

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI

**OSTEOPOROTİK SIÇAN MODELİNDE ALENDRONAT  
SODYUM'UN TRABEKÜLER KEMİK YAPISI ÜZERİNE  
ETKİSİ**

Esin TOKMAK ÖZŞAHİN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI  
Prof. Dr. Özkan OĞUZ

ADANA – 2008

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI

**OSTEOPOROTİK SIÇAN MODELİNDE ALENDRONAT  
SODYUM'UN TRABEKÜLER KEMİK YAPISI ÜZERİNE  
ETKİSİ**

Esin TOKMAK ÖZŞAHİN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Özkan Oğuz

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF2004D5 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: TF2004D5

ADANA – 2008

## KABUL VE ONAY FORMU

### Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan “Osteoporotik Sıçan Modelinde Alendronat Sodyum’un Trabeküler Kemik Yapısı Üzerine Etkisi” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/ 07/ 2008

**İmza**

**Prof. Dr. Özkan OĞUZ**

**Çukurova Üniversitesi  
Jüri Başkanı**

**İmza**

**Prof. Dr. Fahri DERE  
Çukurova Üniversitesi**

**İmza**

**Prof. Dr. Ahmet H.YÜCEL  
Çukurova Üniversitesi**

**İmza**

**Prof. Dr. Yakup GÜMÜŞALAN  
Kahramanmaraş  
Sütçü İmam Üniversitesi**

**İmza**

**Prof. Dr. Cüneyt Evrûke  
Çukurova Üniversitesi**

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Halil KASAP  
Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Anatomi Anabilim Dalında doktora yapmama olanak sağlayan ve her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocam Ç.Ü. Temel Tıp Bilimleri Başkanı ve Ç.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fahri DERE'ye , doktora eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, bana yol gösteren, her konuda olduğu gibi bu tezin hazırlanması sırasında da daima yanımda olan, her aşamada, her konuda verdiği değerli bilgilerden ve yardımlarından dolayı kıymetli hocam Ç.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Özkan OĞUZ'a, tezimin deneysel kısmında ve sonuçların değerlendirilmesinde göstermiş olduğu ilgi ve yardımlarından dolayı Ç.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mehmet KÜRKCÜ'ye, tezimin biyokimyasal sonuçlarının yorumlanmasında Ç.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Yard.Doç.Dr. Tamer İNAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Tezde kullandığımız deney hayvanlarının sağlanmasında ve deneylerimiz sırasında göstermiş oldukları ilgi ve yardımlarından dolayı, Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezine ve Veteriner Hekim Dr. Kenan DAĞLIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın bütününde olduğu gibi eğitimim sırasında da tüm desteğini arkamda hissettiğim sevgili eşime teşekkürü borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİ	3
2.1.Kemik Morfolojisi	3
2.1.1.Kemik	3
2.1.2.Kemik Hücreleri	3
2.1.2.a.Osteoblastlar	3
2.1.2.b.Osteositler	4
2.1.2.c.Osteoklastlar	5
2.1.3.Kemik Matriksi	6
2.1.4.Kemik Tipleri	7
2.1.4.a. Primer Kemik Dokusu	8
2.1.4.b. Sekonder Kemik Dokusu	8
2.1.5.Histogenez	10
2.1.5.a. İntramembranöz Kemikleşme	10
2.1.5.b.Endokondral Kemikleşme	11
2.1.6.Kalsifikasyon Mekanizması	14
2.1.7.Kemiğin Büyümesive yeniden Şekillenmesi	14
2.1.8. Kırık Onarımı	15
2.1.9.Histofizyoloji	15
2.1.9.a. Destek ve Koruma	15
2.1.9.b. Şekillenebilme Özelliği	16
2.1.9.c. Kalsiyum Deposu	16

2.1.9.d. Beslenme	17
2.1.9.e. Hormonal Faktörler	18
2.2.Osteoporoz	19
2.2.1.Tanım	19
2.2.2.Patogenez	19
2.2.3.Risk Faktörleri	21
2.2.4.Sınıflama	21
2.2.4.a.Yaşa Bağlı Osteoporoz Sınıflaması	22
2.2.4.b.Kemiğin Histolojik Görünümüne Göre Osteoporoz Sınıflaması	22
2.2.4.c.Etyolojik Nedene Göre Osteoporoz Sınıflaması	22
2.2.5. Osteoporozda Kemik	23
2.2.6. Epidemiyoloji	25
2.2.7. Tanı	26
2.2.8. Tedavi	29
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>31</b>
3.1.Deney	31
3.1.1.Deney Hayvanları	31
3.1.2. Deneysel Model	31
3.1.3.Plazma ve İdrar Biyokimyası	32
3.1.4.Kemik İzolasyonu	32
3.2. Değerlendirme Yöntemleri	32
3.2.1.Morfometrik Yöntem	33
3.2.2.Dansitometrik Yöntem	33
3.2.3. Biyomekanik Yöntem	34
3.2.4.Histomorfometrik Yöntem	36
3.2.4.1.Dekalsifiye Edilmemiş Kemik Preparatların Hazırlanması	36
3.2.4.2.Histomorfometrik İnceleme	37
3.2.4.3 İstatistiksel Değerlendirme	38
<b>4. BULGULAR</b>	<b>39</b>
4.1. Plazma ve İdrar Biyokimyası	39

4.2.Morfometrik Bulgular	41
4.3.Dansitometrik Bulgular	42
4.4.Biyomekanik Test Bulguları	43
4.5. Kemik Histomorfometri Bulguları	45
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	76

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kemik Dokusu Hücreleri	5
Şekil 2.2. Makroskopik Yapısına Göre a) Kompakt Kemik b) Spongioz Kemik	10
Şekil 3.1. Kalibrasyon	33
Şekil 3.2. Dansitometrik Ölçüm	34
Şekil 3.3. Üç nokta eğme testi için hazırlanan düzener	35
Şekil 3.4. Üniversal Test Cihazı	35
Şekil.3 5. Hassas Kesme Ünitesi	36
Şekil. 3. 6. Hassas Aşındırma Ünitesi	37
Şekil .3.7. Histomorfometri Yazılım	38
Şekil 4.1. Plazma Osteokalsin Sonuçları	39
Şekil 4.2. Plazma Kreatinin Sonuçları	39
Şekil 4.3. Plazma Kalsiyum Sonuçları	40
Şekil 4.4. İdrar Kreatinin Sonuçları	41
Şekil 4.5. İdrar Kalsiyum Sonuçları	41
Şekil 4.6. Caput tibia çap ölçümü	42
Şekil .4.7. Collum tibia çap ölçümü	42
Şekil.4.8.Shm,Ovx-SF,Ovx-A gruplarında tibia dansitometrik Ölçümleri	43
Şekil 4.9. Shm,Ovx-SF, Ovx-A gruplarında vertebra dansitometrik Ölçümleri	43
Şekil 4.10. Tibia kırılma kuvveti (N)	44
Şekil. 4.11. Tibialara maksimum uygulanan kuvvet (N)	44
Şekil 4.12. Tibialara alttan uygulanan kuvvet (N)	45
Şekil.4.13. Tibialara üstten uygulanan kuvvet (N)	45
Şekil.4.14. Shm grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş femur kesiti, Toluidine blue (x40)	46
Şekil 4.15.Ovx-SF grubunda dekalsifiye edilmemiş femur kesiti Toluidine blue (x40)	46
Şekil 4.16. Ovx-A grubu sıçanların dekalsifiye edilmemiş femur kesiti, Toluidine blue (x40)	47
Şekil.4.17. Femurun kemik hacim/ toplam doku hacim oranı (BV/TV)	48

Şekil 4.18. Femurun mineralize hacim/kemik hacim oranı (Md.V/BV)	48
Şekil 4.19. Femurun mineralize hacim/ toplam doku hacim oranı ( Md.V/TV)	48
Şekil 4.20. Femurun osteoid hacim /kemik hacim oranı (OV/BV)	48
Şekil. 4. 21. Femurun osteoid hacim /toplam doku hacim oranı (OV/TV)	49
Şekil 4.22. Femurun kemik yüzeyi/ kemik hacim oranı (BS/BV)	49
Şekil.4.23.Femurun kemik yüzeyi/ toplam doku hacim oranı (BS/TV)	49
Şekil.4.24. Femurun trabekül sayısı (Tb.N)	49
Şekil 4.25. Femurun trabeküler kalınlığı (Tb.Th)	50
Şekil 4.26. Femurun trabeküller arası mesafesi (Tb.Sp)	50
Şekil 4.27. Shm grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş vertebra kesiti, Toluidine blue (x40)	51
Şekil. 4.28. Ovx-SF grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş vertebra kesiti, Toluidine blue (x40)	51
Şekil 4.29. Ovx-A grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş vertebra kesiti, Toluidine blue (x40)	52
Şekil 4.30. Vertebranın kemik hacim /toplam doku hacim oranı (BV/TV)	53
Şekil. 4.31.Vertebranın mineralize hacim /kemik hacim oranı (Md.V/BV)	53
Şekil 4. 32. Vertebranın mineralize hacim /toplam doku hacim oranı (Md.V/TV)	53
Şekil.4.33. Vertebranın osteoid hacim /kemik hacim oranı (OV/BV)	53
Şekil.4.34. Vertebranın osteoid hacim /toplam doku hacim oranı (OV/TV)	54
Şekil 4.35. Vertebranın kemik yüzeyi /kemik hacim oranı (BS/BV)	54
Şekil 4.36. Vertebranın kemik yüzeyi /toplam doku hacim oranı (BS/TV)	54
Şekil 4.37. Vertebranın trabekül sayısı (Tb.N)	54
Şekil. 4.38. Vertebranın trabeküler kalınlığı (Tb.Th)	55
Şekil 4.39.Vertebranın trabeküller arası mesafesi (Tb.Sp)	55

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 NOF'a göre KMY Ölçümü Endikasyonları	28
Çizelge 4.1. Plazma biyokimya sonuçları	39
Çizelge 4.2. İdrar biyokimya sonuçları	40
Çizelge 4.3. Caput tibia ve collum tibiannın çap ölçümleri (mm)	41
Çizelge 4.4. Tibia dansitometrik ölçümleri	42
Çizelge 4.5. Vertebra dansitometrik ölçümleri	43
Çizelge 4.6. Biyomekanik ölçümler	44
Çizelge 4.7. Femurun histomorfometrik analiz sonuçları	47
Çizelge 4.8. Vertebraanın histomorfometrik analiz sonuçları	52

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

FDA	Food and Drug Administration
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Kalsiyum hidroksi di fosfat
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
KMY	Kemik Mineral Yoğunluğu
SD	Standart Deviasyon
DEXA	Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometre
PTH	Parathormon
RA	Romatoid Artrit
SLE	Sistemik Lupus Eritematosus
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
MEDOS	Akdeniz Osteoporoz Çalışması
DIP	Digital Image Processing
SPA	Single Photon Absorbsiyometri
DPA	Dual Photon Absorbsiyometri
USG	Ultrasonografi
BT	Bilgisayarlı Tomografi
NOF	National Osteoporosis Foundation
Ovx	Overiektomize
WHI	Women's Health Initiative
SERMs	Selektif Östrojen –Reseptör Modülatörleri
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
OV/BV	Osteoid volümü
OS/BS	Osteoid Yüzeyi
O.Th	Osteoid Kalınlık
ES/BS	Erozyone Yüzey
WTh	Duvar Kalınlığı
RsDe/mm	Rezorbsiyon Derinliği
Af	Aktivasyon Frekansı
BMU	Basic Multicellular Unit
BSU	Basic Structural Unit
Ct wi	Kortikal kalınlık
Tb Th	Trabeküler Kalınlık
BV	Total Kemik Volümü
/mm	Trabeküler Sayı
TIBDAM	Çukurova Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi
°	Derece
°C	Santigrad
µm	Mikrometre
SHM	Sham Opere
SF	Serum Fizyolojik
A	Alendronat sodyum
BV/TV	Kemik Hacim /toplam doku hacim oranı
Md.v/BV	Mineralize Hacim/toplam doku hacim oranı
OV/TV	Osteoid Hacim/ toplam doku hacim oranı
BS/BV	Kemik yüzey/ kemik hacim oranı
BS/TV	Kemik yüzey/toplam doku hacim oranı
Tb.N	Trabekül sayısı
Tb.Sp	Trabeküller arası mesafe
Min	Minimum
Maks	Maksimum
Med	Median

## ÖZET

### Osteoporotik Sıçan Modelinde Alendronat Sodyum'un Trabeküler Kemik Yapısı Üzerine Etkisi

Bu çalışma, osteoporotik sıçan modelinde, alendronat sodyum tedavisinin tibia, femur ve vertebradaki etkisini biyokimyasal, morfolometrik, dansitometrik, biyomekanik ve histomorfometrik açıdan değerlendirmek amacıyla yapıldı. Çalışmada, Çukurova Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi (TIBDAM) tarafından yetiştirilen 3 aylık, 60 adet dişi Wistar türü sıçan kullanıldı. Bu sıçanların 40 tanesi overiektomize (Ovx) edilirken, 20 tanesine ise sham operasyon (Shm) yapıldı. Sıçanlar daha sonra Shm opere (n=20), overiektomize alendronat (Ovx-A, n=20) ve overiektomize serum fizyolojik (Ovx-SF, n=20) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Shm opere gruba postoperatif dönemde herhangi bir farmakolojik uygulama yapılmazken, 56 gün boyunca Ovx-A grubuna 1mg/kg/gün dozunda alendronat sodyum gastrik gavaj yöntemiyle, Ovx-SF grubuna ise gastrik gavaj yöntemi ile 1ml/kg/gün dozunda serum fizyolojik verildi.

Deneysel olarak osteoporoz oluşturduğumuz Ovx-SF grubu sıçanlarda serum osteokalsin ve kreatinin değerlerinde artış, kalsiyum değerinde azalma, idrar kreatinin ve kalsiyum değerlerinde artış gözlemlendi. Alendronat tedavisi uyguladığımız Ovx-A grubunda ise serum osteokalsin, kreatinin değerlerinde azalma görülürken kan kalsiyum değerinde artma, idrar kreatinin ve kalsiyumunda azalma saptandı. Dansitometrik ölçümlerde, Ovx-SF grubunda, kemik mineral yoğunluğunda azalma, Ovx-A grubunda artış gözlemlendi. Biyomekanik ölçümler sonucunda; kırılma kuvvetinde, Ovx-SF grubu sıçanlarda azalma görülürken, Ovx-A grubunda artış tespit edildi. Histomorfometrik değerlendirmelerde; Shm grubunda trabeküler yapının normal olduğu, Ovx-SF grubunda trabeküler yapının bozulduğu, trabeküler sayının, trabeküler kalınlığının azaldığı ve trabeküller arası mesafenin arttığı gözlemlendi. Ovx-A grubunda trabeküler yapıda iyileşme, trabekül sayısında ve trabekül kalınlığında artma, trabeküller arası mesafede ise azalma gözlemlendi.

Bu çalışmanın sonuçları, postmenopozal kadınlarda ortaya çıkan osteoporozun tedavisinde alendronat sodyum ile yapılan tedavinin değerli olduğunu desteklemektedir.

**Anahtar sözcükler:** Osteoporozis, Alendronat sodyum, histomorfometri, dansitometri, biyomekanik

## **ABSTRACT**

### **The Effect of Alendronate Sodium on Trabecular Bone Structure in the Osteoporotic Rat Model**

**This study was performed to assess the effect of Alendronate sodium treatment on biochemical, densitometric, biomechanic and histomorphometric parameters in the osteoporotic rat model. Sixty female Wistar rats each 3-month-old from Cukurova University Medical Experimental Research Center (TIBDAM) were used in this study. Forty 40 of the rats were ovariectomized and 20 went under sham operation. After that; the rats were divided into three groups as sham operated (n=20), ovariectomized alendronate (Ovx-A , n=20) and ovariectomized vehicle (Ovx-SF, n=20). Sham operated group was given no pharmacological treatment but the Ovx-A group received 1mg/kg/day Alendronate sodium through gastric gavage for 56 days. Ovx-SF group was given 1ml/kg/day vehicle through gastric gavage for 56 days.**

**In the Ovx-SF group, in which experimental osteoporosis was initiated, an increase in the plasma osteocalcin and creatinin values and a decrease in plasma calcium values and an increase in urinary creatinin and calcium levels were noted. In the Ovx-A group, to which alendronate was given, a decrease in the plasma osteocalcin and creatinin values, an increase in the plasma calcium values and a decrease in the urinary creatinin and calcium levels were noted. As for the densitometric measurements bone mineral density decreased in the OVx-SF group and increased in Ovx-A group. The biomechanic measurements showed a decrease in the breaking force in the Ovx-SF group and an increase in the Ovx-A group . Histomorphometric measurements showed that the Sham group had normal trabecular structure, Ovx group had deteriorated trabecular structure, along with a loss in the trabecular count and thickness with an increase in trabecular space. In the Ovx-A group an increase in trabecular number and thickness together with an improvement in trabecular structure and a loss in the trabecular space were noted**

**The results of this study support that alendronate sodium is a valuable treatment agent of osteoporosis in postmenopausal women.**

**Key words. Osteoporosis, Alendronate sodium , histomorphometry, densitometry, biomechanics**

# 1.GİRİŞ

Osteoporoz, düşük kemik kitlesi ve kemik dokusunun mikromimari yapısındaki bozulma sonucu kemik kırılabilirliğinde artış ile karakterize multifaktöriyel sistemik bir hastalıktır<sup>1,2,3</sup>. Bu hastalığın etkisi özellikle menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda ve yaşlı popülasyonda kalça ve vertebra kırıkları ile kendini göstererek morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. Ayrıca dünyada yaşlanan nüfus oranının gün geçtikçe artması, osteoporoz'un tanısı, önlenmesi ve tedavisi konusunda her geçen gün hastalığa olan ilgiyi artırmış ve yeni araştırmaların yapılmasını sağlamıştır<sup>1</sup>.

