıştır. (94) FA, antiinflamatuvar, antioksidan, antidiyabetik, antialerjik, antitrombotik, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanserojenik, antimikrobiyal, antiviral, vazodilatör, endotel koruyucu etkilere sahiptir. (102). FA, ROS temizlenmesi, demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatlanarak uzaklaştırılmasını sağlar ve lipid peroksidasyonunun önlenmesinde rolü vardır. Serbest radikal temizleyici etkisinin yanında serbest radikal oluşumunu sağlayan enzimleri inhibe ederek anti oksidan özelliğinin güçlendirir. (101). Doymamış karbon bağları FA'nın lipid tabakasına bağlanmasını sağlayarak lipidleri peroksidasyona karşı koruyucu etki yapar. (130) Chowdhury ve arkadaşları diyabetik sıçanlarda FA uygulamasının (50 mg/kg) serbest radikalleri önemli ölçüde azalttığını bildirdi. Ayrıca hücre içi ROS seviyesinin artışı engellediğini ve SOD, MDA, CAT'ı içeren oksidatif stres seviyelerini düzenlediğini göstermişlerdir. (102) Ratlarda Streptozotosin ile indüklenen diyabet modelinde FA uygulaması pankreas dokusu ve miyokardda serbest radikal aracılı hasarı önlediği gösterilmiş. Bunu SOD ve CAT seviyelerinin koruyarak gerçekleştirdiği ortaya konmuştur. (105) FA, birçok doku kültüründe veya hücre tipinde hem doğrudan serbest radikal temizleme aktivitesi yapmaktadır. Hem de SOD ve CAT'nin up regülasyonu yoluyla ROS kaynaklı hasarı önleyerek hücresel lipid, protein ve nükleik asidin serbest oksijen radikali kaynaklı hasarını önler ve korur. FA, proinflamatuvar sitokinleri (TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi) azaltarak, antiinflamatuvar sitokinlerin ve hücre sinyal yollarını modüle eden bazı antioksidan molekülleri artırır, sonuç olarak antinflamatuvar etkisi artmış olur. FA'nın

çeşitli organlar üzerindeki anti inflamatuvar etkileri gösterilmiştir. FA, formaldehit ile indüklenen hepatositik inflamasyon, TNF- α ile indüklenen aort iltihabı, mono-sodyum kristali ile indüklenen inflamasyon ve trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) ile indüklenen ülseratif kolit üzerinde iyileştirici etkileri deneysel çalışmalarla göstermiştir. (131) (132) (133) (134) FA, proinflamatuvar sitokin sinyal yolunun kilit bir aracısı ve oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtlarda rol oynayan NF- κ B'nin ekspresyonunu azaltıcı etki gösterir. Nikotin uygulanan sıçanlarda akciğer ve karaciğerde NF- κ B ekspresyonundaki artışın FA tarafından azaltıldığı belirtilmiştir. (135) TNBS ile indüklenen ülseratif kolitte FA uygulaması sitokin, iNOS, COX-2 ve apoptozdaki azalma ile iyileştirici etki göstermiştir (134). Hou T. Ve arkadaşları steroid ile indüklenen neonatal osteoporoz modelinde artan dozlarda ferulik asit tedavisinin osteoporozdan koruduğunu bildiridi. (136) RANKL indüklenen osteoklastogenez üzerindeki terapötik etkinliğini araştırmayı amaçlayan bir çalışmada Ferulik asidin, NF- κ B ve ilişkili genlerin aktivasyonunu zayıflatarak osteoklast farklılaşmasını ve kemik rezorpsiyonunu önemli ölçüde inhibe edebileceğini göstermiştir. (137)

Klinik olarak FBON, ağırlıklı olarak femur başına bozulmuş kan akışı ile ilişkilidir ve bu da kemik nekrozu ve hasarına neden olur. FBON kemiğinin biyofiziksel ve ultrastrüktürel analizleri, artan karbonat- fosfat oranı ve azalan fosfat- amid oranıyla ortaya çıkan nekrotik bölgelerde trabeküler hasar, osteosit kaybı, kalsifiye kemik iliğinin varlığı ve osteoblastlarda artmış osteokalsin ekspresyonunu göstermiştir. Bunlar da kemik remodellenmesinin artışına ve kemik mineral yoğunluğunun düşüşüne yol açmaktadır. (138) Çalışmamızda FBON ile ilişkili değişiklikler histopatolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiş ve Ferulik asit ile yeni bir profilaktik terapötik stratejinin geliştirilmesine yardımcı olmak amaçlanmıştır.

Çalışmamızda osteonekroz varlığı kemik trabeküllerinde boş lakünlerin veya piknotik nükleuslu osteositlerin varlığı ve difüz dağılımına eşlik eden ve ek olarak kemik iliğinde nekroz varlığıyla tanımlandı. Kontrol ve ilaç grubuna kıyasla AVN grubunda, femur başında belirgin nekrotik alanlar, anomaliler ve soluk görünümlü anterolateral alanlar saptandı. Daha önce literatürde benzer yöntemle osteonekroz modeli uygulanmış çalışmalar ile benzer sonuçlardı. (139) Ayrıca kemik trabeküllerinin kontrol grubuna

kıyasla yer yer incelmış olduğu, hayvanları çoğunda düzensiz olduğu, aralıklı yerleştikleri ve dokuda boşlukların meydana geldiği saptandı. Trabeküllerde seyrek osteositler ve çok sayıda piknotik hücreler ve boş lakünlere rastlandı. Trabeküllerde seyrek osteositler ve çok sayıda piknotik hücreler ve boş lakünlere rastlandı. Bu gruptaki hayvanların birinde fibrozis izlenirken, granülasyona ve apozisyona hiçbir hayvanda rastlanmadı. Yine AVN grubunda kemik iliğinin, kontrol grubuna kıyasla normal morfolojisini kaybettiği, adiposit sayısının arttığı üç hayvanda arttığı ve makrofaj sayısının da iki hayvanda arttığı görüldü. Bu grubun beş hayvanında kemik iliği hücrelerinin azaldığı ve buna nekroz ve hemorajinin eşlik ettiği tespit edilirken üç hayvanda trombüs belirlendi. Steroid ile indüklenen osteonekroz üzerinde salidrozyd etkilerini inceleyen bir çalışma ile benzerdi. (140)