Kemik kitle kaybı sırasında genelde bütün iskelet bölgeleri risk altında olduğundan tüm iskelet yapısını kapsayabilecek tedavilerin kullanılması tercih edilmelidir. Bu amaç için geliştirilen bifosfonatlar ve antirezorptif ilaçlar ile yapılan randomize çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmış ve kırıkları önlediği gösterilmiştir. Bu uygulamanın dışında hormon replasmanı, kalsiyum, vitamin D, kalsitonin veya flor tedavisi gibi yaklaşımları benimseyen çalışmalara da rastlanılmaktadır<sup>3</sup>.

Bifosfonatlar, postmenapozal osteoporoz tedavisi açısından elde bulunan en etkili antirezorptif ajanlardır. Hepsi de ortak pirofosfat yapısı içerir ve bu da farmakolojik grubu tayin eder. Bifosfonatlar pirofosfatların yapısal analogları olup kemiğin ana organik komponenti olan hidroksiapatite potent kimyasal affiniteleri olması ile kemik üzerinde spesifik aktivite gösterirler. En sık kullanılanlar alendronat ve risedronatlardır<sup>3</sup>. Fakat alendronat, içerdiği yan zincir olan amino grubu nedeniyle, diğer bifosfonatlara göre daha güçlü ve selektiftir<sup>4</sup>.

Osteoporoz tedavisine yönelik yapılan çalışmalarda kemik kaybını yansıtabilmesi açısından değişik hayvan türleri model olarak kullanılmıştır. Overiektomize sıçan bunlar arasında en sık kullanılan ve Amerikan FDA tarafından postmenapozal kemik kaybının çalışılabilmesi için en uygun olarak kabul edilen modeldir<sup>5,6</sup>.

Alendronat sodyum'un etkisi, metabolik, dansitometrik ve klinik tolerabilite açısından son 10 sene içindeki osteoporoz çalışmalarında yoğun bir şekilde araştırılmış olmasına rağmen histomorfometrik açıdan fazla incelenmemiştir. Bundan dolayı çalışmamızda, alendronat sodyum'un trabeküler kemik yapısı üzerindeki etkisinin

histomorfometrik, dansitometrik, biyokimyasal ve biyomekanik yöntemlerle ayrıntılı olarak araştırılması hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİ

### 2.1. KEMİK MORFOLOJİSİ

#### 2.1.1. Kemik

Kemik yetişkin iskeletinin en önemli yapı taşıdır. Yumuşak dokulardan meydana gelmiş yapıları destekler. Kafatası ve toraks boşluklarında yer alan yaşamsal organları korur. Kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğinin de yatağıdır. Ayrıca kalsiyum fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için bu önemli iyonların kontrollü olarak salıverilmelerini ya da depolanabilmelerini sağlar. Bu işlevlerine ek olarak bir kaldıraç sistemi oluşturup çizgili kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri arttırarak bunları bedensel hareketlere dönüştürür<sup>7,8</sup>.

Kemik, özel bir bağ dokusudur. Kemik matriksi denilen hücrelerarası madde kalsifiye olmuştur. Üç hücre tipi içerir. Bu hücreler matriksin laküne adı verilen kavtelerinde yerleşmiş olan osteositler, matriksin organik kısmının sentezini yapan osteoblastlar ve kemik dokusunun rezorpsiyonu ve yeniden modellenmesini sağlayan çok çekirdekli dev bir hücre olan osteoklastlardır<sup>8</sup>.

Metabolitler kalsifiye kemik matriksinden difüzyonla geçemezler, dolayısıyla osteositler ile kan kapillerleri arasındaki madde alışverişi, matriksi ince ve silindirik olarak delip geçen kanalcıklar içindeki hücrelerarası iletişim sayesinde sağlanır. Bütün kemikler iç yüzeylerde endosteum ve dış yüzeylerde de periosteum adı verilen osteojenik hücrelere sahip zarlar ile örtülüdür. Kemik, sertliği nedeniyle mikrotomla direkt kesilemez. Mikrotom ile kesit alabilmek için kemiklerin dekalsifiye edildiği veya dekalsifiye edilmediği iki farklı yöntem kullanılır. Ayrıca kemikte aşındırma yöntemi de inceleme yapmak için kullanılmaktadır<sup>8</sup>.

#### 2.1.2. Kemik Hücreleri

##### 2.1.2.a. Osteoblastlar:

Osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenlerin sentezinden (tip1 kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler) sorumludur. Kemik'in inorganik kısımlarının

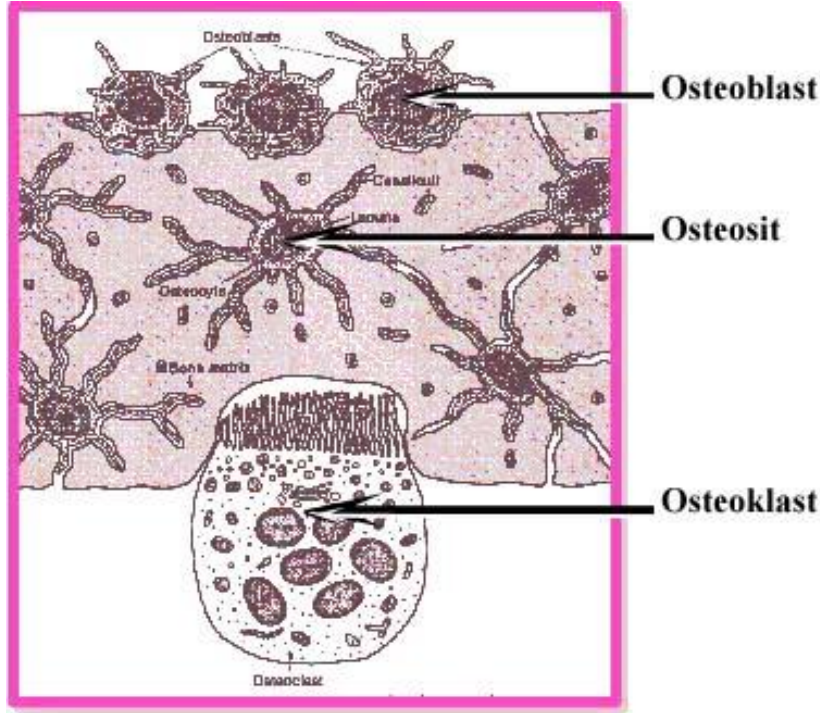
yapılabilmesi canlı osteoblastların varlığına bağlıdır. Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitelyum hücrelerini andıran şekilde yan yana dizilirler. Matriks sentezini yapmaya başladıklarında şekilleri kübikten prizmatığe kadar değişebilir. Alkali fosfataz aktivitesi artar ve sitoplazma bazofilik hale gelir. Sentez faaliyetleri azaldıkça yassılaşırlar ve bazofilik özellikleri de azalır. Osteoblastların komşu osteoblastlar ile temaslarını sağlayan sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman daha da belirgin hale gelmektedirler. Osteoblastlar yeni sentez edilmiş matriks ile sarıldığında, osteosit adını alırlar. Hücrenin ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması laküna ve kanalcıkları belirgin hale getirir.

Matriks sentezi sırasında osteoblastlar ince yapı düzeyinde aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzerler. Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir. Matriks sekresyonu, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden olur. Böylece osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında osteoid adını alan yeni ancak henüz kalsifiye olmamış matriks yer alır. Bu olaya kemik apozisyonu denir ve zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile işlem tamamlanır<sup>8</sup> (Şekil 2.1).

#### **2.1.2.b. Osteositler:**

Osteoblastlardan köken alan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içine yerleşmişlerdir. Her lakünada sadece bir osteosit vardır. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindir matriks kanalcıklarıyla sarılmıştır. Komşu osteositler sitoplazmik uzantılarının birbirleri arasında yaptıkları hücre bağlantılarıyla temas oluşturup besin maddelerinin bu yapılar aracılığıyla hücreden hücreye geçişini sağlarlar. Osteositler ile kan damarları arasında oluşa gelen bazı moleküler değiş tokuş işlemleri osteositler ile kemik matriksi arasında bulunan çok az miktardaki ekstrasellüler madde aracılığıyla da gerçekleşir. Bu değişim aşağı yukarı 15 hücrelik bir osteosit zincirine destek sağlayabilmektedir.

Osteositler, osteoblastlarla kıyaslandığında yassı elips şeklindedir. Endoplazmik retikulumları ve golgi kompleksleri dikkati çekecek kadar küçülmüştür. Çekirdek kromatinleri daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol alırlar. Osteositlerin ölümünün ardından matriks rezorpsiyonu oluşur<sup>8</sup> (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Kemik dokusu hücreleri.

### 2.1.2.c. Osteoklastlar:

Osteoklastlar, çok büyük ve ileri derecede dallanmış olan hareketli hücrelerdir. Hücre gövdesinin genişlemiş kısmında 5-50 (ya da daha fazla) sayıda çekirdeği vardır. Hücrenin dalları oldukça düzensiz, farklı biçimde ve kalınlıktadır. Bu hücreler kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış, Howship lakünası adı verilen çukurcularda bulunurlar. Osteoklastlar kökenini kandan alan monositlerin birleşmesi ile oluştuğundan mononükleer fagositik sistemin kapsamı içinde yer almaktadırlar. Osteoklastların sitoplazmaları genellikle asidofiliktir. Aktif osteoklastlarda kemik matriksine bakan yüzey düzensiz olarak katlanıp çoğu kez dallanarak girintili çıkıntılı hale gelen fırçamsı bir kenar oluşturur. Fırçamsı kenarı etrafında organel içermeyen sitoplazmik bir bölge (şeffaf bölge) bulunmaktadır. Bu bölge aktin filamanları açısından zengindir. Burası osteoklast'ın kemik matriksine tutunduğu alandır ve kemik rezorpsiyonu için mikro çevre oluşturur. Hücre içinde çok sayıda lizozoma ek olarak granüllü endoplazmik retikulum çok miktarda mitokondri ve iyi gelişmiş bir golgi kompleksi bulunur. Kalsiyum içeren kristaller kıvrımlar arasında

görüldüğü gibi, sitoplazmik vakuollerde de izlenmiştir. Bu vakuoller olasılıkla osteoklastların yüzey membranlarından kaynaklanmaktadır. Osteoklastların kıvrımlarına yakın ekstrasellüler alanlardaki kollajen liflerin birbirinden ayrıldığı da bildirilmiştir. Ancak tüm bu olaylar, hiçbir zaman hücrenin sitoplazması içinde cereyan etmez. Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen artıkların ortadan kaldırılmasında aktif olarak rol alırlar<sup>8</sup> (Şekil 2.1).

### 2.1.3. Kemik Matriksi

İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %50 sini oluşturur. İçeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat çoktur. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulunur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda kalsiyum ve fosforun,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  kompozisyonunda birleşerek hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür. Burada önemli miktarda amorf kristal olmayan kalsiyum fosfat da vardır. Elektron mikrograflarda, kemik hidroksiapatit kristalleri 40x25x3nm. boyutlarında plakalar halinde görülür. Kollajen liflerin yanında amorf madde ile çevrili halde yerleşmişlerdir. Hidroksiapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile kaplanmışır. Hidrasyon kabuğu adı verilen bu tabaka vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişinin gerçekleşmesini kolaylaştırır. Organik madde Tip 1 kollajenden ve proteoglikan çökeltilerini içeren amorf temel maddeden oluşur. Kemikten birkaç özgül glikoprotein izole edilmiştir.

Kemik siyaloproteini (siyalik asitten zengin) ve osteokalsin, kalsiyuma sıkıca bağlanabilmelerini sağlayan ve olasılıkla kemik matriksinin kalsifikasyonunu başlatmaktan sorumlu olan birkaç  $\gamma$ -karboksiglutamik asit kalıntısı içerir. Normalde Tip 1 kollajen içeren diğer dokular kalsifiye olmaz ve proteinleri içermez. Kollajenden zengin olduğu için dekalsifiye edilmiş kemik, kollajen boyaları ile koyu olarak boyanır.

Hidroksiapatit ile kollajen lifleri arasındaki ilişki, kemiğin özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur. Kemik dekalsifiye edildikten sonra şeklini korur ancak bir tendon kadar esnek hale gelir. Çoğunluğu kollajenden oluşan

matriksin organik kısımlarının ortadan kaldırılması halinde de kemiğin orijinal şekli bozulmaz ancak kolayca kırılabilir hale gelir<sup>8</sup>.

### **Periosteum ve Endosteum**

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Dıştakine periosteum içtekinde de endosteum denir. Periosteumun dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Demetler halinde periosteal kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden yana zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktardaki granüllü endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş golgi kompleksleriyle özellik kazanırlar. Otoradyografik çalışmalar, bu hücrelerin 3H- Thymidine'i aldıklarını ve daha sonra bu maddenin osteoblastlarda da görüldüğünü ortaya çıkarmıştır. Bu hücreler kemiğin büyümesi ve onarımında başlıca rolü oynarlar.

Endosteum kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu yüzden endosteum periosteumdan oldukça incedir. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilir.

### **2.1.4. Kemik Tipleri**

Kemiğin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu 2 farklı tip kemik bulunduğu ortaya konmuştur. Primer olgunlaşmamış ya da kaba lifli kemik ve sekonder, olgun yada lameller kemik. Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller şeklinde organize olmuş lameller lif dağılımının aksine, primer kemik, rastgele ve değişik yönlerde dağılmış ince kollajen lifleri ile özellik kazanmaktadır.

Enine kesilmiş kemik kesitleri kabaca incelendiğinde boşluksuz yoğun sahalar kompakt kemiği, çok sayıda birbirleri ile ilişkili boşluklardan oluşan alanlar ise süngerimsi kemiği oluştururlar (Şekil 2.2). Bununla birlikte mikroskopik olarak gerek

kompakt kemiğin gerekse süngerimsi kemiğin boşlukları birbirinden ayıran trabeküllerin histolojik yapısı aynıdır. Uzun kemiklerin şişkince olan uç kısımlarına epifiz denir. Epifizler ince bir kompakt kemik tabakasıyla kaplanmış süngerimsi kemikten oluşmuştur. Diyafiz adı verilen silindirik kısmın hemen hemen tümü kompakt kemikten oluşur ve kemik iliği boşluğuna bakan yüzeylerinde çok az süngerimsi kemik vardır. Çoğu kez kısa kemiklerin merkezlerindeki süngerimsi kemik, tamamen kompakt kemikle çevrelenmiştir. Kafatası kemiklerini oluşturan yassı kemikler, diploe adı verilen süngerimsi kemik tabakasıyla ayrılan plaka denilen 2 kompakt kemik tabakasına sahiptir. Süngerimsi kemikle uzun kemiklerin diyafizlerindeki kemik boşlukları iki tür kemik iliği ile doldurulmuştur. Bunlardan biri, kan hücrelerinin oluşturduğu kırmızı kemik iliği, diğeri ise çoğunluğu yağ hücrelerinden oluşan sarı kemik iliğidir<sup>7,8</sup>.

#### **2.1.4.a. Primer Kemik Dokusu:**

İlk ortaya çıkan kemik dokusu primer kemiktir. Geçicidir ve yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, dış alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç yer dışında yerini sekonder kemiğe bırakır. Primer kemik dokusu sekonder kemik dokusuna oranla, rastgele dizilmiş kollajen liflerin yanı sıra daha az mineral içerir. (Röntgen ışınları daha kolay geçer) ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir.

#### **2.1.4.b. Sekonder Kemik Dokusu:**

Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde bulunan bir çeşittir. Burada kollajen lifler tipik olarak 3-7µm kalınlığında birbirlerine paralel ya da vasküler bir kanal etrafında dairesel olarak yerleşmiş lameller şeklinde düzenlenmiştir. Kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren bir kanal etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe havers sistemi ya da osteon denir. Osteosit içeren lakünalar, lamellerin arasında ve seyrek olarak da içinde bulunur. Her lamelde kollajen lifler birbirlerine paraleldir. Her Havers sisteminin etrafı, birkaç kollajen lif ve mineralize amorf matriksten oluşan yapıştırıcı madde ile çevrelenir. Kompakt kemikte lameller, örneğin uzun kemiklerin diyafizlerinde havers sistemleri, dış dairesel lameller, iç dairesel lameller ve interstisyel lamellerden ibaret tipik bir düzenlenim gösterirler. Her havers sistemi uzun sıkça dallanan ve diyafizin uzun eksenine paralel olan bir

silindirdir. Merkezi bir kanal çevresinde yerleşmiş 4-20 dairesel lamelden oluşur. Endosteumla örtülü her kanal içinde kan damarları, sinirler ve gevşek bağ dokusu bulunur. Havers kanalları yatay ya da oblik seyreden Volkman Kanalları aracılığıyla kemik iliği boşlukları, periosteum ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır. Volkman kanallarının dairesel lamelleri yoktur. Lamelleri delerek geçerler. Kemik önce var olan kan damarlarının etrafına matriksin çökmesiyle meydana gelir. Havers sistemi polarize ışıkla incelendiğinde, parlak anizotropik tabakalar ile karanlık izotropik tabakaların değişimli bir sıra izledikleri görülür. Kollajen lifler uzun eksenlerine dik açıyla gelen polarize ışıkta incelendiğinde çift kırıcı (anizotropik) oldukları görülür. Parlak ve karanlık tabakaların birbirleriyle değişimli oluşu, kollajen liflerin lameller içindeki yönlerine bağlıdır. Her lamelde lifler birbirlerine paraleldir ve sarmal şeklinde seyrederler. Bununla birlikte sarmalın açıklığı her lamelde farklıdır. Bu şekilde komşu iki lamelin lifleri birbirlerini yaklaşık olarak dik açıyla keser. Havers kanallarının çapları oldukça farklıdır. Her sistemin lamelleri dıştan içe doğru birbiri ardına oluşur, bu nedenle genç sistemlerin kanalları daha büyüktür. Olgun havers sistemlerinde en yeni oluşan lamel, merkezi kanala en yakın olanıdır. Büyüme sırasında ve hatta yetişkin kemikte Havers sistemleri sürekli yıkılarak yeniden yapıldığı için çoğu zaman oldukça büyük bir merkezi kanal ve bir iki lamelden ibaret sistemler görülebilir. İç ve dış dairesel lameller, adlarından da anlaşılacağı gibi, kemik iliği boşluğunun çevresinde ve periosteumun hemen altında yer alır. Bunların lamelleri merkezleri kemik iliği boşluğu olmak üzere, dairesel olarak yerleşmişlerdir. Dış dairesel lamellerin sayısı, iç dairesel lamellerden daha fazladır. Her iki dairesel sistem arasında çok sayıda havers sistemi vardır. Havers sistemlerinin arasında da üçgen ya da düzensiz gruplar halinde, birbirlerine paralel lamellerden oluşan interstisyel ya da ara lameller bulunur. Bunlar büyüme ve yeniden şekillenme sırasında yıkılan eski havers sistemlerinden arta kalan lamellerdir<sup>8</sup>.



**A**



**B**

**Şekil 2.2.** Makroskopik yapısına göre; **A)** Kompakt kemik, **B)** Spongioz kemik

### **2.1.5. Histogenez**

Kemik 2 yolla oluşur. Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) ya da daha önce var olan kıkırdak matriksinin çökmesi (endokondral kemikleşme). Her iki yolla da, ilk ortaya çıkan kemik dokusu, primer ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir. Ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu (lamelli kemik) alır. Büyüme sürecinde, primer kemik sahaları, rezorbe olan sahalar ve lamelli kemik sahaları yan yana bulunur. Kemik sentezi ve ortadan kaldırılışı (yeniden şekillenme) sadece büyüyen kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de hızını oldukça azaltarak hayat boyu devam eder.

#### **2.1.5.a. İnamembranöz kemikleşme**

Pek çok yassı kemiğin kaynaklandığı intramembranöz kemikleşmeye, mezenşimal doku yoğunlaşması içinde olduğu için bu ad verilmiştir. Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşmeyle meydana gelir. İnamembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında rolü vardır. Mezenşimal yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Olay bir grup mezenşimal hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile başlar. Yeni kemik matriksinin oluşmasını, kalsifikasyon takip eder. Bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline gelirler. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına histolojik kesitlerdeki görüntülerinden

ötürü spikül (iğnecik) adı verilir. Spiküller aralarında kapillerleri, kemik iliği hücrelerini ve farklılaşmamış hücreleri içeren boşluk uzantılarını saran duvarların kesitleridir. Kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanlarda böyle birkaç grup ortaya çıkar ve bunlar birleşerek, zamanla süngerimsi yapıyı meydana getirirler. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin girmesi ile, kemik iliği hücreleri de meydana gelir. Mezenşimal doku yoğunlaşması içindeki hücreler bölünerek kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan daha fazla sayıda osteoblastı meydana getirirler. Birkaç kemikleşme merkezi ışımsal olarak büyüyüp birleşerek, başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bebeklerdeki bingıldaklar (fontaneler) buna bir örnek olarak gösterilebilirler. Bunlar bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgelerine karşılık gelmektedirler. Özellikle doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin gerek iç gerekse dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına nazaran belirgin bir üstünlük kazanır. Böylece 2 tabaka kompakt kemik (iç ve dış tabakalar) ortaya çıkar ama merkezi kısım (diploe) süngerimsi yapısını korur. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise, intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu meydana getirir.

### **2.1.5.b. Endokondral Kemikleşme**

Endokondral kemikleşme şekli, meydana getirilecek kemiğin şekline benzeyen hiyalin kıkırdaktan oluşmuş küçük bir model içinde cereyan eder. Bu tür kemikleşme kısa ve uzun kemiklerin şekillenmesinden sorumludur. Temel olarak endokondral kemikleşme 2 aşamadan ibarettir. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Geriye kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayırdığı genişlemiş lakünalar kalır. İkinci aşamada osteoprogenitor hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuk dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan alanlara girer. Osteoprogenitor hücreler kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayan osteoblastlara dönüşür. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları kemikleşmenin başlamasına destek olur. Uzun kemikler her iki ucu genişlemiş (epifiz) silindirik bir gövdeden (diyafiz) oluşmuş hiyalin kıkırdak modellerden meydana gelir. Ortaya çıkacak olan ilk kemik dokusu diyafizleri saran

perikondriumun içindeki intramembranöz kemikleşme yoluyla oluşur. Böylece kırıkdağı saran perikondriumun iç kısmında kemik manşeti adı verilen silindirik bir kemik tabakası meydana gelir. Yeni oluşan kemiği sardığı için bundan böyle perikondriuma da periosteum adı verilir. Yeni meydana gelen kemik manşetin içinde kalan kondrositler dejenere olur, kırıkta matriksinin devamlılığını sağlama yetenekleri de ortadan kalkar; kalsiyum çökmeye başlar ve kırıkta matriksi kalsifiye olur. Periosteumdan kaynaklanan osteojenik tomurcuğun kan damarları, osteoklastlar tarafından kemik manşette açılan deliklerden geçerek kalsifiye olmuş kırıkta matriksi içine girer. Kan damarlarının yanı sıra osteoprogenitor hücreler de bu alana girerler. Prolifere olarak osteoblastları oluştururlar. Osteoblastlar kalsifiye kırıkta matriksi üzerinde aralıksız bir tabaka oluşturarak kemik matriksini sentezlemeye başlarlar. Böylece kalsifiye olmuş kırıkta artıkları üzerinde primer kemik sentezi başlar. Öte yandan osteojenik tomurcuk aracılığı ile kan dolaşımındaki kemik iliğinin kök hücreleride yeni oluşan kemiğin içine getirilir. Histolojik kesitlerde kalsifiye kırıkta bazofilik olarak üzerine çökmüş kemik dokusunda asidofilik olarak birbirinden ayırd edilebilir. Kemik matriksi geliştikçe kalsifiye kırıkta artıkları osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli dev hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Yukarıda tanımlanan şekilde diyafizde ortaya çıkan kemikleşme merkezine primer kemikleşme merkezi adı verilir. Uzamına hızlı büyüme, diyafizin tamamı kemikleştiğinde sona erer. Primer kemikleşme merkezinin bu şekilde genişlemesine periosteal kemik halkasının epifizlere doğru olan genişlemesi eşlik eder. Osteoklastlar kemikleşme merkezi oluşumunun başlangıcından beri aktif haldedirler ve rezorpsiyonla kemiğin merkezindeki kemik iliği boşluğunu meydana getirirler. Bu boşluk, modelin kemikleşmesi tamamlanıncaya kadar epifizlere doğru büyür. Embriyonal gelişimin ileri aşamalarında epifizlerin ortasında sekonder kemikleşme merkezleri meydana gelir. Ancak bu merkezlerin gelişimi bir kemikte bile aynı zamanlara isabet etmez. Bu merkezlerin fonksiyonlarıda primer merkezlerinkine benzer, ancak büyüme yönleri uzamına değil ışınsaldır. Ayrıca eklem kırıktaalarında perikondrium olmadığı için burada kemik manşete benzer bir yapıda oluşamaz. Sekonder kemikleşme merkezlerinin oluşturduğu kemik dokusu epifizleri kapladığı zaman kırıkta 2 yerde hapsolür. Bunlardan biri hayat boyu kalıcı olan ve kemik yapımına katılmayan eklem kırıkdağı, diğeri ise epifizleri diyafizlere bağlayan epifiz plağı yada epifiz kırıkdağıdır. Epifiz plağının kırıkdağı büyüdükçe bunun yerini

çoğunluğu diyafiz merkezinde oluşan yeni kemik alır. Epifiz plağının büyümesi sona erdiğinde kemik uzaması da durur. Epifiz kıkırdağı 5 bölgeye ayrılır. Kıkırdağın epifiz tarafından başlayarak;

- 1) İstirahat bölgesi: Hücrelerinde morfolojik değişiklikler görülmeyen hiyalin kıkırdaktan oluşur.
- 2) Proliferasyon bölgesi: Burada kıkırdak hücreleri hızla bölünerek kemiğin uzun eksenine paralel üst üste dizilmiş sütunlar halinde izogen grupları oluştururlar.
- 3) Hipertrofik kıkırdak bölgesi: Stoplazmalarında glikojen birikmiş büyük kıkırdak hücrelerinden oluşur. Kondrositler arasındaki rezorbe olmuş kıkırdak matriksi ince bir septa haline gelmiştir.
- 4) Kalsifiye kıkırdak bölgesi: Kıkırdak hücrelerinin ölümleri ile birlikte hidroksiapatit kristalleri kıkırdak matriksinin ince septaları üzerine çökmeye başlayarak kalsifikasyonu başlatırlar.
- 5) Kemikleşme bölgesi: Endokondral kemik dokusu ortaya çıkar. Periosteumdan kaynaklanan hücrelerin bölünmesi ile oluşan osteoprogenitor hücreler ve kan kapillerleri kıkırdak hücrelerinin geride bıraktığı boşlukların içine girer. Kalsifiye kıkırdak matriksinde dağınık bir biçimde serpiştirilmiş olan osteoblastları oluştururlar.

Son aşamada osteoblastlar kalsifiye olan kıkırdak üzerine kemik matriksini yığarlar. Kemik matriksinin kalsifikasyonu ile birlikte bazı osteoblastlar osteosit haline dönerler. Böylece kemik spikülleri merkezinde kalsifiye kıkırdak bunun etrafında bir tabaka halinde primer kemik dokusundan oluşurlar. Özet olarak; uzun kemiklerin uzamaları epifize komşu epifiz plağındaki kondrositlerin proliferasyonu ile olur. Aynı zamanda bu plağın diafiz tarafındaki kıkırdak hücreleri hipertrofik hale gelir, matriksleri kalsifiye olur ve ölürlür. Osteoblastlar kalsifiye olmuş kıkırdak spikülleri üzerine primer kemikten oluşan bir tabaka ile döşerler. Birbirine zıt meydana gelen bu iki olayın (proliferasyon ve harabiyet) hızları hemen hemen eşittir ve epifiz plağın kalınlığı değişmez. Bunun yerine diafiz, kemik merkezinden uzaklaşarak kemiğin boyuna büyümesine sebep olur<sup>8</sup>.

### **2.1.6. Kalsifikasyon Mekanizması**

Henüz kalsiyum fosfatın kemik matriksi üzerine çöküşünü açıklayabilen genel bir hipotez yoktur. Kalsifikasyonun, kalsiyum tuzlarının kollojen fibriller üzerine çökmesi ile başladığı bilinmektedir. Sitoplazma içi veziküller içinde kalsiyum tuzlarının çökmesi belki de osteoblastların yardımı ile hızlandırılıp yoğunlaştırılır ve gerektiğinde hücre dışı aralığa salgılanır. Kemikleşme yüzeylerinde bulunan osteoblastların ürettikleri alkali fosfataz henüz bilinmeyen bir yolla kalsifikasyona yardım eder.

### **2.1.7. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi**

Kemiğin büyümesi daha önce oluşmuş dokunun bir bölümünü yıkarken aynı anda başka bir bölümünün yapımı ile gerçekleşir. (Kemik yapım hızı kemik yıkım hızından daha fazladır). Böylece kemik büyürken şeklide korunur. Çocuklarda kemik süratle yeniden şekillenir (kemik döngüsü); hatta yetişkinlere oranla küçük çocuklarda yenilenme 200 defa daha hızlı olabilir. Kemiğin yeniden şekillenmesi birkaç etkene bağlıdır. Bunlar kas kasılımının ve vücut hareketlerinin oluşturduğu çekilme ve gerilme, gebelik, hormonlar ve büyüme faktörleridir. Kökenleri tam olarak bilinmeyen büyüme faktörleri parakrin etki gösterebilir. Bu durum yerel olarak üretildiklerini düşündürmektedir. Kranial kemiklerin büyümesi esas olarak kemik dokularının şekillenmesi için genellikle dış yüzeyleri ile süturları (birleşme çizgileri) arasında yer alan periosteum aracılığıyla olur. Aynı zaman da bunların iç yüzeylerinde de rezorbsiyon gerçekleşir. Şekil değiştirebilme özelliğine sahip kemik dokusu, beynin büyümesine ayak uydurarak kafatasını oluşturur. Beyin tam olarak gelişmezse kafatası küçük kalır. Beyin ventriküllerinin genişlemesi ve anormal miktarda omurilik sıvısının birikmesi ile tanınan hidrosefalide ise kafatası normalden daha büyük olur. Uzun kemiklerin büyümesi karmaşık bir olaydır. Epifizler kıkırdağın radyal büyümesini izleyip epifizdeki süngerimsi kısmı arttıran endokondral kemikleşmenin ardından boyutlarını arttırmaları. Diyafiz (iki epifiz plağı arasında oluşan kemik) esasen bir silindir kemikten ibarettir. Epifizlerin hızla büyümesi sebebiyle diyafizlerin uzantıları çabucak büyür ve diyafiz şaftı tarafından ayrılan 2 diyafiz hunisi ortaya çıkar. Diyafiz şaftının boyu genel olarak epifiz plağının osteojenik aktivitesi ile eni ise kemik kısmının dış yüzeyindeki periosteumun kemiği şekillendirmesi sonucunda artar. Bu sırada kemik iliği boşluğunun çapındaki artma ile kemik iç yüzden uzaklaştırılır. Özet olarak uzun

kemikler epifiz plaklarındaki faaliyet sonucu uzamakta, periostal apozisyonla genişlemektedir. Epifiz kırıkdağının büyümesi sona erdiğinde kemikleşme sürecinin bir sonucu olarak yerini kemik dokusu alır. Epifizin kapanması her kemiğe göre kronolojik bir sıra izler ve 20 yaşına doğru tamamlanır. Büyüyen iskeletin röntgen muayenesi yapılarak genç yaştaki bir kişinin kemik yaşını belirlemek olanaklıdır. Bu muayenede hangi epifizin açık olduğu, hangisinin kapandığı gösterilebilir. Epifiz kapandığında kemiğin enine büyümesi sürecelebilmemesine karşın uzamına büyüme olanaksız hale gelir.

### **2.1.8. Kırık Onarımı**

Kemik kırığında kırık bölgesindeki kemik matriksi yıkılır ve buradaki kemik hücreleri ölür. Tahrip olan kan damarlarından yerel olarak kanama meydana gelir ve kan pıhtılaşır. Onarım sırasında kan pıhtısı, hücreler ve harap olmuş kemik matriksi makrofajlar tarafından ortadan kaldırılır. Kırık bölgesindeki periosteum ve endosteumdaki osteoprogenitor hücreler hızla proliferasyon olarak kırığı sarıp kırık uçları arasına giren hücreden zengin bir dokuyu oluşturur. Daha sonra kırığın bağ dokusunda ortaya çıkan küçük kırık parçalarının endokondral kemikleşmesi yoluyla primer kemik oluşur. Ayrıca kemik intramembranöz kemikleşmeyle de oluşur. Böylece kırık bölgesindeki kırık alanları ile intramembranöz ve endokondral kemikleşmenin görülmesi aşağı yukarı aynı zamana rastlar. Onarım aşamaları primer kemiğin düzensiz dizilmiş trabeküllerinin kırık uçlarını birleştirecek şekilde gelişir ve kemik kallus oluşur. Kemik onarımı sırasında ve hastanın normal aktiviteye kademeli olarak dönüşünde kemik üzerine etki eden kuvvetler kallusun yeniden şekillenmesine ve kemiğin kırılmadan önceki haline gelmesini sağlayacaklardır. Kallusun primer kemik dokusu zamanla rezorbe olur ve yerini sekonder kemiğe bırakır ve böylece kemiğin özgün yapısı yeniden oluşur.

### **2.1.9. Histofizyoloji**

#### **2.1.9.a. Destek ve Koruma**

Kemikler vücudun ağırlığını taşıyan iskeleti oluştururlar. İstemli kaslar (iskelet kasları) tendonlar aracılığıyla periosteumun bağ dokusu ile birlikte kemik içine girerler. Uzun kemikler kaldıraçlardan oluşmuş sistemleri meydana getirerek kasın kasılmaları

ile oluşan kuvvetleri arttırlar. Kemikler merkezi sinir sistemini (kafa kemikleri ve omurgalar) kemik iliğini ve göğüs kafesi içinde yer alan organları korur.

#### **2.1.9.b. Şekillenebilme özelliği**

Sertliğine karşın kemik karşılaştığı değişik kuvvetlerin etkisiyle iç yapısını yeniden şekillendirebilir. Örneğin ortodontik cihazlar aracılığıyla dişler ve çene kemiğine uygulanan kuvvetler bozuk yerleşimli dişlerin düzeltilmesini sağlar. Kuvvetin çektiği yerlerde kemik yapımı ve ittiği yerlerde (zıt yönde) rezorbsiyon olur. Böylece çene kemiğinin yeniden şekillenmesi ile dişlerin pozisyonları gerektiği gibi değiştirilebilir. Bu yeniden şekil alma yeteneği tüm kemikler için geçerlidir.