AVN grubuna kıyasla ilaç verilen grupta femur başında osteonekrozun ve anomalilerin azaldığı ancak soluk görünümlü anterolateral alanların benzer olduğu saptandı. Ayrıca kemik trabeküllerinin kontrol grubuna benzer şekilde bütün ve düzenli yapısını koruduğu, boşlukları ve aralıkların yok olduğu görüldü. Trabeküllerde osteosit sayısının normale döndüğü ve piknotik hücrelerin ve boş lakünlerin sayısının azaldığı tespit edildi. Bu bulgular overektomize ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ferulik asit etkileri ile benzerdi. (141) İlaç uygulanan AVN grubunda kemik morfolojik yapısının korunduğu, hematopoietik hücrelerin ve kemik iliği hücrelerin normale yakın dağıldığı görüldü. Bu hayvanlarda trombüse rastlanmadı. Bu sonuçlar radyasyon hasarı ile yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzerdi. (142) Femur başı anomalisi AVN grubunda 4 hayvanda görülürken AVN+İlaç grubunda 1 hayvanda görüldü.

Son yıllarda, osteonekrozda (FBONx) OPG, nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) reseptörü, RANK ve RANKL gibi aday genler incelenmiş ve ilişkilendirilmiştir. Bu genler, osteoklastlar ve osteoblastlar arasındaki dengeyi düzenler. (143) Steroid ile ilişkili FBON'lu olgularda OPG/RANK/RANKL sinyal yolunu down regüle ederek osteoklast disfonksiyonuna yol açabilir. Sonuç olarak, femur başının kemik iliğindeki osteoklastlar artarken kemik rezorpsiyonu azalır ve kemik trabeküllerinin yapısı ince ve düzensiz hale gelir. Adipositlerde artış gözlenir. Ferulik asit RANKL'ye bağlı NF- κ B sinyal yolunun inhibisyonu yoluyla osteoklast farklılaşmasını ve kemik erozyonunu bastırır. (137)

Çalışmamızda FA uygulanan grupta osteoklastik aktivitenin azalması ve osteosit kaybının önlenmesi bu çalışma ile paraleldir.

Histopatolojik değerlendirmeler, steroidle indüklenen osteonekroz modelinde ferulik asit uygulamasının kemik yapısını koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle trabeküler yapıdaki düzensizliğin azalması, osteosit kaybının önlenmesi ve kemik iliği yapısındaki bozulmanın hafiflemesi, ferulik asitin potansiyel koruyucu rolünü desteklemektedir.

Histomorfometrik analizlerde, avasküler nekrozun modelinde ferulik asit uygulamasının, BV/TV, BS/TV, BS/BV, Tb.Th ve Tb.N gibi parametrelerde AVN grubuna göre iyi sonuçlara neden olduğu görüldü, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tedavi süresi veya doz değişikliği yaparak daha anlamlı sonuçlar elde edileceği görüşündeyiz.

Steroidlerin anti-anjiojenik etkisi, yetersiz bir kan akışına neden olur ve yeterli kan akışı kemik oluşumu için vazgeçilmezdir. VEGF, damar endotelyal hücrelerinin çoğalmasını teşvik eden güçlü bir pro-anjiojenik faktördür ve bu nedenle özellikle kemik onarımı sırasında yeni kan damarlarının oluşumunu hızlandırır. Aynı zamanda CD31 de bir endotel markeri olarak yeni damar oluşumu hakkında bilgi verir. (144) Çalışmamızda AVN grubunda VEGF seviyesi anlamlı olarak azaldığı tespit edildi . Ferulik asit uygulaması yapılan AVN+İlaç grubunda ise VEGF ekspresyonu AVN grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdi. Ancak, bu artış kontrol grubuna kıyasla düşük kaldı. İnsan umbilikal ven endotel hücre kültürü ile yapılmış bir çalışmada FA uygulaması ile endotel hücrelerinde VEGF, PDGF ve HIF-1a ekspresyonun arttığını göstermiştir. (145) Bizim sonuçlarımız da literatürü destekler nitelikteydi.

AVN grubunda PECAM/CD31 seviyesinde anlamlı bir azalma tespit edildi. Ferulik asit uygulanan AVN+İlaç grubunda PECAM/CD31 ekspresyonu AVN grubuna kıyasla bir miktar artış gösterdi. Ancak, bu düzey kontrol ve ilaç grubuna göre hala daha düşük bulundu.

AVN grubunda Bcl-2 seviyesi anlamlı olarak azalarak düştüğü tespit edildi. Ferulik asit uygulaması yapılan AVN+İlaç grubunda ise Bcl-2 seviyesi AVN grubuna göre hafif bir artış izlendi. Ancak, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. İnsan lens epitel hücre

kültüründe ve cerebral arter iskemi modeli uygulanan bir hayvan çalışmasında FA uygulanan gruplarda Bcl-2/Bax oranında artış ile antiapoptotik etki gösterilmiştir. (146) (147)Çalışmamızdaki sonuçlarımız da bu sonuçları destekler niteliktedir.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. En başta hayvan refahını korumak amaçlı 3R kuralına uyarak deney gruplarında hayvan sayısı minimum tutulmuştur. Daha önce uygulanmış hayvan modelleri ışığında tedavi süresi 1 ay olarak bilirlenmiştir. Daha kısa ve daha uzun tasarlanmış modellerin bilime katkısı olacağı incelemeye dahil olan patoloğlarca öngörölmüştür. Çalışmamızda maddi kısıtlamalar nedeniyle kanda antijen-antikor, radyolojik değeriendirme güncel literatüre benzer immünhistokimyasal inceleme yapılamamıştır. FA in osteonekroz üzerinde kemoprofilaktik etkisini araştırarak yeni çalışmalara ışık tutacağımızı düşünöyoruz.