#### **2.1.9.c. Kalsiyum Deposu**

İskelet, vücudun kalsiyum miktarının %99'unu içerdiği için kalsiyum deposu olarak da görev yapar. Kan ve dokulardaki kalsiyum miktarları çok iyi dengelenmiştir. Kan ve kemik arasında sürekli bir kalsiyum alışverişi vardır. Besinlerden emilen kalsiyum süratle kemiklerde depo edilir. Kalsiyumun fazlası dışkı ve idrarla atılarak kan kalsiyum seviyesindeki yükselmelere engel olunur. Kan kalsiyum miktarı azaldığında ise kemikteki kalsiyum serbest hale geçer. Kemiğin kalsiyumu biri süratli diğeri yavaş olmak üzere iki mekanizma ile kemikten ayrılır. Bunlardan birincisi iyonların basit olarak hidroksiapatit kristallerinden intertisyel sıvıya dolayısıyla buradan da kana geçmesidir. Genellikle süngerimsi kemikte oluşan ve tamamıyla fiziksel olarak cereyan eden bu mekanizmaya hidroksiapatit kristallerinin geniş yüzey alanları yardımcı olur. Erişkin kemikte bile çok az kalsifiye olmuş yeni lameller (kemik devamlı olarak yeniden şekillendiği için) kalsiyumu kolayca alır ve verir. Kan kalsiyum seviyesinin korunmasında bu lamellerin rolü eski çok miktarda kalsifiye olmuş ve asıl fonksiyonları koruma ve destek olan lamellerinkinden daha önemlidir. Kalsiyumun serbest hale gelmesindeki ikinci yol ise kemiği etkileyen hormonlara bağlıdır. Paratiroid hormonu kemik matriksinin rezorbsiyonunu başlatan hücreleri (osteoklastları) aktive edip sayılarını arttırır ve sonuçta kalsiyum serbest hale gelir. Tiroid bezinin parafoliküler hücrelerinde sentezi yapılan kalsitonin matriks rezorbsiyonunu inhibe eder. Kalsitonin osteoklast aktivitesi üzerinde inhibitör etki gösterir.

Doku ve kan kalsiyum seviyelerinin sabit tutulması şart olduğuna göre kalsiyumla ilgili beslenme bozukluklarında, kemik dekalsifikasyonu başlayacaktır. Bu durumda kemikler daha kolay kırılırlar ve x ışınlarını daha kolay geçirirler. Paratiroid hormonun aşırı salgılanışı da kemik dekalsifikasyonuna sebep olur. Hiperparatiroidizm de kemiğin yoğun bir şekilde rezorbe olduğu görülür ve kan kalsiyum seviyesi yükselir. Bu kez kandaki konsantrasyonu artan kalsiyum anormal olarak özellikle böbrek ve arter duvarları olmak üzere bazı dokulara çöker.

#### **2.1.9.d. Beslenme**

Kemik özellikle büyüme çağında beslenme faktörlerine hassastır. Yetersiz proteinle beslenme, aminoasitlerin etkinliğini azaltır ve osteoblastlardaki kollojen sentezinin azalmasına yol açar. Kalsiyum yetersizliği organik kemik matriksinin eksik kalsifikasyonuna sebep olur. Bu da alınan gıdalarla yeterli miktarda kalsiyum olmasına ya da kalsiyumun ince barsaktan emilimi için gerekli olan D vitamininin eksikliğine bağlıdır. D vitamini eksikliği kendini çok belirgin bir biçimde göstermez. (yani mutlak beslenmeye bağlı değildir) Çünkü deride fotokimyasal olarak sentezlenmektedir. Karaciğerde ve böbreklerde hidroksillenir ve aktif bir hormon olan 1,25 dihidroksi kolekalsiferol (1,25- dihidroksi-D3) şekline dönüşür. Aşırı miktarda D vitamini toksiktir ve çoğu yumuşak dokuda kalsifikasyon oluşmasına yol açar. Kemik üzerine doğrudan etkili bir başka vitaminde hem osteoblastlar hemde osteositler tarafından gerçekleştirilen kollojen sentezi için gereken C vitamindir. C vitamini yetersizliği kemik büyümesini etkiler ve kollojen birikiminde değişiklik oluşturarak kırık onarımını olumsuz yönde etkiler. Çocuklarda kalsiyum eksikliği raşitizme neden olur. Bu hastalıkta kemik matriksi normal olarak kalsifiye olamaz ve epifiz plakları tarafından meydana getirilen kemik spikülleri normal vücut ağırlığı ve kas faaliyetleri karşısında bükülür. Sonuçta bu seviyedeki kemikleşme süreci engellenir ve kemikler sadece büyümele kalmaz ve aynı zamanda şekilleride bozulur. Yetişkinlerdeki kalsiyum yetersizliği ise henüz meydana gelmiş kemiğin yetersiz kalsifikasyonu ve kalsifiye olmuş kemiğin de kısmen dekalsifikasyonu ile özellik kazanan osteomalazi oluşturur. Ancak yetişkinde epifiz kırıkdağı olmadığı için çocuklarda görülen raşitizmde tipik olarak izlenen uzun kemiklerin deformasyonu ve büyümede ki gecikme görülmez ve büyüme etkilenmez. Gebelik sırasında gelişmekte olan fetusun çok miktarda kalsiyuma

ihtiyaç duyması nedeniyle osteomalazi şiddetlenebilir. Beslenme ile ilgisi olmayan osteomalazi osteoporoz ile karıştırılmamalıdır. Osteomalazide kemik matriksi birimine düşen kalsiyum miktarı azalır. Osteoporoz daha çok hareket edemeyen hastalarda ve menapozdan sonraki kadınlarda görülür. Burada rezorbsiyon artar ya da kemik yapımının azalmasına bağlı olarak kemik kitlesi eksilir. Bazen de bu her iki olay gerçekleşebilir. Osteoporozda mineral matriks oranı normaldir. D vitamininin daha önce sözü edilen kalsiyumun barsaktan emilimindeki rolüne ek olarak invitro deneylerden anlaşıldığı kadarıyla doğrudan kemikleşme üzerine de etki göstermektedir. D vitamini içermeyen kalsiyumdan zengin kültür ortamına ekilen kemik dokusu gerektiği gibi kalsifiye olamaz.

#### **2.1.9.e. Hormonal Faktörler**

Paratiroid hormonu ve kalsitoninin yanı sıra kemiği etkileyen birkaç hormon daha vardır. Hipofizin ön lobunda sentezlenen büyüme hormonu özellikle epifiz kıkırdaklarını uyararak kemiğin uzamasını sağlar. Büyüme çağındaki bu hormon eksikliği hipofizier küçüklüğü oluşturur. Fazlası ise uzun kemiklerin aşırı büyümesi sonucu gigantizm adı verilen aşırı büyümeye sebep olur. Yetişkinlerin epifiz kıkırdakları olmadığı için çok fazla büyüme hormonu ile uyarıldıklarında boyları uzayamaz. Buna karşılık periostal büyüme uyarılacağı için kemiklerin eni artar. Yetişkinlerdeki büyüme hormonunun fazlalığı akromegaliye yol açar bu da kemiklerin genellikle uzun olanların kalınlaşmasına sebep olur.

Gerek erkek (androjenler) ve gerekse dişi (östrojenler) cinsiyet hormonlarının da kemikler üzerinde karmaşık etkileri vardır. Genel olarak kemik yapımını uyarırlar. Bunlar kemikleşme merkezlerinin ortaya çıkışı ve gelişim zamanlarını etkilerler ve epifizin kapanmasını hızlandırırlar. Cinsiyet hormonu üreten tümörler ya da cinsiyet hormonunun dışarıdan alınması ile meydana gelen erken cinsel olgunlukta epifiz kıkırdakları süratle kemiğe dönüşeceği için (epifiz kapanması) vücutta büyüme gecikir. Kastrasyon ya da gonadların anormal gelişimi sonucu oluşan hormonal yetersizliklerde epifiz kıkırdakları daha uzun bir süre işlev görmeye devam edeceğinden hastanın boyu uzun olur. Çocuklarda kretinizm şeklinde ortaya çıkan tiroid hormonu eksikliği de küçüklükle (dwarfizm) ilişkili bir durumdur<sup>8</sup>.

## 2. 2. OSTEOPOROZ

### 2. 2. 1. Tanım:

Osteoporoz; kemik kütlesinde azalma, kemik dokusunda mikroyapısal bozulma ile karakterize, buna bağlı kemik kırılabilirliğinde artış ve kırık oluşumu eğilimine yol açan sistemik bir kemik hastalığıdır . Osteoporoz da, mineral/matriks oranı normaldir. Geçmişte, kırıklara neden olmadıkça tanı konamayan osteoporozun bugün önceden önlenemez ve tedavi edilebilir bir hastalık olduğu bilinmektedir. Osteoporoz, kırığa yol açmadıkça veya ağrıya yol açan vertebra kemiklerinde deformite gibi komplikasyonlar ortaya çıkmadıkça asemptomatiktir<sup>2</sup>.

Önemli sosyal ve tıbbi sorunlara yol açan ve kırıklar için bir risk faktörü olan osteoporoz, kemiğin hem yoğunluğunda, hem de kalitesinde bozulmaya neden olur<sup>9</sup>. Kemik yoğunluğu; kemiğin birim alanındaki ya da bir gramındaki mineral miktarını belirtir. Kemik kalitesi ise kemiğin mimari yapısı, geçmişte uğradığı hasarlar (örneğin mikrokırıklar) ve mineralizasyonu ile ilgilidir<sup>10,11</sup>. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY) ve ölçümleri ile ilgili kabul ettiği tanımlamaları aşağıdaki standart çerçeve içinde yayınlamıştır;

#### **T değeri:**

Genç sağlıklı bireylerin ortalama KMY'una göre kişinin KMY'nun Standart Deviasyon (SD) olarak ifadesine 'T değeri' denir.

Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometre (DEXA) yöntemi kullanılarak elde edilen KMY değerlerine göre yapılan bu tanımlamalar şunlardır<sup>10</sup>;

**Normal:** Genç erişkine göre KMY'nun T değerinin  $>-1,0$  SD olması.

**Osteopeni:** Genç erişkine göre KMY'nun T değerinin  $\leq-1,0$  SD ile  $>-2,5$  SD arasında olması.

**Osteoporoz:** Genç erişkine göre KMY'nun T değerinin  $\leq-2,5$  SD olması.

**Yerleşmiş osteoporoz:** Genç erişkine göre KMY'nun T değerinin  $\leq-2,5$  SD olması ve ek olarak bir veya daha fazla kırık olması.

### 2. 2. 2. Patogenez:

Osteoporoz patofizyolojisinde 3 faktör dikkate alınmalıdır. Bunlar;

- Doruk kemik kitlesi,
- Kemik yapım-yıkım döngüsünün hızı,

- Kemiğin organik matriksinde meydana gelen değişikler<sup>12</sup>.

Osteoporoz patogenezi anlamak, osteoporoz için mevcut tedavi yöntemlerinin de sağlıklı bir şekilde anlaşılması ve değerlendirilmesine olanak tanır.

İkizlerde yapılan çalışmalarda doruk kemik kitlesinin, esas olarak %70-80 oranında genetik olarak belirlendiği ortaya konulmuştur<sup>13,14</sup>. D vitamini ve östrojen reseptörleri, kollojen sitokinler, apolipoprotein E, büyüme faktörleri genlerindeki polimorfizmin, doruk kemik kitlesi, şekillenme ve kırık riskini belirlemedeki rolünün araştırılması sonucunda çok az veya hiç etkilerinin olmadığı görülmüştür<sup>15,16</sup>. Çocukluk çağında uygun kalsiyum alımı ile birlikte dengeli beslenme, yeterli egzersiz, normal pubertal gelişim, genel iyi bir sağlıklı durum da doruk kemik kitlesinin belirleyicileridir<sup>17,18</sup>. Doruk kemik kitlesinin kazanılmasında düzenli yapılan fizik egzersizin rolü tartışmasızdır<sup>9</sup>.

Östrojen hem erkek, hem de kadınlarda puberte sonrası epifizyal kapanma ve kemik şekillenmesinin durmasında en önemli rolü oynar. Aromataz enzim defekti ya da östrojen reseptör defekti olan erkeklerde epifiz kapanması bozuktur, yüksek kemik yapım-yıkımı görülür<sup>19</sup>.

Kemiğin yeniden yapılanması, eski kemiğin osteoklast ve osteoblastlar tarafından ortadan kaldırıldığı ve yeni kemiğin oluşturulduğu bir işlemdir. Hayat boyu değişen hızda ve oranda devam eder<sup>20</sup>.

Bir kez doruk kemik kitlesi kazanıldıktan sonra kemik yoğunluğu yıllar boyunca sabit kalır, çünkü yapım ve yıkım hızları eşittir. Osteoporoz ya yeni kemik yapımında duraklama ya da kemik yıkımında artma sonucunda ortaya çıkar. Yaş ilerledikçe kadınlarda menopoza sonrası yıkım yapım hızını aşar. Menopoz dönemindeki kemik kaybı ilk 5 yıl içinde çok şiddetlidir. Menopozda hızlı kemik kaybının asıl nedeni östrojen eksikliğidir, bununla birlikte kadınlarda distal radiusta kemik kaybı menopozdan öncede başlayabilir<sup>21</sup>. Kırklı yaşlarda Colles kırıklarının insidansında artma görülür. Tersine bir durum olarak, menopozdan sonraki yıllarda vertebra kırıklarında 5-15 kat artış olurken, kalça kırıkları da ilerleyen yaşla birlikte logaritmik bir artış gösterir<sup>22</sup>. Bu veriler altında osteoporozun asıl olarak yaşa ve menopozal duruma bağlı olmakla birlikte farklı bölgelerde değişiklik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Kemik yıkım aktivitesi muhtemelen östrojen ve başka bir takım faktörlerin eksikliğine bağlı olarak osteoklastların apoptozunda azalmayla da ilgilidir<sup>23</sup>.

Yaşlanmaya bağlı osteoporozda başka kolaylaştırıcı faktörler de rol alır. Yaşlı popülasyonda, beslenmenin bozulması, D vitamini absorpsiyonunun bozulması, azalan hareket kabiliyeti nedeniyle güneş ışığından yeterince faydalanmama, cildin D vitamini sentezinde bozulma gibi faktörler nedeniyle D vitamini eksikliği sık görülmektedir<sup>24</sup>.

Yaşla birlikte diyetle alınan kalsiyum miktarının ve barsaktan kalsiyumun emiliminin azalması nedeniyle azalan kalsiyum seviyeleri parathormon (PTH) düzeylerinde artma meydana getirir. PTH düzeylerindeki artma böbreklerden kalsiyum kaybını artırır. Bozulan kalsiyum ve D vitamini dengesi kemik döngüsünü bozar<sup>25</sup>.

Postmenopozal dönemdeki kadınlarda ve yaşlılarda kemik yapım-yıkım belirteçlerinin yüksek bulunması osteoporozun başlıca nedeninin kemik yıkımındaki artma olduğuna işaretir<sup>26</sup>. Bununla birlikte, hem kemik yapımındaki azalma, hem de kemik yıkımındaki artış sonucunda postmenopozal dönemdeki kadınlarda ve erkeklerde azalmış kemik yoğunluğu ve artmış kırık riski birlikte görülür. Erkeklerde ve kadınlarda yapılan kemik biyopsilerinde, muhtemelen artmış yıkımla ilgili olarak trabeküllerdeki bağlantılarda kaybolma, kemik oluşumunda azalma gözlenir<sup>27,28</sup>.

### **2. 2. 3. Risk Faktörleri:**

Osteoporoz ve kırıklar için tanımlanmış birçok risk faktörü mevcuttur. Ancak bu risk faktörlerinin klinikte KMY ve kırık riskini belirlemedeki duyarlılık ve özgünlükleri tartışmalıdır<sup>29,30</sup>. Bununla birlikte etyolojik faktörlerin bilinmesiyle ve özellikle yüksek risk taşıyan hasta grubunda değiştirilebilir risk faktörleri için önlemler alınabilir. Alınan bu önlemler sayesinde osteoporoz önceden teşhis edilerek kırıkların önlenmesi sağlanabilir. Bu faktörler genel olarak; yaşlanma, genetik ve ırk, hormonal durum, beslenme, yaşam tarzı ve alışkanlıklar, çeşitli ilaçlar ve hastalıklar olarak sıralanabilir.

### **2. 2. 4. Sınıflama:**

Osteoporoz için yaş, etyoloji, lokalizasyon, tutulan kemik sayısı veya histolojik görünüm gibi pek çok özellik dikkate alınarak sınıflamalar geliştirilmiştir<sup>31</sup>.

**2.2.4.a.** Yaşa Bağlı Osteoporoz Sınıflaması: Albright'ın yaptığı çalışmada osteoporoz;

1. 65 yaşa kadar kadınlarda görülen postmenopozal osteoporoz
2. 65 yaş üzerinde her iki cinsten görülen senil osteoporoz
3. Menopoz, yaşlanma veya herhangi bir başka nedenle ortaya koyulamayan osteoporoz olmak üzere üç grupta incelenmiştir<sup>32</sup>.

Riggs ve Melton tarafından yapılan çalışmada ise osteoporoz;

1. Postmenopozal osteoporoz (Tip I osteoporoz); 75 yaşın altında oluşur, elbileği ve vertebra kırıkları ön plandadır.
2. Senil osteoporoz (Tip II osteoporoz); 75 yaş üzerinde görülür ve kalça kırığı ile karakterizedir<sup>30</sup>.

**2.2.4.b.** Kemiğin Histolojik Görünümüne Göre Osteoporoz Sınıflaması; Crista iliaca'dan örnek alınarak yapılan kemik biyopsisi sonucu hızlı veya yavaş yapım-yıkım döngülü osteoporozdan söz edilebilmektedir. Yüksek döngülü osteoporozda osteoid ve yıkım yüzeylerinin çokluğu gözlenirken yavaş döngülü osteoporozda ise küçük osteoidler görülmektedir. Ayrıca osteoporoz da etkilenen kemik yapısı trabeküler ve kortikal olmak üzere iki farklı şekilde sınıflandırılmaktadır. Kortikal kemik kaybı genellikle uzun kemiklerde kırıklara yol açmakta buna karşılık trabeküler kemik kaybı ise vertebralarda kama vertebra, balık vertebra veya tüm yüksekliğin azaldığı ezik vertebra gibi kırıklara neden olmaktadır<sup>33</sup>.

**2.2.4.c.** Etiyolojik Nedene Göre Osteoporoz Sınıflaması;

**Primer Osteoporoz:** Primer osteoporozda hastalığa neden olabilecek bir hastalık veya faktör yoktur.

1) İdiyopatik osteoporoz

a) Juvenil tip: Prepubertal büyüme hızı fazla olan çocuklarda görülür. Vertebrada kompresyon fraktürü, metafiz fraktürleri görülebilirse de 2-6 yıl içinde kendiliğinden düzelir.

b) Erişkin tip: Çok sık görülmez fakat 30-50 yaş arasındaki erkeklerde daha fazla görülür. Aksial iskelet tutulumu sıktır.

2) Postmenopozal osteoporoz (Tip I osteoporoz): Kadınlarda doğal menopozla birlikte ortaya çıkan östrojen eksikliğinin yol açtığı kemik kaybıdır. 50-70 yaş arası kadınlarda siktir. Kortikal kemiğe oranla trabeküler kemik kaybı daha şiddetlidir ve ilerleyicidir. Vertebrada çökme ve distal radius kırıkları sık görülür.

3) Senil osteoporoz: Yaşlanma sürecine bağlı olarak meydana gelir. Tip II osteoporoz genellikle 75 yaşından sonra görülür. Kadın ve erkekteki sıklığı birbirine yakındır. Hem kortikal hem trabeküler kemik kaybı vardır. Femur boynu, proksimal femur, proksimal tibia ve pelvis kırıkları siktir. Birden çok sayıda vertebra kırıkları olabilir<sup>33</sup>.

#### **Sekonder Osteoporoz:**

1. Genetik hastalıklar: Ehlers-Danlos sendromu, osteogenesis imperfekta, hemofili, talasemi, hemokromatoz.
2. Endokrin nedenler: Hipogonadizm, hipertiroidi, hiperparatiroidi, diyabetes mellitus, cushing sendromu
3. Gastrointestinal nedenler: Gastrektomi, malabsorbsiyon, siroz, çölyak hastalığı
4. Bağ dokusu hastalıkları: RA, SLE
5. İlaçlar
6. Malignensi: Multipl miyeloma, lenfoma, lösemi, yaygın kanser
7. İmmobilizasyon
8. Diğer: Alkolizm, KOAH, sigara, kronik böbrek yetmezliği, organ nakli sonrası<sup>33</sup>.

#### **2.2.5. Osteoporozda Kemik**

Kemik dokusu yaşam boyu oluşum ve yıkım olaylarının sürdüğü yüksek derecede aktif bir dokudur. Normal kemik yapısının sürdürülebilmesi, oluşum ve yıkım olayının dengesine bağlıdır. Osteoporoz, kemik yapımı ile yıkımı arasındaki dengenin bozulması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kemik yapımının azalması veya yıkımın artması ya da her ikisinin birlikteliği söz konusudur. Kemik yapımının başlaması için öncelikle osteoklastların uyarılması gerekir. Bunlar oluşumu başlatacak olan osteoblastları uyarırlar. Olayların birbirini izlemesi lokal faktörler ve sistemik uyanların ilişkisinin bir sonucudur. Eğer yıkılımı, oluşum izlemez ise ya da yavaş oluşursa osteoporozdaki durum ortaya çıkar. Kemikteki bu dönüşüm hızı osteoklast aktivasyon hızıyla belirlenir. Birim kemik kütleindeki değişiklik total kemik kütleinin durumunu yansıtır.

Endosteal yüzdeki bu oluşum yıkılım dengesi kemik volümüne oranlanınca trabeküler kemiğin oranı daha büyüktür. Bu nedenle endosteal yüzde yıkılım olayındaki bir aşırılık kortikal kemikten çok trabeküler kemikte belirgin hale gelir. Bu osteoporozda vertebra tutuluşunun önceliğinin ve sıklığının da nedenini açıklar<sup>34</sup>.

Osteoporoz kemik dokuda kalsifikasyonun hafifçe azalmasından, minimal veya travma olmaksızın bile kolayca kırık gelişme noktasına kadar çeşitli derecelerde görülür. Postmenapozal osteoporozda histomorfometrik seviyede esas problem trabeküler kemik kütle kaybı, özellikle vertebra cisimcikleri ve femoral boyun gibi yük taşıyan yapılarda mikromimarideki bozulmadır. Düşük kemik kütlesi ve trabeküler konnektivite kaybı kemik hassasiyetinde ve kırıklara yatkınlıkta artışa neden olur. Bu yüzden trabeküler kemik bütünlüğünün ölçülebilmesi kemiğin mekanik özellikleri ile ilgili ek bilgi sağlar. Geçmişte osteoporoz tanısında kantitatif analizler sadece transiliak basit kemik biyopsilerle yapıldı. Biyopsi şüphesiz bir invaziv yöntem olup kemiğin değerlendirilmesinde daha hassas ve non invaziv bir yöntem olan kemik dansitometrisi tercih edilmektedir Buna rağmen, osteoporoz patofizyolojisinde kemik remodelinginin doku ve hücrel mekanizmasını ortaya koymada, osteopatik ilaçların sonuçlarının değerlendirilmesinde, bazende tanı koymak amacıyla başvuru kemik histomorfometrisi direkt ve güvenilir sonuçlara sahip bir analiz yöntemidir. Histomorfometrinin amacı, kemik turnoverinin ve osteomalasinin kesin bir şekilde ve süratle değerlendirilmesidir. Böylece bu yöntemle mevcut kemik kaybının mekanizmasında ortaya konarak kemik remodelingi üzerinde etkili olan antirezorbtif veya formasyonu uyaran ilaçların etkisi tam güvenilir ve kesin olarak değerlendirilecektir. Bununla birlikte, Basic Multicellular Unit (BMU) ve Basic Structural Unit (BSU) seviyesinde kemik remodelingindeki bozukluklar da izlenebilir. Kemik hakkında bilgi verecek diğer yöntemler invaziv niteliği olmayan KMY ve spesifik kemik markerlarıdır. Histomorfometrik analizler, kemik kalitesinin değerlendirilerek mikromimari yapısını, lameller sistemini ve mineralizasyon defektlerini tam olarak ortaya koyar. Son 30 yılda kemik histomorfometrisi alanında gerçekten önemli gelişmeler olmuştur. Kemik histomorfometrisi ile, kortikal kalınlık, trabeküler genişlik, trabeküler kalınlık, total kemik volümü, trabeküler separasyon, trabeküler sayı, trabeküler yapı faktörü değerlendirilebilir<sup>34</sup>. Bu parametreler;

**a) Kortikal Kalınlık (Ct wi):** İliak korteksin mikrometre cinsinden kalınlığının ortalamasıdır.

**b) Trabeküler genişlik** = 2.000 kemik yüzölçümü mm<sup>2</sup> / trabeküler çap mm

**c) Trabeküler kalınlık (Tb.Th )** = Trabeküler genişlik /1.2

**d) Total kemik volümü (BV):** Periosttan diğer periosta kadar kemik dokuyu içine alan silindirik biyopsinin toplam volüme yüzdesi total kemik volümü olarak isimlendirilir

**e) Trabeküler separasyon(Tb.Sp)** =Trabeküler kalınlık (100 / % kemik hacmi)-1

**f) Trabeküler sayı (Tb.N)** = % kemik hacmi x 10 / trabeküler kalınlık mcm

**g) Trabeküler yapı faktörü** = (çap1-çap 2) / (Alan1-Alan 2).

### 2.2.6. Epidemiyoloji:

Osteoporozun etkilediği popülasyonun %80'i kadın olmasına rağmen, erkekleri de etkilemektedir. Hastalık her yaşta, her ırk ve etnik grupta görülmekle birlikte, menopoz sonrası dönemdeki Asyalı ve kuzey ırktan kadınlarda daha çok görülmektedir<sup>2</sup>. Osteoporozun en önemli sonucu kırıktır. Dünyada yaşlanan nüfus oranının artmasıyla osteoporotik birey sayısı ve osteoporozla bağlı kırık sayısı da artmaktadır. İlerleyen yaşla kırık görülme insidansındaki artma, aynı zamanda ilerleyen yaşla düşme sıklığının artmasıyla da ilgilidir<sup>31</sup>.

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 10 milyon osteoporozlu, 18 milyon kadar azalmış KMY'ye sahip birey olduğu sanılmaktadır<sup>2</sup>. ABD'de 50 yaşın üzerindeki her beyaz kadından %17'sinde kalça kırığı, %32'sinde vertebra kırığı görülme ihtimali vardır<sup>32,33</sup>. ABD'de, kadınlarda kalça kırığı görülme sıklığı (1/6), meme kanseri görülme sıklığından (1/9) daha yüksektir<sup>34</sup>. Ülkemizde epidemiyolojik açıdan yeterli çalışma olmamakla birlikte İnanıcı ve arkadaşları, 1999'da yaptıkları bir çalışmada ülkemizde osteoporoz prevalansını kadınlarda %9, erkeklerde ise %0,9 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmaya göre menopoz dönemindeki kadınlardaki kırık oranı %16,7'dir<sup>35</sup>. Güney Avrupa'da, 1988-1989 yılları arasında, 6 ülkede, 14 farklı bölgede, ülkemizde ise Ankara, İstanbul, Samsun, Diyarbakır ve Erzurum illerinde yürütülen Mediterranean Osteoporosis Study (MEDOS) çalışmasına göre kalça kırığı oranı çalışmaya katılan ülkeler içinde en düşük ülkemizde bulunmuştur<sup>36</sup>. Kırık oluştuktan

sonraki bir yıllık sürede, en yüksek morbidite ve mortalite %20-24 oranında kalça kırıklarından sonra görülmektedir<sup>37,38</sup>.

Osteoporoz, kırığa sebep olan önemli morbidite ve mortalite nedeni olmasının yanında, aynı zamanda tanı, tedavi ve kırık maliyetleri açısından da ülke ekonomilerine önemli yük getirmektedir. Bazı hastalarda eşlik eden hastalıkların kalça kırığına bağlı mortaliteye katkısı olsa da kırık sonrası 1 yıl içinde hastaların %50'si yardım almadan yürüyemez hale gelmekte, %33'ü ise ömürlerinin sonuna kadar tamamen bakımevi ihtiyacı gösterir hale gelmektedirler<sup>39,40,41</sup>.

### **2. 2. 7. Tanı:**

Osteoporoz, kemiğin mimari yapısındaki bozulma, KMY'deki azalma ve kemik kırılabilirliğindeki artışla karakterize olduğu için, osteoporoz tanısında bu bulgulardan birisini ortaya koymak gerekir. Osteoporoz teşhisindeki ilk basamak risk faktörleri açısından iyi bir öykü alınması, boyda kısalma olup olmadığı ve kırık öyküsünün sorulmasıdır<sup>42</sup>.

Herhangi bir travmaya maruz kalmadan kırığı olan, kemikte kırılabilirliğe yol açacak başka bir hastalığı olmayan ve risk faktörleri olan birisinde osteoporoz teşhisi konulabilir<sup>42</sup>. Osteoporoz teşhisini koymada, kırık riskini belirlemede ve tedavi verilecek kişileri seçmede önerilen yöntem, KMY'nin ölçülmesidir. KMY ve kırık riski arasındaki kuvvetli ilişkiyi gösteren pek çok çalışma vardır. KMY ölçümleri aynı zamanda tedavi verilen hastalarda tedavi etkinliğini takip etmek için de kullanılabilir<sup>43</sup>.

Kırık riskini belirleyen özelliklerden biri KMY'deki azalmadır. Bu nedenle, KMY'si ölçülecek kişiler, osteoporoz olma ihtimali yüksek ve verilecek tedaviden fayda görecektir kişiler olmalıdır<sup>44</sup>. Ayrıca, KMY'nin ölçümünün yanında risk faktörlerinin de göz önünde bulundurulması yöntemin duyarlılığını ve özgüllüğünü artırmaktadır<sup>45</sup>. KMY'deki her SD düşme için kırık riski iki kat artmaktadır. Kalçada KMY ölçümünde T skoru -3 olan kadının kırık riski, T skoru 0 olan bir kadına göre 15 kat artmıştır, aynı değerlerin vertebra için geçerli olduğu düşünülürse kırık riski 4 kat artmış olarak bulunur<sup>43</sup>. KMY'nin periferik bölgelerden (ön kol, topuk) ölçülmesi hiperparatiroidi gibi özel durumlar dışında önerilmemektedir. Daha güvenilir olması için kalça ve omurgadan aynı anda ölçüm yapılması da önerilmektedir<sup>44</sup>. Normal bir

KMY ölçümü kırık olmayacak anlamına gelmemekte ancak bu durumda kırık riskinin daha az olacağına inanılmaktadır. Bununla birlikte KMY'nin azalmış olması durumunda ise kırık riskinin belirgin olarak artacağı düşünülmektedir<sup>45</sup>.

KMY'yi ölçmek için birçok yöntem bulunmaktadır. Yaygın olarak kullanılan, önerilen ve altın standart olarak kabul edilen yöntem, Dual Energy X-Ray Absorbsiyometri (DEXA) yöntemidir<sup>42,46,47,48</sup>.

### **Dual Energy X-Ray Absorbsiyometri (DEXA):**

DEXA, radyoizotop kaynağı olarak X ışınları kullanılan bir yöntemdir. Çift enerjili X ışınları kullanıldığından, yumuşak doku ile kemik ayrımı net yapılabilmektedir. DEXA ölçümlerinde iki karşılaştırma parametresi kullanılmaktadır. 'Z değeri', ölçüm yapılan bölgenin kemik mineral yoğunluk değerlerinin, çekim yapılan kişinin bulunduğu yaş ve cinsiyet grubu ile aynı yaş ve cinsiyetteki normal popülasyonun ortalama değerlerinin standart deviasyon cinsinden hesaplanan miktarları arasındaki farktır. 'T değeri', genç sağlıklı bireylerin ortalama KMY'ye göre kişinin KMY'sinin SD olarak ifadesidir<sup>49,50</sup>.

DEXA ile, tüm vücut KMY ölçümü yapılabildiği gibi, tek tek vertebralar, femur proksimali ve ön kol değerlendirilebilir. Kostalar ve sternumdan dolayı teknik olarak torakal bölge ölçümleri ayrı ayrı yapılamadığından, omurgada standart olarak L1-L4 arası vertebralar seçilir. Femurda, femur boynu, büyük trokanter, intertrokanterik alan ile Ward üçgeninin ayrı ayrı değerlendirilmesi mümkündür<sup>50</sup>.

Ölçüm yapılan bölgeye göre DEXA'nın duyarlılığı da değişmektedir. Bazı araştırmacılar, farklı bölgelerden ölçüm yapıldığında farklı sonuçlar elde edildiğinden T değerlerinin tanı amaçlı değil, kırık riskini ortaya koymak amacıyla kullanılması gerektiğini ileri sürmektedirler<sup>45</sup>. Araştırmacılar, kalça kırıklarının osteoporozun en ciddi komplikasyonu olduğunu, ayrıca diğer kırıklar için yüksek öngörü değerine sahip olmasından ötürü kalça bölgesi KMY'sinin ölçümünün altın standart olarak önermektedirler. Diğer bölgelerin ölçümünü ise riskleri belirlemek için kullanmayı önermektedirler<sup>1,45,46</sup>.

DEXA dışında, Digital Image Processing (DIP)<sup>51</sup>, Direkt Grafi<sup>45,51</sup>, Kemik Radyometri, Radyografik Foto Dansitometri<sup>51</sup>, Single Photon Absorbsiyometri (SPA)<sup>52,53</sup>, Dual Photon Absorbsiyometri (DPA)<sup>54</sup>, Kantitatif Ultrasonografi (Kantitatif

USG)<sup>55,56</sup> ve Kantitatif Bilgisayarlı Tomografi (Kantitatif BT)<sup>57</sup> gibi pek çok yöntem de göstermiş olduğu avantajlarına göre tercih edilebilmektedir.

KMY'nin ölçülme endikasyonlarını belirlemek için oluşturulan çeşitli kılavuzlar mevcuttur<sup>1,2,48,49</sup>. Bu klavuzlardan ençok tercih edileni National Osteoporosis Foundation (NOF)'dur. NOF'un, ABD'de 1998 yılında yayınlanan kılavuzunda; KMY ölçümü için karar verirken risk faktörlerinin gözönünde bulundurulmasını ve testin, tedavi kararını etkileyeceği düşünülüyorsa yapılmasını önermektedir. NOF, ilerleyen yaşlarda kırık riskinin belirgin olarak artması nedeniyle 65 yaşın üzerindeki tüm kadınlara KMY ölçümünü önerirken, 65 yaşın altındaki kadınlarda ise risk faktörü hastaların belirlenmesini yapabilmek için KMY ölçümünü önermektedir. NOF'un KMY ölçümü endikasyonları Çizelge 2-1'de gösterilmiştir<sup>1</sup>:

**Çizelge 2.1. NOF'a göre KMY ölçümü endikasyonları**

Yaş>65 olan tüm kadınlar
Yaş<65 olan kadınlarda, menopoz dışında 1 veya daha fazla risk faktörü olanlarda
Ağırlık< 57,6 kg olanlar
Sigara içenler
40 yaşından sonra düşük şiddette travma ile kırık öyküsü olanlar
Annesinde kırık olanlar
Kırık öyküsü olanlarda tanıyı doğrulamak, hastalık ciddiyetini ortaya koymak
Ölçümün kararı etkileyeceğine inanılıyorsa, menopoz sonrası dönemde tedavi almak isteyen tüm kadınlar
Uzun zamandır hormon replasman tedavisi altında olan kadınlarda

Osteoporoz'un teşhisi ve tedavisinin izleminde, kemik yapım ve yıkımı hakkında bilgi veren, serumda ya da idrarda ölçülen kemik döngü belirteçleri de kullanılabilir. Kemik yapımını yansıtanlar, kemik kaynaklı alkalin fosfataz ve osteokalsindir. Serumda ölçülürler. Kemik yıkımını yansıtanlar ise idrardan ölçülen piridinolin, deokspiridinolin ve serumda ve idrarda ölçülen tip I kollajen telopeptidleridir<sup>58</sup>. Menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda düzeyleri artmış olarak bulunur. Kırık riskini

belirlemede ve tedavi için kullanılan bifosfonatların tedaviye cevap verip vermediğinin izlenmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir<sup>45,58</sup>.