6. SONUÇLAR

Bildiğimiz kadarıyla, literatürde FBON' un önlenmesi için FA tedavisinin etkileri üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bulgularımız oksidatif stresin LPS ve steroid ile indüklenen FBON gelişiminde yakından rol oynadığını desteklemektedir. Elde ettiğimiz veriler bu model ile oluşturulan FBON olgularında vasküler, kemiğin hücrese ve yapısal morfolojisi ve hemotopoietik kemik iliği elemanları üzerinde steroid kaynaklı hasarın FA ile azaltılabileceği veya önlenebileceğini desteklemektedir. Vasküler problemler ve oksidatif hasar ile seyreden başka patolojilerde FA'ın in vivo etkilerinin araştırılmasının faydalı bilgiler sağlayacağı düşündürmüştür. Yeterli veri elde edildiğinde ve güvenliği kanıtlandığında insanlar üzerinde klinik çalışmalarda kullanılarak osteonekrozun önlenmesi için test edilebileceğine inanıyoruz.

Ferulik asitin geniş deneysel kullanımı ve olumlu bulgularımız göz önüne alındığında, FBON' un önlenmesi için etkili ve güvenli bir strateji olabilir. Bununla birlikte, FBON nedeni multifaktöriyeldir; koagölasyon, anjiogenezin inhibisyonu, hipoksi ve oksidatif stres, lipid metabolizması bozuklukları, koagölasyon kaskadının düzensiz çalışması, fibrinolitik sistemdeki anormallikler olarak kabaca sıralanabilir. Bu çeşitli mekanizmalara FA' in etkisini keşfetmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları oksidatif stresin FBON gelişiminde önemli bir rolü olduğu, güçlü bir antioksidan olan FA' nın trabeküllerde ve kemik iliğinde hücresel yapıyı koruyarak ve vasküler endotelyal ve hematopoetik hücrelerde oksidatif hasarı baskılayarak FBON hasarını önemli ölçüde azaltabileceğini göstermektedir. FA tedavisi gibi invaziv olmayan bir tedavi yönteminin doğru zamanda uygulanmasının ON hastalarının hayat kalitesini arttırmak ve komorbiditeleri azaltmak için faydalı olabileceğini düşünüyoruz.



Kaynakça

1. Selby, Joe V., Friedman, Gary D., Quesenberry Charles P., Weiss, N. S. The New England Journal of Medicine Downloaded from www.nejm.org at UNIVERSITY OF MICHIGAN on December 9, 2010. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 199.
2. Baig, S. A. & Baig, M. Osteonecrosis of the Femoral Head: Etiology, Investigations, and Management. Cureus 10, (2018).
3. Nagasawa, K. et al. Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: Prospective study by MRI. Lupus (2005). doi:10.1191/0961203305lu2103oa.
4. Bragge, P. et al. An overview of published research about the acute care and rehabilitation of traumatic brain injured and spinal cord injured patients. J. Neurotrauma (2012). doi:10.1089/neu.2011.2193.
5. Ingvar, Å. et al. Immunosuppressive treatment after solid organ transplantation and risk of post-transplant cutaneous squamous cell carcinoma. Nephrol. Dial. Transplant. (2010). doi:10.1093/ndt/gfp425.
6. Bahsoun A, Fakih Y, Zareef R, Bitar F, Arabi M. Corticosteroids in COVID-19: pros and cons. Front Med (Lausanne). 2023 Aug 14;10:1202504. doi: 10.3389/fmed.2023.1202504. PMID: 37644981; PMCID: PMC10461317.
7. Kubo, T. et al. Clinical and basic research on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in Japan. J. Orthop. Sci. 21, 407–413 (2016).
8. Kubo T, Ueshima K, Saito M, Ishida M, Arai Y, Fujiwara H. Clinical and basic research on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in Japan. J Orthop Sci.
9. Issa K, Pivec R, Kapadia BH, Banerjee S, Mont MA. Osteonecrosis of the femoral head: the total hip replacement solution. Bone Jt J. Kasım 2013;95-B(11_Supple_A):46-50.
10. Chang C, Greenspan A, Gershwin ME. The pathogenesis, diagnosis and clinical manifestations of steroid-induced osteonecrosis. J Autoimmun. Haziran 2020;110:102460.
11. Miyanishi, K. et al. Bone marrow fat cell enlargement and a rise in intraosseous pressure in steroid-treated rabbits with osteonecrosis. Bone (2002). doi:10.1016/S8756-3282(01)00663-9.
12. Graf, E., “Antioxidant potential of ferulic acid”, Free Radic. Biol. Med., 13(4): 435–448 (1992).

13. Andersons, B., Gravitis, J., Erins, P., “Study of macromolecular models of lignin obtained from ferulic acid”, *Khim. Priir. Soedin.*, 2: 239–245 (1980).
14. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., “Polyphenols: food sources and bioavailability”, *Am. J Clin. Nutr.*, 79 (5): 727–747 (2004).
15. Adam, A., Crespy, V., Levrat-vermy, M.A., “The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats”, *Am. Soc. Nutr. Sci.*, 132: 1962–1968 (2002).
16. Rukkumani, R., Aruna, K., Suresh Varma, P., Menon, V.P., “Hepatoprotective role of ferulic acid: a dose dependent study”, *J. Med. Food*, 7 (4): 456–461 (2004a).
17. Nomura, E., Kashiwada, A., Hosoda, A., Nakamura, K., Morishita, H., Tsuno, T., Taniguchi, H., “Synthesis of amide compounds of ferulic acid and their stimulatory effects on insulin secretion in vitro”, *Bioorg. Med. Chem.*, 11: 3807–3813 (2003).
18. Huang, M.T., Smart, R.C., Wong, C.Q., Conney, A.H., “Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-otetradecanoylphorbol-13-acetate”, *Cancer Res.*, 48: 5941–5946 (1988).
19. E.M. Neto-Neves, C. da Silva Maia Bezerra Filho, N.N. Dejana, et al., Ferulic acid and cardiovascular health: therapeutic and preventive potential, *Mini Rev. Med. Chem.* 21 (2021) 1625–1637.
20. H.Y. Liu, Q.X. Lin, Y.L. Ji, et al., Antiplatelet and antithrombotic effects of ferulic acid, an active component of traditional Chinese medicine, *Jiangxi J. Tradit. Chin. Med.* 51 (2020) 63–66.
21. A. Bumrungpert, S. Lilitchan, S. Tuntipopipat, et al., Ferulic acid supplementation improves lipid profiles, oxidative stress, and inflammatory status in hyperlipidemic subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, *Nutrients*.
22. T. Chaikijurajai, W.H.W. Tang, Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease, *Expert Opin. Ther. Targets* 24 (2020) 695–705.
23. A.M. Pisoschi, A. Pop, The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review, *Eur. J. Med. Chem.* 97 (2015) 55–74.
24. N. Guo, The role of antioxidant stress in the treatment of diabetic peripheral neuropathy, *J. Youjiang Med. Univ. National.* 35 (2013) 678–680.
25. Ponseti IV. Growth and development of the acetabulum in the normal child. Anatomical, histological, and roentgenographic studies. *JBJS. Temmuz* 1978;60(5):575.
26. Herring, J. A. *Tachdjian ’s Pediatric Orthopaedics , Fourth Edition. (2008).*
doi:10.1016/B978-1-4377-1549-1.00044-1.
27. Anstrom, J. A. *Langman’s medical embryology, 15th edition. Surg. Neurol.* 36,.
28. Roach, K. E. & Miles, T. P. *Normal hip and knee active range of motion: The relationship to age. Phys. Ther. (1991).* doi:10.1093/ptj/71.9.656.

29. Armbuster TG, Guerra J, Resnick D, Goergen TG, Feingold ML, Niwayama G, vd. *The Adult Hip: An Anatomic Study. Radiology.* Temmuz 1978;128(1):1-10.
30. Heller, M. O. et al. *Influence of femoral anteversion on proximal femoral loading: Measurement and simulation in four patients. Clin. Biomech.* (2001). doi:10.1016/S0268-0033(01)00053-5.
31. Gold M, Munjal A, Varacallo M. *Anatomy, Bony Pelvis and Lower Limb, Hip Joint. İçinde: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [a.yerStatPearls Publishing; 2024 [a.yer 13 Şubat 2024]. .*
32. Wagner, F. V. et al. *Capsular ligaments of the hip: Anatomic, histologic, and positional study in cadaveric specimens with MR arthrography. Radiology* (2012). doi:10.1148/radiol.12111320.
33. Elkins, J. M. et al. *The capsule's contribution to total hip construct stability-A finite element analysis. J. Orthop. Res.* (2011). doi:10.1002/jor.21435.
34. Cerezal, L. et al. *Anatomy, biomechanics, imaging, and management of ligamentum teres injuries. Radiographics* (2010). doi:10.1148/rg.306105516.
35. Bergmann, G. et al. *Hip contact forces and gait patterns from routine activities. in Journal of Biomechanics* (2001). doi:10.1016/S0021-9290(01)00040-9.
36. Barker, P. J. et al. *Anatomy and biomechanics of gluteus maximus and the thoracolumbar fascia at the sacroiliac joint. Clin. Anat.* (2014). doi:10.1002/ca.22233.
37. Flack, N. A. M. S., Nicholson, H. D. & Woodley, S. J. *A review of the anatomy of the hip abductor muscles, gluteus medius, gluteus minimus, and tensor fascia lata. Clinical Anatomy* (2012). doi:10.1002/ca.22004.
38. Solomon, L. B., Lee, Y. C., Callary, S. A., Beck, M. & Howie, D. W. *Anatomy of piriformis, obturator internus and obturator externus: Implications for the posterior surgical approach to the hip. J. Bone Jt. Surg. - Ser. B* (2010). doi:10.1302/0301-620X.92B.
39. Zlotorowicz, M., Szczodry, M., Czubak, J. & Cizek, B. *Anatomy of the medial femoral circumflex artery with respect to the vascularity of the femoral head. J. Bone Jt. Surg. - Ser. B* (2011). doi:10.1302/0301-620X.93B11.26993.
40. Gautier, E., Ganz, K., Krugel, N., Gill, T. & Ganz, R. *Anatomy of the medial femoral circumflex artery and its surgical implications. J. Bone Jt. Surg. - Ser. B* (2000). doi:10.1302/0301-620X.82B5.10426.
41. Babis GC, Sakellariou V, Parvizi J, Soucacos P. *Osteonecrosis of the Femoral Head. Orthopedics.* Ocak 2011;34(1):39-48.
42. Rijnen, W. H. C., Lameijn, N., Schreurs, B. W. & Gardeniers, J. W. M. *Total Hip Arthroplasty After Failed Treatment for Osteonecrosis of the Femoral Head. Orthopedic Clinics of North America* (2009). doi:10.1016/j.ocl.2009.01.001.
43. Assouline-Dayana, Y., Chang, C., Greenspan, A., Shoenfeld, Y. & Gershwin, M. E. *Pathogenesis and natural history of osteonecrosis. Semin. Arthritis Rheum.* (2002). doi:10.1053/sarh.2002.33724b.