### **2.2. 8. Tedavi:**

Osteoporoz, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. Hastalık gelişmeden, korunmaya öncelik verilmesi, osteoporozun neden olduğu önemli mortalite ve morbidite oranını düşürecektir. Osteoporoz gelişmişse, teşhisin ve tedavinin uygun biçimde yapılması hastalığın komplikasyonlarını azaltacaktır. Osteoporozda, pek çok farmakolojik tedavi yöntemleri mevcuttur. Bu yöntemlerin amacı, kemik yıkımını önlemeye, mevcut olan kemiği korumaya yöneliktir. Bu yöntemler içinde en etkin olarak bilinen farmakolojik ajan, bifosfonat grubu olarak adlandırılan antirezoptif ilaçlardır. Bu gruptan da en etkin olan Alendronat sodyumdur<sup>59</sup>.

#### **Bifosfonatlar**

Kalça kırıkları ve vertebra kırıklarını önlemede başarıyla kullanılan bifosfonatlar, osteoklastlar üzerinde etki göstererek, osteoklast apoptozisini artırır, osteoklastların farklılaşması ve aktivitelerini engeller ayrıca kemik rezorpsiyonunu da azaltırlar. Fakat yeni kemik yapımı üzerine etkileri yoktur. Bifosfonatların oral biyoyararlanımı düşüktür, plazma yarı ömürleri kısadır, asıl etkilerini uzun süre aktif olarak kaldıkları kemikte gösterirler. En sık görülen yan etkileri gastrointestinal sistemle ilgili olanlardır<sup>59</sup>.

Ülkemizde osteoporoz tedavisinde kullanılan bifosfonatlar; etidronat, alendronat ve risedronattır.

**Etidronat:** Osteoporoz için etkinliği gösterilmiş ilk ilaçlardan olmasına rağmen, Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmamıştır<sup>1</sup>.

**Alendronat:** FDA tarafından osteoporoz tedavisinde kullanımı onaylanmıştır<sup>1</sup>. Osteoporozu önlemede 5 mg'lık dozları, oluşmuş osteoporoz tedavisinde 10 ve 70 mg'lık dozları kullanılmaktadır<sup>2,59</sup>. Osteoporozlu hastalarda, KMY'yi artırır, vertebral, kalça ve vertebra dışı kırıkları azaltır. Özefajite neden olabilir. Hormon replasman tedavisi ile birlikte kullanılabilir. Birlikte kullanımın, KMY'de yaptığı artmaya karşın, kırık riskinde azalma yaptığı gösterilememiştir<sup>60,61</sup>. Overiektomize (Ovx) sıçanlarda yapılan çalışmalarda, alendronat'ın kemik kütlelerini ve kemik mekanik kuvvetini

arttırarak, postmenapozal osteoporozisin hem tedavisinde hemde korunmasında etkili bir klinik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

**Risedronat:** FDA tarafından, osteoporozdan korunmada ve osteoporoz tedavisinde kullanımı onaylanmıştır. Menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda vertebral ve vertebra dışı kırıkları azalttığı gösterilmiştir. Yapılan geniş çaplı bir çalışmada, risedronatın kalça kırıklarını, daha önceden kırığı olan ya da düşük KMY'ye sahip olan kadınlarda önleyebildiği, diğer risk faktörlerine sahip kadınlarda belirgin etkinliğinin olmadığı gösterilmiştir. Etkinlik bakımında alendronata benzer, ancak alendronattan farklı olarak özefajite neden olmaz<sup>62</sup>.

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Deney

#### 3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, Çukurova Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi (TIBDAM) tarafından yetiştirilen 3 aylık, 60 adet dişi Wistar türü sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar, %1 kalsiyum, %0,7 fosfor, 1000 IU/kg vitamin D3 ve 300 IU/kg vitamin A (Tavaş A.Ş. Adana, Türkiye) içeren standart besin ile beslendi. Sıçanlar, lokal hayvan barınağı şartları altında ( $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $\%55 \pm 10$  nem, 12 saat gündüz-gece döngüsü), suya ve standart besine serbestçe ulaşacak şekilde barınmaları sağlandı. Bu çalışma için TIBDAM etik kurul onayı alındı.

#### 3.1.2. Deneysel Model

Deney hayvanları aşağıdaki gibi gruplandırıldı:

- Sham opere (Shm) kontrol grubu (n=20)
- Sadece serum fizyolojik (SF) alan overiektomize grup (Ovx-SF) (n=20)
- Alendronat sodyum alan overiektomize grup (Ovx-A) (n=20)

Tüm deney gruplarının cerrahisi anestezi altında gerçekleştirildi. Sıçanların anestezisinde, intraperitoneal olarak 20mg/kg Xylazine HCL (Rompun<sup>®</sup>, Bayer Türk Kimya San. Ltd., İstanbul) ve 1mg/kg ketamin (Alfamyne<sup>®</sup>, Egevet, İzmir, Türkiye) kullanıldı. Shm grubundaki sıçanlarda batın açılarak, overlere herhangi bir girişim yapılmadan cilt, cilt altı primer suture edilerek kapatıldı. Ovx-SF, Ovx-A gruplarında ise, hayvanın karın yüzeyi silinerek abdominal kavitesi derin bir insizyonla açıldı. Deri ve periton klemp ile tutturularak abdomen içerisinde kolayca çalışılması sağlandı. Bağırsaklar bir forseps yardımıyla yukarıya doğru itildi. Açıkta kalan overler ince bir forseps ile tutturulup eksize edilerek bilateral overiektomi gerçekleştirildi. Operasyonu takiben sıçanlar 7 günlük bekleme dönemine alındı. Ovx-A grubundaki sıçanlara 56 gün boyunca 1mg/kg/gün dozunda Alendronat sodyum (Osalen, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Türkiye) gastrik gavaj yöntemi ile verildi. Ovx-SF grubundaki sıçanlara ise 56 gün boyunca 1ml/kg/gün dozunda SF gastrik gavaj yöntemi ile verildi.

Deneyde kullanılan tüm hayvanların yaşamı, 57.günde uygulanan intraperitoneal 10 mg/kg Xylazine HCL (Rompun®, Bayer Türk Kimya San. Ltd. İstanbul) enjeksiyonunu takiben dekapitasyon ile sonlandırıldı. Deney süresince hayvan kaybı yaşanmadı.

### **3.1.3. Plazma ve İdrar Biyokimyası:**

Biyokimyasal değerlendirmeler için, deney gruplarının her birinden beşer adet (n=15) rastgele sıçan seçildi. Sıçanlar sakrifiye edilmeden önce metabolik kafeslerde tutuldu. Üriner kreatinin ve kalsiyum ölçümü amacıyla sıçanların 24 saatlik idrar örneği toplandı. Sıçanların dekapitasyon öncesi anestezisi sağlandıktan sonra heparinize şırıngaya abdominal aortalarından kan alındı. Kan kalsiyum konsantrasyonu ölçümü için plazmanın ayrılması amacıyla otoanalizör ile 3000 devir/dk. da 10 dakika süresince 20 derecede santrifuj edildi. Alınan kan ve idrar örnekleri Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarlarında değerlendirildi. Kanda; osteokalsin (mg/L), kreatinin (mg/dl) ve kalsiyum (mg/dl), idrar da ise; kreatinin (mg/dl) ve kalsiyum (mg/dl) bakıldı.

### **3.1.4. Kemik İzolasyonu:**

Her üç gruptaki tüm sıçanlar (n=60) sakrifiye edildikten sonra, bilateral alt ekstremiteleri ve lumbal bölgeleri disseke edilerek, femurları, tibiaları, Lumbal 1 (L1) ve Lumbal 2 (L2) vertebraları çıkartıldı. İzole edilen kemiklerin çevresindeki kas ve bağ dokusu dikkatli bir şekilde temizlendi. Temizlenen kemikler %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Sert Doku Laboratuvarına teslim edildi.

### **3.2. Değerlendirme Yöntemleri:**

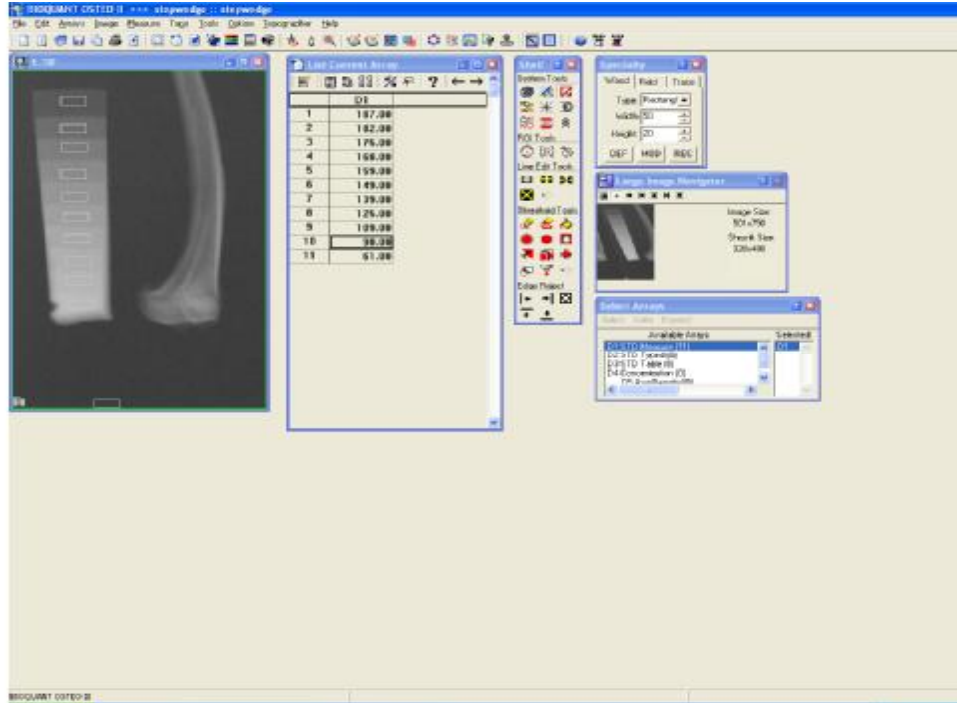
Her üç grupta da sakrifiye edilen sıçanların tibia kemikleri üzerinde mekanik testler yapıldı ve gruplar temel kemik morfolojisi yönünden morfometrik olarak değerlendirildi. Vertebralar ve tibialar kemik kesitler hazırlanmadan önce henüz yeni diseksiyon yapılmışken aşağıda ayrıntısı verilen yöntem ile dansitometrik olarak değerlendirildi.

### 3.2.1. Morfometrik Yöntem:

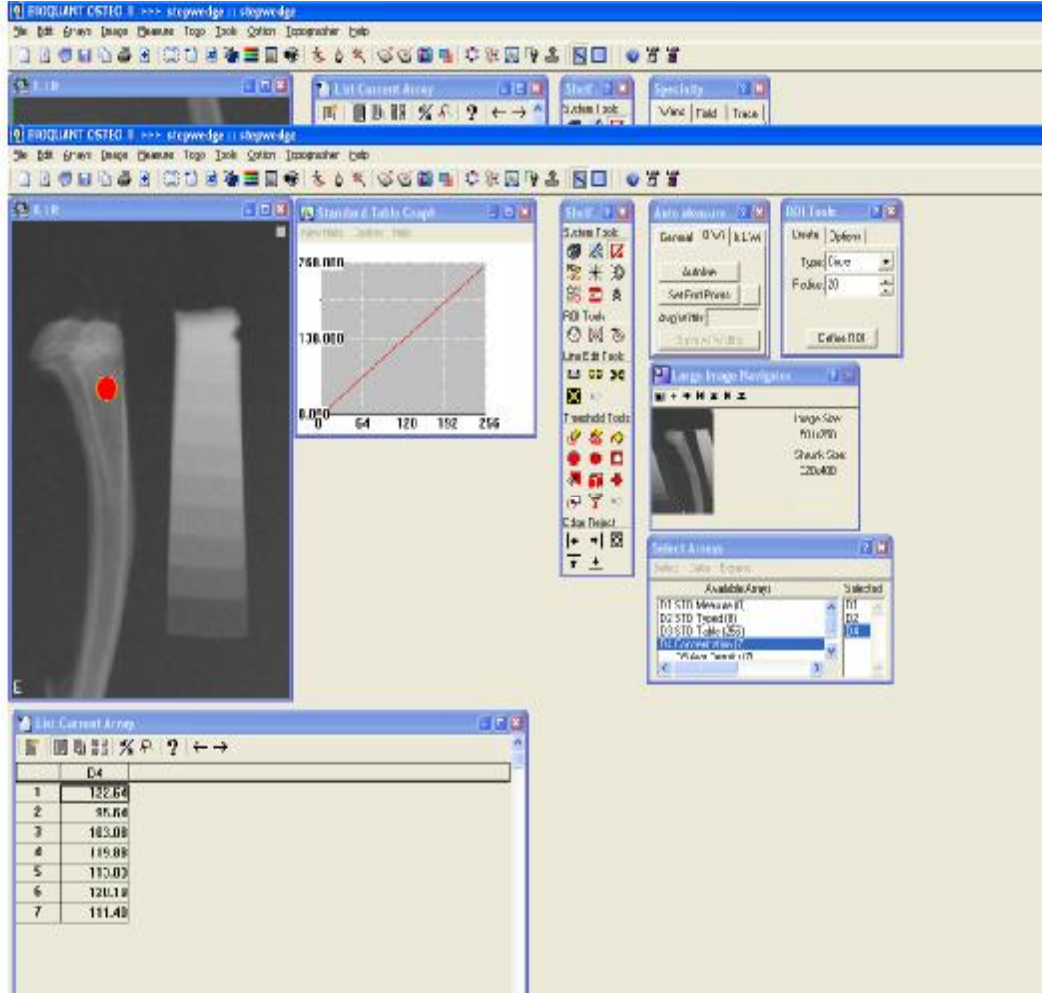
Dijital kumpas kullanılarak kollum tibia ve kaput tibia çapları morfometrik açıdan değerlendirildi ve veriler not edildi.

### 3.2.2. Dansitometrik Yöntem:

Dansitometrik yöntemle inceleme, her gruptaki tibia, L1 ve L2 vertebra örneklerine sakrifikasyonu takiben fiksasyon öncesinde yapıldı. Öncelikle tüm örnekler yumuşak dokulardan temizlendi. Örnekler dijital sensör üzerine torako-dorsal olarak yerleştirildi. Tüm incelemelerde standardizasyonu sağlayabilmek için bir alüminyum rehber kullanıldı. Uygulama 65 Kvp, 7,5 mA x ışın kaynağı (Gendex, Oralix, Milano, Italy) ile gerçekleştirildi. Fokal spot-örnek mesafesi 25cm ve ekspoz zamanı 0,12 ms olarak saptandı. Elde edilen “targa” formatındaki dijital görüntüler tif formatına çevrilerek, görüntü analiz yazılımına ayrılmış olan kişisel bilgisayara aktarıldı. Görüntülerde yer alan alüminyum rehber kullanılarak kalibrasyon yapıldı (Şekil 3.1). Tibia, L1 ve L2 vertebra lar üzerinden iki ölçüm yapıldı. Bu ölçümlerde, Bioquant Osteo II (Nashville, TN, US) yazılımı kullanıldı (Şekil 3.2.).



Şekil 3.1. Kalibrasyon



Şekil 3.2. Dansitometrik Ölçüm

### 3.2.3. Biyomekanik Yöntem:

Her gruptan 10'ar adet tibia mekanik test için kullanıldı. Üç nokta eğme testi (tri point bending) için hazırlanan düzenek üniversal test cihazına (Testometric AX M500 25 kN, Testometric Co. Rochdale, England) bağlandı (Şekil 3.3 ve 3.4). Test hızı 1,20 mm/dk olarak seçildi. Veriler 250 kgf sensör (load cell) ile okunarak kontrol programını da içeren kişisel bilgisayarda depolandı. Her grup için tibiaların kırılma kuvvetleri kaydedildi.