44. Mont, M. A. & Hungerford, D. S. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A* (1995). doi:10.2106/00004623-199503000-00018.
45. Tan B, Li W, Zeng P, Guo H, Huang Z, Fu F, vd. Epidemiological Study Based on Tan B, Li W, Zeng P, Guo H, Huang Z, Fu F, vd. *Epidemiological Study Based on* 2020;13(1):153-60.
46. Fukushima, W. et al. Nationwide epidemiologic survey of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (2010). doi:10.1007/s11999-010-1292-x.
47. Lenaerts, G. et al. Subject-specific hip geometry affects predicted hip joint contact forces during gait. *J. Biomech.* (2008). doi:10.1016/j.jbiomech.2008.01.014.
48. Felson, D. T. & Anderson, J. J. ACROSS-STUDY EVALUATION OF ASSOCIATION BETWEEN STEROID DOSE AND BOLUS STEROIDS AND AVASCULAR NECROSIS OF BONE. *Lancet* (1987). doi:10.1016/S0140-6736(87)92870-4.
49. Jones, J. P. Concepts of etiology and early pathogenesis of osteonecrosis. *Instructional course lectures* (1994).
50. Mont, M. A. Symptomatic multifocal osteonecrosis: A multicenter study. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (1999).
51. BOLAND, E. W. & HEADLEY, N. E. Management of rheumatoid arthritis with smaller (maintenance) doses of cortisone acetate. *J. Am. Med. Assoc.* (1950). doi:10.1001/jama.1950.02920050005002.
52. Freyberg, R. H. et al. Problems of prolonged cortisone treatment for rheumatoid arthritis: Further investigations. *J. Am. Med. Assoc.* (1951). doi:10.1001/jama.1951.03670330030008.
53. Fisher, D. E. & Bickel, W. H. Corticosteroid-induced avascular necrosis. A clinical study of seventy-seven patients. *J. Bone Joint Surg. Am.* (1971). doi:10.2106/00004623-197153050-00002.
54. McLean, C. J., Lobo, R. F. J. & Brazier, D. J. Cataracts, glaucoma, and femoral avascular necrosis caused by topical corticosteroid ointment. *The Lancet* (1995). doi:10.1016/S0140-6736(95)90324-0.
55. Kubo, T. et al. Osteonecrosis of the femoral head that developed after long-term topical steroid application. *J. Orthop. Sci.* (2001). doi:10.1007/s007760170031.
56. Chen, S., Li, J., Peng, H., Zhou, J. & Fang, H. Administration of erythropoietin exerts protective effects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats. *Int. J. Mol. Med.* 33, 840–848 (2014).
57. Weinstein, R. S. Glucocorticoid-induced osteonecrosis. *Endocrine* 41, 183–190 (2012).
58. Wang, A., Ren, M. & Wang, J. The pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: A systematic review of the literature. *Gene* 671, 103–109 (2018).
59. Jones, J. P. Fat embolism and osteonecrosis. *Orthopedic Clinics of North America* (1985).

60. Wang, G. J., Sweet, D. E., Reger, S. I. & Thompson, R. C. Fat-cell changes as a mechanism of avascular necrosis of the femoral head in cortisone-treated rabbits. *J. Bone Jt. Surg. - Ser. A* (1977). doi:10.2106/00004623-197759060-00003.
61. Wang, G. J., Cui, Q. & Balian, G. The pathogenesis and prevention of steroid induced osteonecrosis. *Clinical Orthopaedics and Related Research* (2000). doi:10.1097/00003086-200001000-00030.
62. Calder, J. D. F., Buttery, L., Revell, P. A., Pearse, M. & Polak, J. M. Apoptosis - A significant cause of bone cell death in osteonecrosis of the femoral head. *J. Bone Jt. Surg. - Ser. B* (2004). doi:10.1302/0301-620X.86B8.14834.
63. Ichiseki, T., Matsumoto, T., Nishino, M., Kaneuji, A. & Katsuda, S. Oxidative stress and vascular permeability in steroid-induced osteonecrosis model. *J. Orthop. Sci.* 9, 509–515 (2004).
64. Ichiseki, T. et al. DNA oxidation injury in bone early after steroid administration is involved in the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis. *Rheumatology* 44, 456–460 (2005).
65. Ha, Y. C. et al. Prediction of collapse in femoral head osteonecrosis: A modified Kerboul method with use of magnetic resonance images. in *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A* (2006). doi:10.2106/JBJS.F.00535.
66. Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, Dailiana ZH, Bargiotas K, Maris T. Osteonecrosis of the femoral head: etiology, imaging and treatment. *Eur J Radiol. Temmuz* 2007;63(1):16-28.
67. Drescher W, Schlieper G, Floege J, Eitner F. Steroid-related osteonecrosis--an update. *Nephrol Dial Transplant.* 01 Eylül 2011;26(9):2728-31.
68. Carli A, Albers A, Séguin C, Harvey EJ. The Medical and Surgical Treatment of ARCO Stage-I and II Osteonecrosis of the Femoral Head: A Critical Analysis Review. *JBJS Rev.* 11 Şubat 2014;2(2):e2.
69. Banerjee S, Kapadia BH, Jauregui JJ, Cherian JJ, Mont MA. Natural history of osteonecrosis. In: *Osteonecrosis*. Springer; 2014. p. 161–4.
70. Mont MA, Zywiol MG, Marker DR, McGrath MS, Delanois RE. The natural history of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head: a systematic literature review. *JBJS.* 2010;92(12):2165–70.
71. Petrigliano FA, Lieberman JR. Osteonecrosis of the hip: novel approaches to evaluation and treatment. *Clin Orthop Relat Res.* 2007;465:53–62.
72. Aldridge JM, Urbaniak JR. Avascular necrosis of the femoral head: etiology, pathophysiology, classification, and current treatment guidelines. *Am J Orthop Belle Mead NJ.* Temmuz 2004;33(7):327-32.
73. Glueck CJ, Freiberg RA, Sieve L, Wang P. Enoxaparin prevents progression of stages I and II osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;435:164–70.
74. Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, Jingushi S, Iwamoto Y. Combined effects of an anticoagulant and a lipid-lowering agent on the prevention of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum Off J Am Coll Rheumatol.* 2004;50(10):3387–91.

75. Yamaguchi R, Yamamoto T, Motomura G, Ikemura S, Iwasaki K, Zhao G, et al. Effects of an anti antiplatelet 2012;51(5):789–93.
76. Pengde K, Fuxing P, Bin S, Jing Y, Jingqiu C. Lovastatin inhibits adipogenesis and prevents osteonecrosis in steroid-treated rabbits. *Jt Bone Spine*. 2008;75(6):696–701.
77. Pritchett JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clin Orthop Relat Res*. 2001;386:173–8.
78. Lai K-A, Shen W-J, Yang C-Y, Shao C-J, Hsu J-T, Lin R-M. The use of alendronate to prevent early collapse of the femoral head in patients with nontraumatic osteonecrosis: a randomized clinical study. *JBJS*. 2005;87(10):2155–9.
79. Chen C-H, Wang G-J. Alendronate in the prevention of collapse of the femoral head in nontraumatic osteonecrosis. In: *Osteonecrosis*. Springer; 2014. p. 265–71.
80. Nishii T, Sugano N, Miki H, Hashimoto J, Yoshikawa H. Does alendronate prevent collapse in osteonecrosis of the femoral head? *Clin Orthop Relat Res*. 2006;443:273–9.
81. Banerjee S, Issa K, Pivec R, Kapadia BH, Khanuja HS, Mont MA. Osteonecrosis of the hip: treatment options and outcomes. *Orthop Clin*. 2013;44(4):463–76.
82. Ciombor DM, Aaron RK. Electric, electromagnetic, and acoustic treatment for avascular necrosis of the femoral head. *Tech Orthop*. 2008;23(1):11–7. .
83. Massari L, Fini M, Cadossi R, Setti S, Traina GC. Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head. *JBJS*. 2006;88(suppl_3):56–60.
84. Drescher W, Knobe M, Wagner W, Pufe T. New Therapies of Bone Necrosis. In: *Osteonecrosis* Springer; 2014. p. 273–5.
85. Gangji V, De Maertelaer V, Hauzeur J-P. Autologous bone marrow cell implantation in the treatment of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head: five year follow-up of a prospective controlled study. *Bone*. 2011;49(5):1005–9.
86. Avascular necrosis of the femoral head: role of vascularized bone grafts - PubMed [Internet]. [a.yer 28 Şubat 2024]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17145291/>.
87. Korompilias AV, Beris AE, Lykissas MG, Kostas-Agnantis IP, Soucacos PN. Femoral head osteonecrosis: why choose free vascularized fibula grafting. *Microsurgery*. Mart 2011;31(3):223–8.
88. Mont MA, Fairbank AC, Krackow KA, Hungerford DS. Corrective osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am*. Temmuz 1996;78(7):1032–8.
89. Mont, Michael A. MD1; Cherian, Jeffrey J. DO1; Sierra, Rafael J. MD2; Jones, Lynne C. PhD3; Lieberman, Jay R. MD4. Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head: Where Do We Stand Today?: A Ten-Year Update. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 97(19).
90. Saito S, Saito M, Nishina T, Ohzono K, Ono K. Long-term results of total hip arthroplasty for osteonecrosis of the femoral head. A comparison with osteoarthritis. *Clin Orthop*. Temmuz 1989;(244):198–207.

91. Johansson HR, Zywił MG, Marker DR, Jones LC, McGrath MS, Mont MA. Osteonecrosis is not a predictor of poor outcomes in primary total hip arthroplasty: asystematic literature review. *Int Orthop*. Nisan 2011;35(4):465-73.
92. Chen Y, Xue F, Han C, Yang H, Han L, Li K, et al. Ferulic acid ameliorated placental inflammation and apoptosis in rat with preeclampsia. *Clinical and Experimental Hypertension*. 2019;41(6):524-30.
93. Alam M. Anti-hypertensive effect of cereal antioxidant ferulic acid and its mechanism of action. *Frontiers in nutrition*. 2019;6:121.
94. Li D, Rui Y-x, Guo S-d, Luan F, Liu R, Zeng N. Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. *Life Sciences*. 2021;284:119921.
95. Gupta A, Singh AK, Loka M, Pandey AK, Bishayee A. Ferulic acid-mediated modulation of apoptotic signaling pathways in cancer. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. 2021;125:215-57.
96. Mancuso C, Santangelo R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;65:185-95.
97. Poquet L, Clifford MN, Williamson G. Transport and metabolism of ferulic acid through the colonic epithelium. *Drug Metab Dispos*. 2008 Jan;36(1):190-7. doi: 10.1124/dmd.107.017558. Epub 2007 Oct 22. PMID: 17954526.
98. Zhao Z, Moghadasian MH. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry*. 2008;109(4):691-702.
99. Zhao, M., & Zhen, X. (2014). "Biological activities and synthesis of ferulic acid." *Acta Pharmacologica Sinica*, 35(5), 587-594.
100. Kumar N, Pruthi V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports*. 2014;4:86-93.
101. Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztein H. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. *Skin pharmacology and physiology*. 2018;31(6):332-6.
102. Chaudhary A, Jaswal VS, Choudhary S, Sharma A, Beniwal V, Tuli HS, et al. Ferulic acid: a promising therapeutic phytochemical and recent patents advances. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*. 2019;13(2):115-23.
103. Wang E-J, Wu M-Y, Lu J-H. Ferulic Acid in Animal Models of Alzheimer's Disease: A Systematic Review of Preclinical Studies. *Cells*. 2021;10(10):2653.
104. Yagi K, Ohishi N. Action of ferulic acid and its derivatives as antioxidants. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 1979;25(2):127-30.
105. Ghosh S, Basak P, Dutta S, Chowdhury S, Sil PC. New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;103:41-55.
106. A. Suzuki, D. Kagawa, A. Fujii, et al., Short- and long-term effects of ferulic acid on blood pressure in spontaneously hypertensive rats, *Am. J. Hypertens*. 15 (2002) 351–357.