**Şekil 3.3.** Üç nokta eğme testi için hazırlanan düzenek.



**Şekil 3.4.** Üniversal test cihazı.

### 3.2.4. Histomorfometrik Yöntem:

#### 3.2.4.1. Dekalsifiye Edilmemiş Kemik Preparatlarının Hazırlanması:

Dekalsifiye edilmemiş kemik preparatları ve kemik histomorfometrisi, Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Sert Doku Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deney hayvanlarından alınan, femur ve vertebra örnekleri oda ısısında en az 24 saat %10'luk tamponlanmış formalin içerisine yerleştirildi. Daha sonra 15-30 dk. süre ile 4°C de formaldehit solüsyonuyla ön fiksasyona tabi tutuldu. Artan oranlarda alkol (% 70-% 99) ile dehidratasyon yapıldı. Dehidratasyon zamanı doku kalınlığına bağlı olarak ayarlandı. Örnekler, saf glikolmetakrilat ve gömme materyali (embedding medium, Tecnovit 7200 VLC) 1:1 oranında karıştırılarak elde edilen sıvı içerisinde, vakum altında 8-12 saat süreyle tutuldu. Bu süre 2-4 mm. kalınlığında olan örnekler için uygulandı. Örnekler özel şeffaf kutucuklar içerisine hava kabarcığı olmaması için vakum altında gömme materyali kullanılarak gömüldü. Bu kutucuklar sabit 40°C de, sarı ışık altında 4 saat polimerize edildi. Doku içine işlemiş olan gömme materyali mavi ışık ile tam olarak polimerize edildi. Tamamen sertleşmiş olan bloklar şeffaf kutucuklar kırılarak çıkarıldı. Hazırlanan bloklardan daha sonra 10µm kalınlığında dekalsifiye edilmemiş kesitler Exakt hassas kesme ve aşındırma üniteleri (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Germany) kullanılarak hazırlandı (Şekil 3.5 ve 3.6). Kesitler %1 Toluidine mavisi ile boyandı.



Şekil 3.5. Hassas kesme ünitesi



**Şekil 3.6.** Hassas aşındırma ünitesi

### 3.2.4.2. Histomorfometrik İnceleme

Preparatlar Olympus BX 50 mikroskop (Olympus® BX50, Tokyo, Japan) ile incelendi. Mikroskop'a monte edilmiş dijital kamera (Olympus® DP 70, Tokyo, Japan) yardımı ile kesitlerden 40x büyütmede dijital görüntüler elde edildi. Görüntüler, kişisel bilgisayara aktarıldı. Aktarılan görüntüler, Bioquant Osteo II (Nashville, TN, US) kemik histomorfometri programı kullanılarak analiz edildi (Şekil 3.7). Analiz sırasında histomorfometrik olarak aşağıda tanımları verilmiş olan parametreler kullanıldı;

BV/TV : Kemik hacim / toplam doku hacim oranı (%)

Md.V/BV : Mineralize hacim / kemik hacim oranı (%)

Md.V/TV : Mineralize hacim / toplam doku hacim oranı (%)

OV/BV : Osteoid hacim / kemik hacim oranı (%)

OV/TV : Osteoid hacim / toplam doku hacim oranı (%)

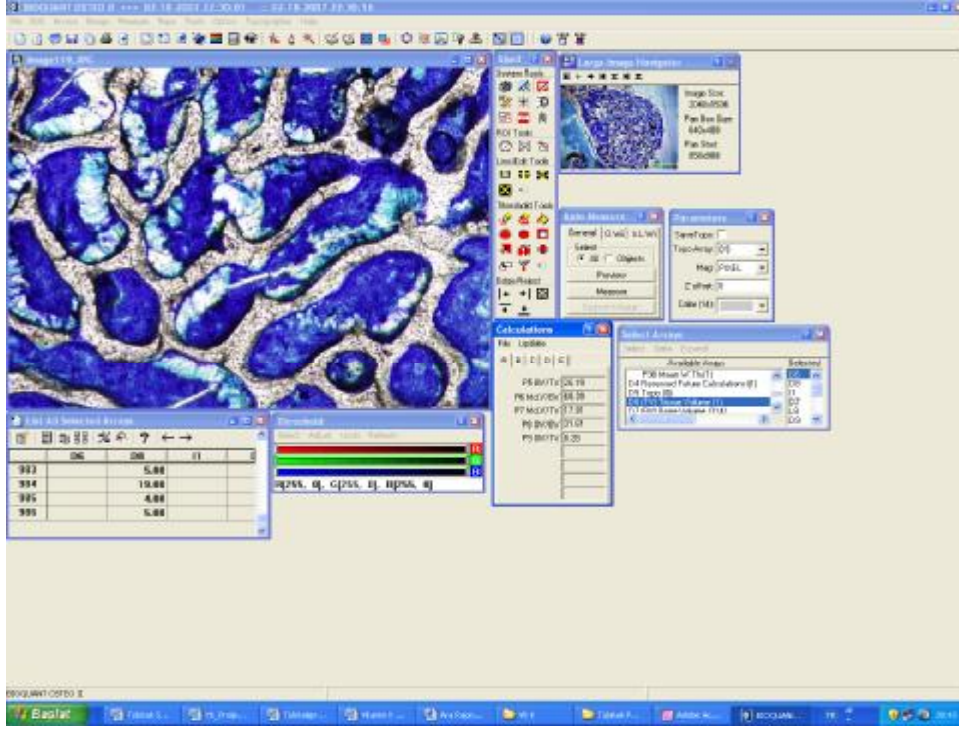
BS/BV : Kemik yüzey / kemik hacim oranı (%)

BS/TV : Kemik yüzey / toplam doku hacim oranı (%)

Tb.Th : Trabeküler kalınlık ( $\mu\text{m}$ )

Tb.N : Trabekül sayısı (adet)/mm

Tb.Sp : Trabeküller arası mesafe ( $\mu\text{m}$ )



Şekil 3.7. Histomorfometri yazılımı

### 3.2.4.3. İstatistiksel Değerlendirme

Gruplara ait histomorfometrik, dansitometrik ve mekanik testlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS v15 network versiyonu kullanıldı. Sürekli değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmaları için One Way ANOVA ve Kruskal-Wallis kullanıldı.

Değişkenler tibia dansitometrik ölçümleri ortalama±standart sapma, diğer değişkenler ise minimum (min), maksimum (maks) ve medyan (med) olarak özetlendi. İstatistiksel değerlendirmelerde  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak alındı.

## 4. BULGULAR

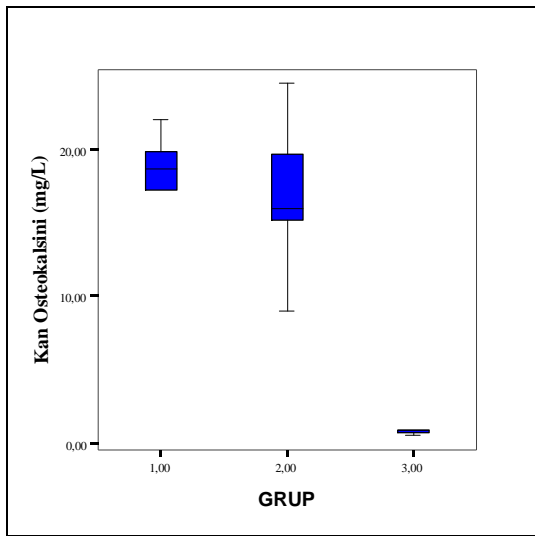
### 4.1. Plazma ve İdrar Biyokimyası:

Plazma osteokalsin ve kreatinin değerinde; Ovx-SF grubu (osteokalsin:18,60 mg/L - kreatinin:0,70 mg/dl) sıçanlarda, Shm grubuna (osteokalsin:15,90 mg/L- kreatinin: 0,40 mg/dl) göre anlamlı artma gözlenirken, Ovx-A grubu (osteokalsin:0,90 mg/L - kreatinin: 0,40 mg/dl) sıçanlarda ise Ovx-SF grubuna göre anlamlı azalma gözlendi ( $p<0,05$ ) Plazma kalsiyum değerinde ise Ovx-SF grubu (7,10 mg/dl ) sıçanlarda, Shm grubuna (9,40 mg/dl), göre anlamlı azalma gözlenirken, Ovx-A grubu (9,40 mg/dl) sıçanlarda, Ovx-SF grubuna göre anlamlı artış gözlendi ( $p<0,05$ ), (Şekil 4.1-Şekil 4.3). Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplarına ait plazma biyokimya sonuçlarının minimum, maksimum ve medyan değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Plazma biyokimya sonuçları.

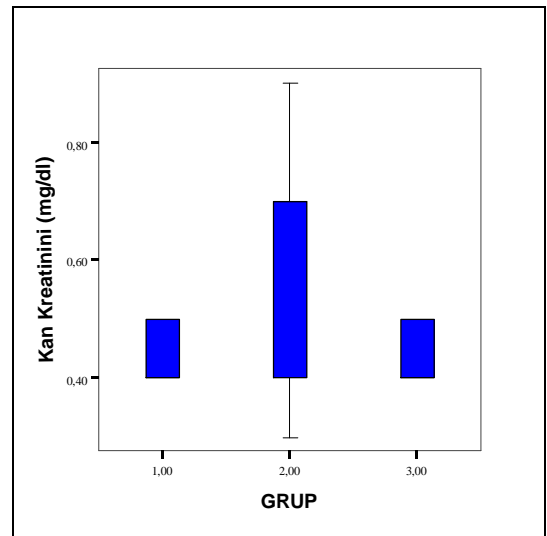
Değişkenler	Shm Grubu (n=10)			Ovx-SF Grubu (n=10)			Ovx-A Grubu (n=10)		
	Minimum	Maksimum	Medyan	Minimum	Maksimum	Medyan	Minimum	Maksimum	Medyan
Osteokalsin (mg/L)	8,89	21,90	15,90	8,97	24,42	18,60	0,50	6,70	0,90
Kreatinin (mg/dl)	0,40	0,70	0,40	0,30	0,90	0,70	0,40	0,50	0,40*
Kalsiyum (mg/dl)	9,30	9,90	9,40	6,50	8,10	7,10	9,30	11,60	9,40*

\*:  $p<0,05$ .



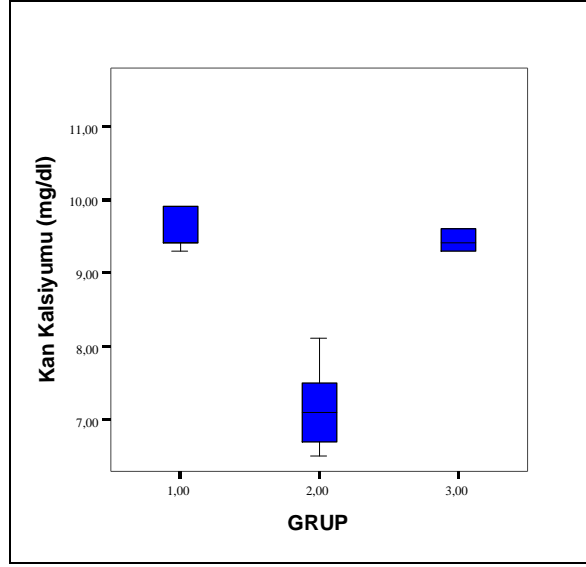
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil 4.1. Plazma osteokalsin sonuçları.



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil. 4.2. Plazma kreatinin sonuçları.



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

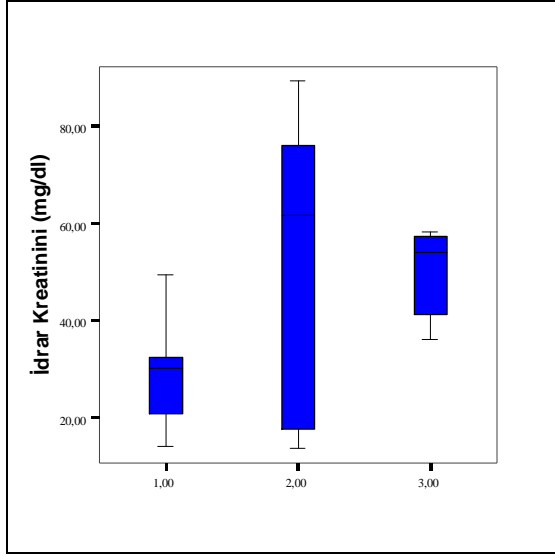
Şekil 4.3. Plazma kalsiyum sonuçları.

İdrar kreatinin ve kalsiyum değerinde; Ovx-SF grubu (kreatinin:61,50 mg/dl- kalsiyum: 4,30mg/dl) sıçanlarda, Shm grubuna (kreatinin:30,30 mg/dl- kalsiyum: 1,60 mg/dl) göre anlamlı artış gözlenirken, Ovx-A grubu (kreatinin:54,10 mg/dl- kalsiyum:1,90 mg/dl) sıçanlarda Ovx-SF grubuna göre anlamlı azalma gözlemlendi ( $p<0,05$  Şekil 4.4- Şekil 4.5). Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplarına ait idrar biyokimya sonuçlarının minimum, maksimum ve medyan değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

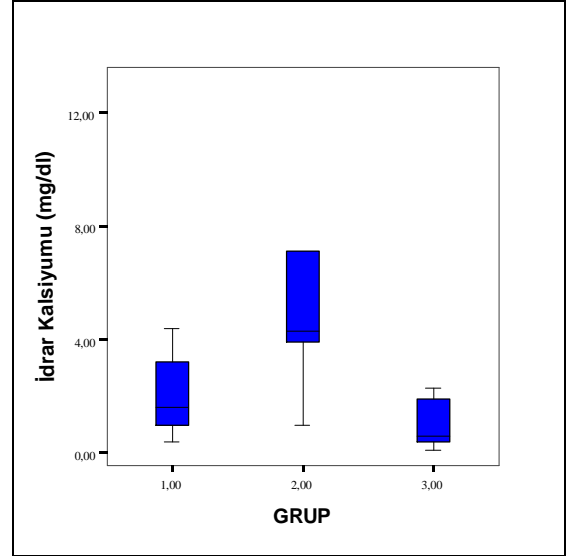
Çizelge 4.2. İdrar biyokimya sonuçları.

Değişkenler	Shm Grubu (n=10)			Ovx-SF Grubu (n=10)			Ovx-A Grubu (n=10)		
	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.
Kreatinin (mg/dl)	14,30	49,50	30,30	13,90	89,20	61,50	36,20	58,30	54,10*
Kalsiyum (mg/dl)	0,40	4,40	1,60	1,00	13,10	4,30	0,10	13,10	1,90*

\*:  $p<0,05$ .



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.4. İdrar Kreatinin Sonuçları.



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.5. İdrar kalsiyum sonuçları.

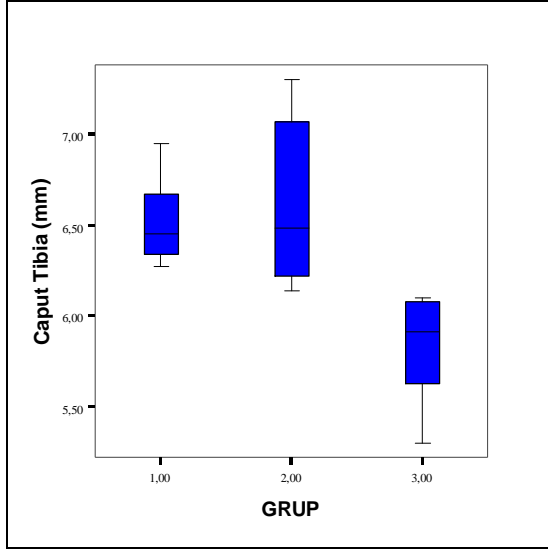
#### 4.2. Morfometrik Bulgular

Morfometrik değerlendirmeler için caput tibia ve collum tibia'dan alınan çap ölçümleri Çizelge 4.3'de verildi. Caput ve collum tibia çapı ölçümlerinde; Ovx-SF grubu sıçanlarda Shm grubuna göre anlamlı azalma gözlenirken, Ovx-A grubu sıçanlarda Ovx-SF grubuna göre anlamlı artış gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Morfometrik değerlendirmeler ile ilgili grafikler Şekil 4.6 - Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

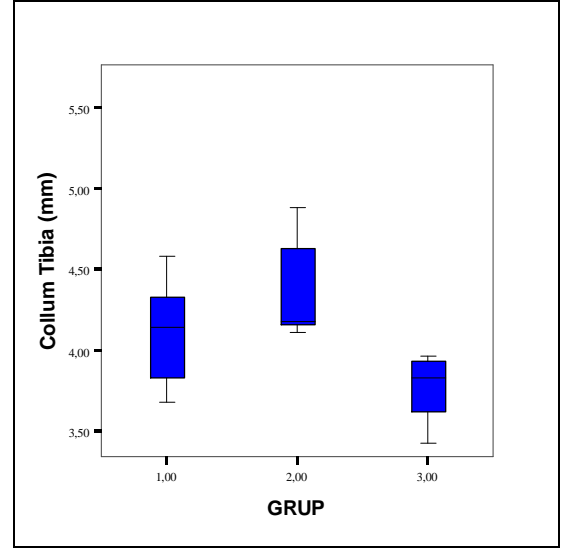
Çizelge 4.3. Caput tibia ve collum tibia'nın çap ölçümleri (mm).

Değişkenler	Shm Grubu (n=10)			Ovx-SF Grubu (n=10)			Ovx-A Grubu (n=10)		
	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.
Caput Tibia Çapı(mm)	6,27	6,95	6,46	5,30	6,10	5,92*	6,14	7,30	6,48*
Collum Tibia Çapı(mm)	3,68	4,58	4,15	3,43	3,97	3,84*	4,11	5,67	4,18*

\*:  $p < 0,05$



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.6. Caput tibia çap ölçümü.



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.7. Collum tibia çap ölçümü.