107. P. Li, Y. Peng, Q. Ma, et al., Study on the formation of antihypertensive twin drugs by caffeic acid and ferulic acid with telmisartan, *Drug Des. Devel. Ther.* 14 (2020) 977–992.
108. Volkmann, N., Marassi, F., Newmeyer, D. et al. The rheostat in the membrane: BCL-2 family proteins and apoptosis. *Cell Death Differ* 21, 206–215 (2014).
<https://doi.org/10.1038/cdd.2013.153>.
109. Zheng JH, Viacava Follis A, Kriwacki RW, Moldoveanu T. Discoveries and controversies in BCL-2 protein-mediated apoptosis. *FEBS J.* 2016 Jul;283(14):2690-700. doi: 10.1111/febs.13527. Epub 2015 Oct 27. PMID: 26411300.
110. C.Y. Cheng, N.Y. Tang, S.T. Kao, et al., Ferulic acid administered at various time points protects against cerebral infarction by activating p38 MAPK/p90RSK/ CREB/Bcl-2 anti-apoptotic signaling in the subacute phase of cerebral ischemia-reperfusion in.
111. Q. Hong, Z.C. Ma, H. Huang, et al., Antithrombotic activities of ferulic acid via intracellular cyclic nucleotide signaling, *Eur. J. Pharmacol.* 777 (2016) 1–8. .
112. J.H. Choi, J.K. Park, K.M. Kim, et al., In vitro and in vivo antithrombotic and cytotoxicity effects of ferulic acid, *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 32 (2018).
113. G. Baeza, E.M. Bachmair, S. Wood, et al., The colonic metabolites dihydrocaffeic acid and dihydroferulic acid are more effective inhibitors of in vitro platelet activation than their phenolic precursors, *Food Funct.* 8 (2017) 1333–1342.
114. L.M. Ostertag, N. O'Kennedy, G.W. Horgan, et al., In vitro anti-platelet effects of simple plant-derived phenolic compounds are only found at high, non-physiological concentrations, *Mol. Nutr. Food Res.* 55 (2011) 1624–1636.
115. McLeod C, Hartley S. Responsibility and Laboratory Animal Research Governance. *Sci Technol Hum Values.* Temmuz 2018;43(4):723-41.
116. Allen MJ, Hankenson KD, Goodrich L, Boivin GP, von Rechenberg B. Ethical use of animal models in musculoskeletal research. *J Orthop Res Off Publ Orthop ResSoc.* Nisan 2017;35(4):740-51.
117. Dong Y, Li Y, Huang C, Gao K, Weng X. Systemic application of teriparatide for steroid induced osteonecrosis in a rat model. *BMC Musculoskelet Disord.* 11Temmuz 2015;16:163.
118. Paish ADM, Nikolov HN, Welch ID, El-Warrak AO, Teeter MG, Naudie DDR, vd. Image-based design and 3D-metal printing of a rat hip implant for use in a clinicallyImage-based design and 3D-metal printing of a rat hip implant for use in a clinicallyImage-based.
119. Ma HZ, Zhou DS, Li D, Zhang W, Zeng BF. A histomorphometric study of necrotic femoral head in rabbits treated with extracorporeal shock waves. *J Phys Ther Sci.* 2017 Jan;29(1):24-28. doi: 10.1589/jpts.29.24. Epub 2017 Jan 30. PMID: 28210032; PMCID: PMC5300.
120. Parkinson IH, Fazzalari NL. Interrelationships between structural parameters of cancellous bone reveal accelerated structural change at low bone volume. *J Bone Miner Res.* 2003 Dec;18(12):2200-5. doi: 10.1359/jbmr.2003.18.12.2200. PMID: 14672355.

121. Tombulturk FK, Soydas T, Sarac EY, Tuncdemir M, Coskunpinar E, Polat E, Sirekbasan S, Kanigur-Sultuybek G. Regulation of MMP 2 and MMP 9 expressions modulated by AP-1 (c-jun) in wound healing: improving role of *Lucilia sericata* in diabetic rats. *Acta Diab.*
122. Ajmal M, Matas AJ, Kuskowski M, Cheng EY. Does statin usage reduce the risk of corticosteroid-related osteonecrosis in renal transplant population? *Orthop Clin North Am.* 2009 Apr;40(2):235-9. doi: 10.1016/j.ocl.2009.01.004. PMID: 19358908; PMCID: PMC28014.
123. Claßen T, Becker A, Landgraeber S, Haversath M, Li X, Zilkens C, Krauspe R, Jäger M. Long-term Clinical Results after Iloprost Treatment for Bone Marrow Edema and Avascular Necrosis. *Orthop Rev (Pavia).* 2016 Mar 31;8(1):6150. doi: 10.4081/or.2016.6150. PM.
124. Luo RB, Lin T, Zhong HM, Yan SG, Wang JA. Evidence for using alendronate to treat adult avascular necrosis of the femoral head: a systematic review. *Med Sci Monit.* 2014 Nov 26;20:2439-47. doi: 10.12659/MSM.891123. PMID: 25424061; PMCID: PMC4257480.
125. Barney, J., Piuizzi, N. S. & Akhondi, H. Femoral Head Avascular Necrosis. *StatPearls* (2019).
126. Zhou ZY, Xu JQ, Zhao WR, Chen XL, Jin Y, Tang N, Tang JY. Ferulic acid relaxed rat aortic, small mesenteric and coronary arteries by blocking voltage-gated calcium channel and calcium desensitization via dephosphorylation of ERK1/2 and MYPT1. *Eur J Pharma.*
127. Meng K, Liu Y, Ruan L, Chen L, Chen Y, Liang Y. Suppression of apoptosis in osteocytes, the potential way of natural medicine in the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *Biomed Pharmacother.* 2023 Jun;162:114403. doi: 10.1016/j.biopha.2023.11440.
128. Du K, Li Z, Fang X, Cao T, Xu Y. Ferulic acid promotes osteogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by inhibiting microRNA-340 to induce β -catenin expression through hypoxia. *Eur J Cell Biol.* 2017 Sep;96(6):496-503. doi: 10.1016/j.ejcb.2017.
129. Wei QS, Hong GJ, Yuan YJ, Chen ZQ, Zhang QW, He W. Huo Xue Tong Luo capsule, a vasoactive herbal formula prevents progression of asymptomatic osteonecrosis of femoral head: A prospective study. *J Orthop Translat.* 2018 Dec 21;18:65-73. doi: 10.1016/j.jot.2.
130. Srinivasan M, Sudheer AR, Menon VP. Ferulic Acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr.* 2007 Mar;40(2):92-100. doi: 10.3164/jcbrn.40.92. PMID: 18188410; PMCID: PMC2127228.
131. Gerin F, Erman H, Erboga M, Sener U, Yilmaz A, Seyhan H, et al. The effects of ferulic acid against oxidative stress and inflammation in formaldehyde-induced hepatotoxicity. *Inflammation.* 2016;39(4):1377-86.
132. Gerin F. The Effects of Ferulic Acid Against Oxidative Stress and Inflammation in Formaldehyde-Induced Hepatotoxicity. 2016.
133. Doss HM, Dey C, Sudandiradoss C, Rasool MK. Targeting inflammatory mediators with ferulic acid, a dietary polyphenol, for the suppression of monosodium urate crystal-induced inflammation in rats. *Life sciences.* 2016;148:201-10.

134. Sadar SS, Vyawahare NS, Bodhankar SL. Ferulic acid ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis through modulation of cytokines, oxidative stress, iNOs, COX-2, and apoptosis in laboratory rats. *EXCLI journal*. 2016;15:482.
135. Sudheer AR, Muthukumaran S, Devipriya N, Devaraj H, Menon VP. Influence of ferulic acid on nicotine-induced lipid peroxidation, DNA damage and inflammation in experimental rats as compared to N-acetylcysteine. *Toxicology*. 2008;243(3):317-29.
136. Hou T, Zhang L, Yang X. Ferulic acid, a natural polyphenol, protects against osteoporosis by activating SIRT1 and NF- κ B in neonatal rats with glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biomed Pharmacother*. 2019 Dec;120:109205. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109205.
137. Doss HM, Samarpita S, Ganesan R, Rasool M. Ferulic acid, a dietary polyphenol suppresses osteoclast differentiation and bone erosion via the inhibition of RANKL dependent NF- κ B signalling pathway. *Life Sci*. 2018 Aug 15;207:284-295. doi: 10.1016/j.lfs.2018.
138. Narayanan, A. et al. Avascular Necrosis of Femoral Head: A Metabolomic, Biophysical, Biochemical, Electron Microscopic and Histopathological Characterization. *Sci. Rep.* 7, 1–16 (2017).
139. Zheng H, Yang E, Peng H, Li J, Chen S, Zhou J, Fang H, Qiu B, Wang Z. Gastrodin prevents steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats by anti-apoptosis. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(22):3926-31. PMID: 25421192.
140. Xue XH, Feng ZH, Li ZX, Pan XY. Salidroside inhibits steroid-induced avascular necrosis of the femoral head via the PI3K/Akt signaling pathway: In vitro and in vivo studies. *Mol Med Rep*. 2018 Mar;17(3):3751-3757. doi: 10.3892/mmr.2017.8349. Epub 2017 Dec .
141. Folwarczna J, Zych M, Burczyk J, Trzeciak H, Trzeciak HI. Effects of natural phenolic acids on the skeletal system of ovariectomized rats. *Planta Med*. 2009 Dec;75(15):1567-72. doi: 10.1055/s-0029-1185904. PMID: 19598079.
142. Liang JW, Li PL, Wang Q, Liao S, Hu W, Zhao ZD, Li ZL, Yin BF, Mao N, Ding L, Zhu H. Ferulic acid promotes bone defect repair after radiation by maintaining the stemness of skeletal stem cells. *Stem Cells Transl Med*. 2021 Aug;10(8):1217-1231. doi: 10.1002.
143. Hadjigeorgiou G, Dardiotis E, Dardioti M, Karantanis A, Dimitroulias A, Malizos K. Genetic association studies in osteonecrosis of the femoral head: mini review of the literature. *Skeletal Radiol*. 2008;37(1):1-7. doi:10.1007/s00256-007-0395-2.
144. Xu HH, Li SM, Fang L, Xia CJ, Zhang P, Xu R, Shi ZY, Zou Z, Ge QW, Wang P, Tong PJ, Jin HT. Platelet-rich plasma promotes bone formation, restrains adipogenesis and accelerates vascularization to relieve steroids-induced osteonecrosis of the femoral head.
145. Lin CM, Chiu JH, Wu IH, Wang BW, Pan CM, Chen YH. Ferulic acid augments angiogenesis via VEGF, PDGF and HIF-1 α . *J Nutr Biochem*. 2010 Jul;21(7):627-33. doi: 10.1016/j.jnutbio.2009.04.001. Epub 2009 May 13. PMID: 19443196.
146. Chen Y, Zhu L, Meng H, Sun X, Xue C. Ferulic Acid Protects Human Lens Epithelial Cells against Ionizing Radiation-Induced Oxidative Damage by Activating Nrf2/HO-1 Signal Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 May 10;2022:6932188. doi: 10.1155/2022/6932188. P.

147. Cheng CY, Tang NY, Kao ST, Hsieh CL. Ferulic Acid Administered at Various Time Points Protects against Cerebral Infarction by Activating p38 MAPK/p90RSK/CREB/Bcl-2 Anti-Apoptotic Signaling in the Subacute Phase of Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in R.

EKLER

EK-1: Özgeçmiş Formu

EK-2: HADYЕК Onay Formu

EK-3: Tez Konusu Onay Formu