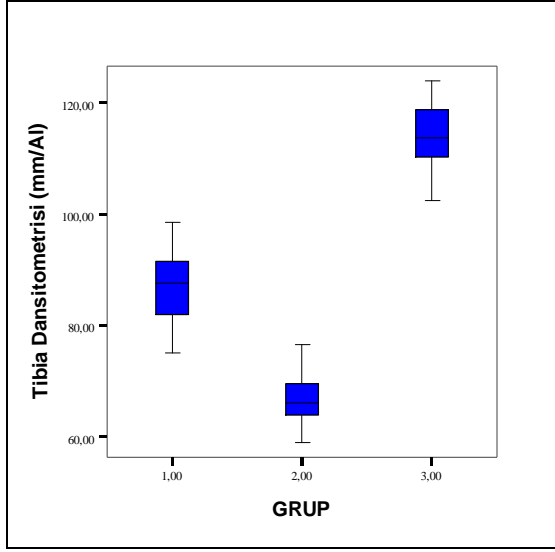
### 4.3. Dansitometrik Bulgular

Tibialardan alınan dansitometrik ölçümlerin kemik yoğunluğu Ortalama±Standart Sapma (Ort±SS) değerleri; Shm grubunda  $86,97 \pm 6,35$  mm/Al, Ovx-SF grubunda  $66,90 \pm 4,32$  mm/Al ve Ovx-A grubunda ise  $114,24 \pm 6,24$  mm/Al olarak ölçüldü (Çizelge 4.4, Şekil 4.10). Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplara ait tibia'ların grup içi ve gruplar arası kemik yoğunluğu açısından karşılaştırılması yapıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ), (Şekil 4.8).

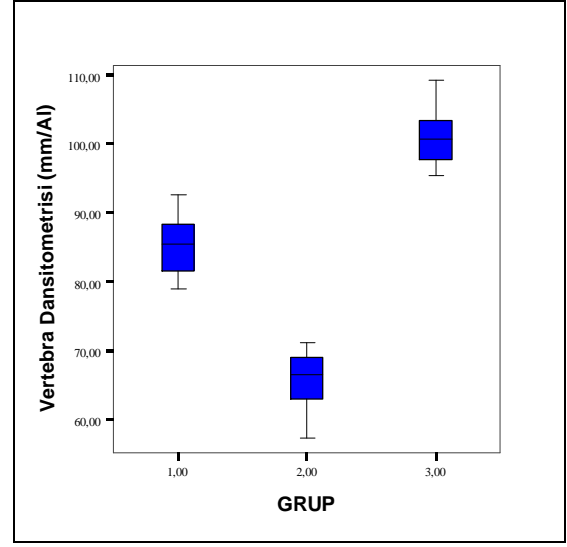
Çizelge.4.4. Tibia dansitometrik ölçümleri.

Değişkenler	Shm Grubu (n=20)	Ovx-SF Grubu (n=20)	Ovx-A Grubu (n=20)
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS
Tibia mm/Al	$86,97 \pm 6,35$	$66,90 \pm 4,32^*$	$114,24 \pm 6,24^*$

\*:  $p < 0,05$ .



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
**Şekil 4.8.** Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplarında tibia densitometrik ölçümleri.



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
**Şekil 4.9.** Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplarında vertebra densitometrik ölçümleri.

Vertebralardan alınan densitometrik ölçümlerin kemik yoğunluğu medyan değerleri; Shm grubunda 85,35 mm/Al, Ovx-SF grubunda 66,40 mm/Al ve Ovx-A grubunda ise 100,56 mm/Al olarak ölçüldü (Çizelge 4.5, Şekil 4.9). Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplara ait vertebra'ların grup içi ve gruplar arası kemik yoğunluğu açısından karşılaştırılması yapıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ), (Şekil 4.9).

**Çizelge.4.5.** Vertebra densitometrik ölçümleri.

Değişkenler	Shm Grubu (n=20)			Ovx-SF Grubu (n=20)			Ovx-A Grubu (n=20)		
	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.
Vertebra mm/Al	78,90	92,60	85,36	57,20	71,10	66,40*	95,30	109,30	100,56*

\*:  $p < 0,05$ .

#### 4.4. Biyomekanik Test Bulguları

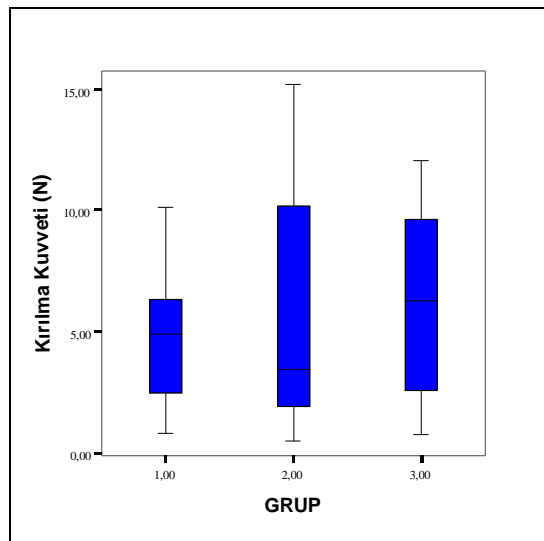
Yapılan biyomekanik ölçümler sonucunda, tibia kırılma kuvveti, maksimum uygulanan kuvvet, alttan ve üstten uygulanan kuvvet, Ovx-SF grubu sıçanlarda Shm grubuna göre anlamlı azalma gösterirken, Ovx-A grubu sıçanlarda Ovx-SF grubuna

göre anlamlı artış gösterdi ( $p<0,05$ ), (Şekil 4.10 - Şekil 4.13). Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplarına ait biyomekanik test sonuçlarına göre tibiaların kırılma kuvveti, maksimum uygulanan kuvvet, alttan uygulanan kuvvet ve üstten uygulanan kuvvetin medyan değerleri çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

**Çizelge.4.6.** Biyomekanik ölçümler.

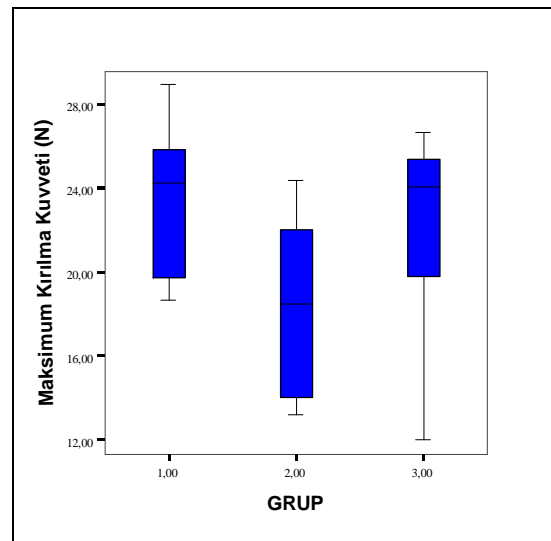
Değişkenler	Shm Grubu (n=10)			Ovx-SF Grubu (n=10)			Ovx-A Grubu (n=10)		
	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.
Kırılma Kuvveti (N)	0,80	10,16	4,90	0,47	15,20	3,44*	0,75	12,05	6,28*
Maksimum Uygulanan Kuvvet (N)	18,64	28,93	24,24	13,15	24,36	18,48*	11,97	26,67	24,03*
Alttan Uygulanan Kuvvet (N)	18,64	28,93	22,66	6,44	16,64	12,22*	0,00	25,99	15,93*
Üstten Uygulanan Kuvvet (N)	18,64	28,93	21,56	4,25	24,36	16,08*	11,97	26,67	24,02*

\*:  $p<0,05$ .



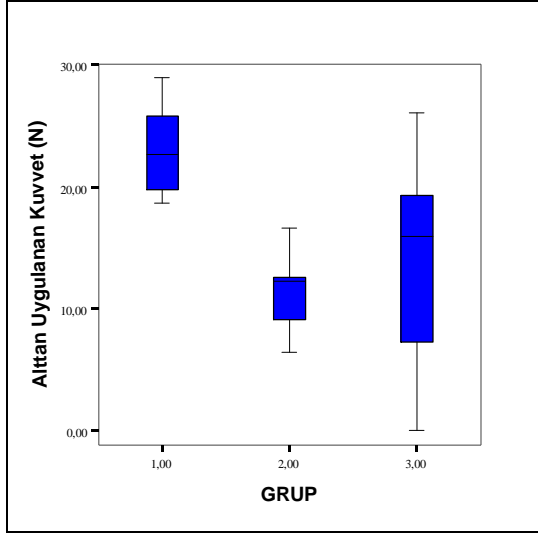
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil 4.10. Tibia kırılma kuvveti (N).

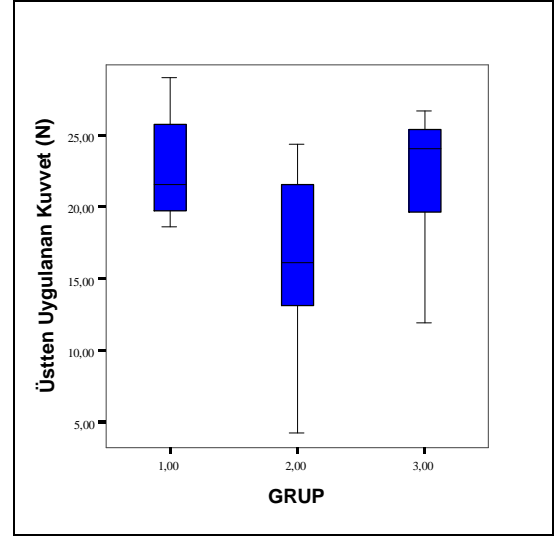


1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil 4.11. Tibialar'a maksimum uygulanan kuvvet (N)



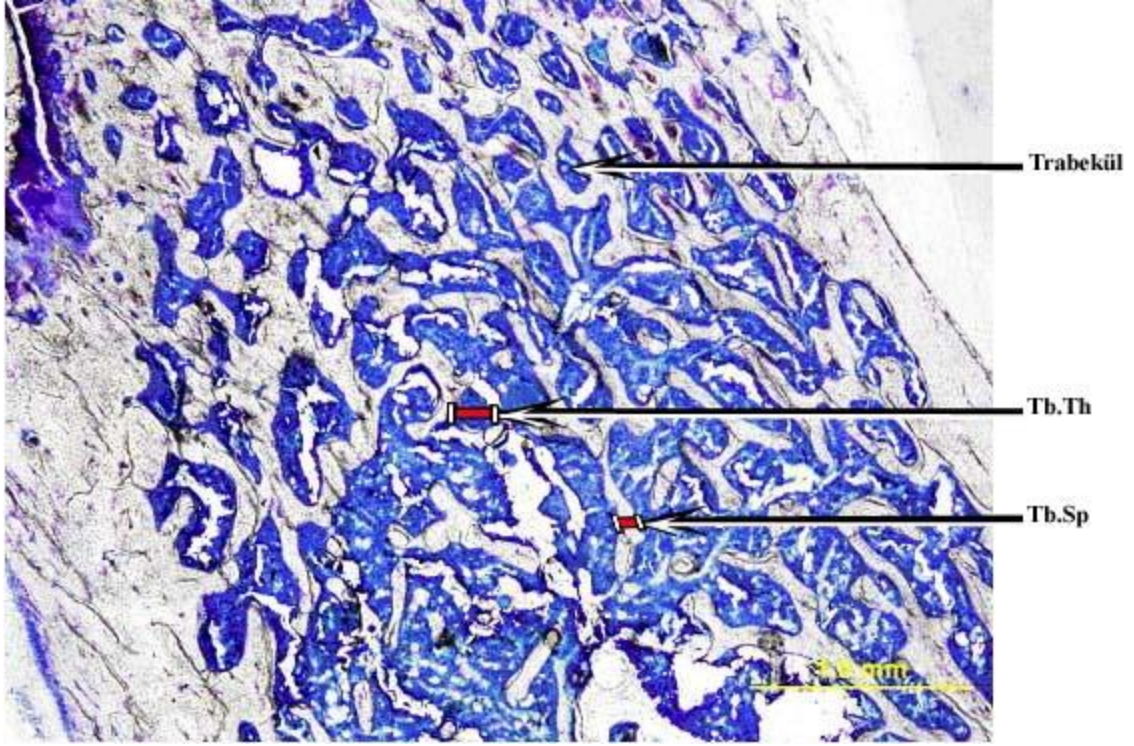
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.12. Tibialar'a alttan uygulanan kuvvet (N).



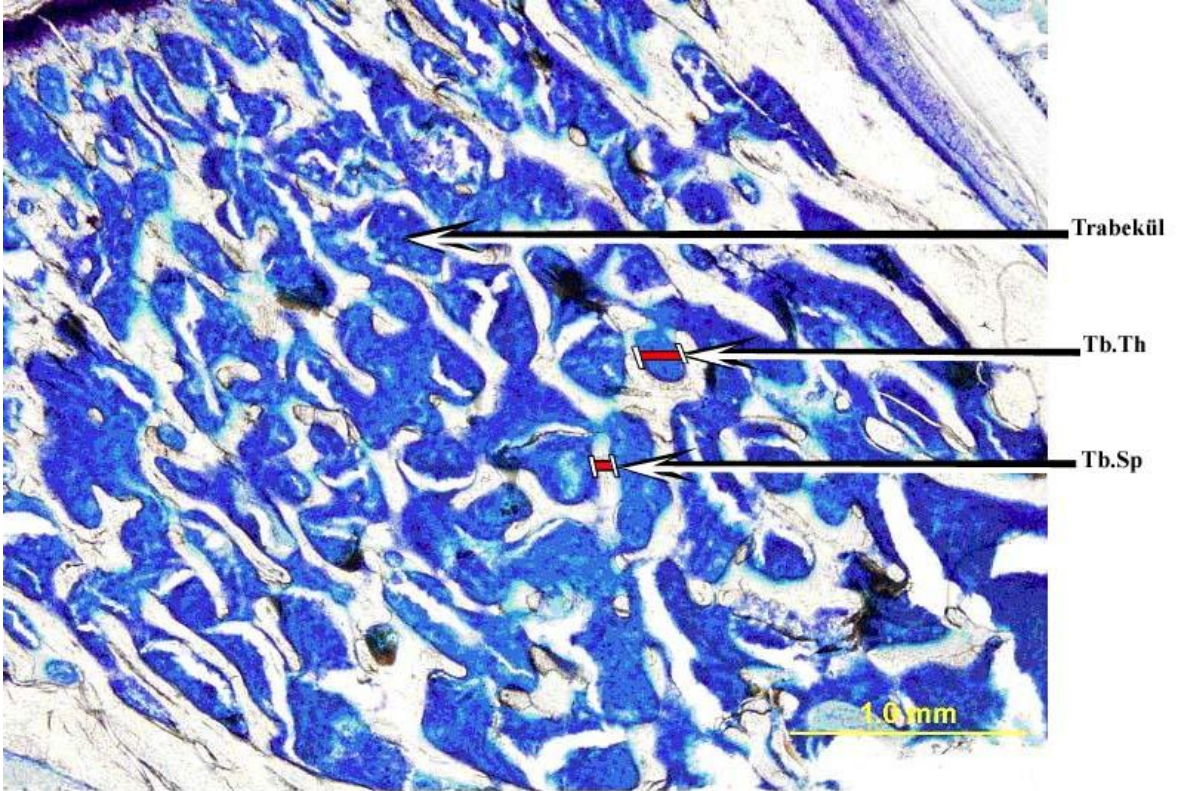
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.13. Tibialar'a üstten uygulanan kuvvet (N).

#### 4.5. Kemik Histomorfometri Bulguları

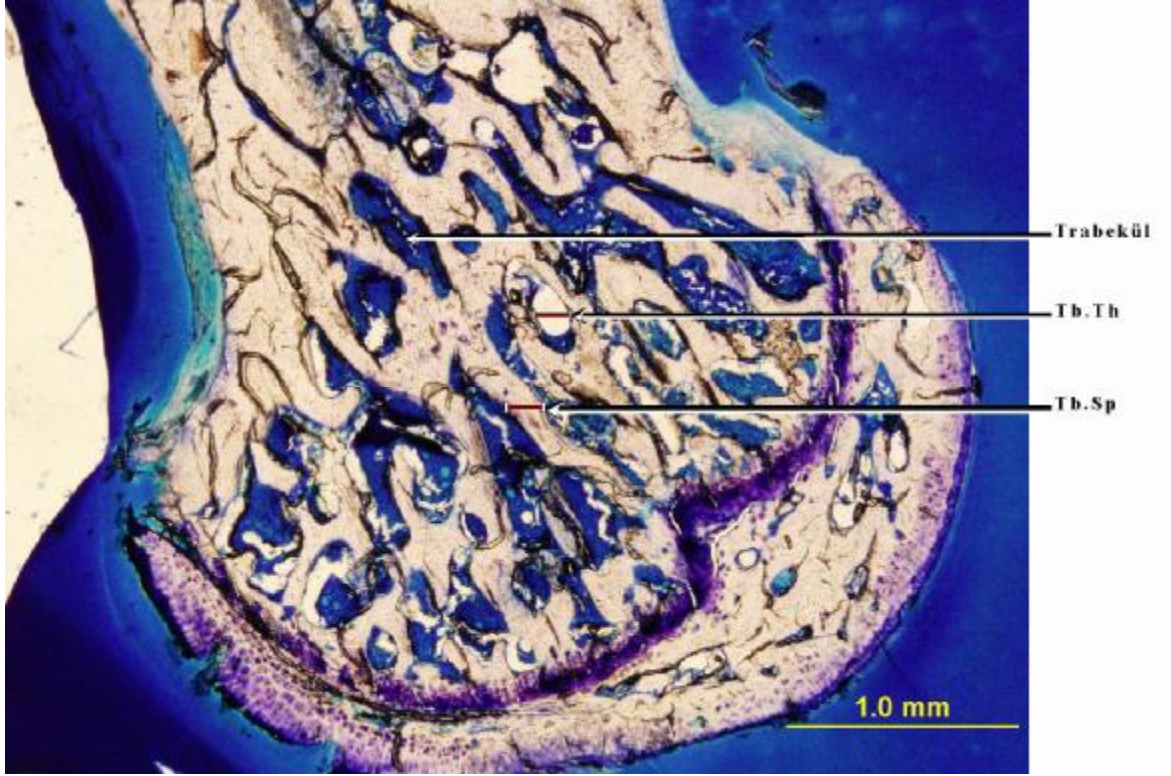
Dekalsifiye edilmemiş femur kesitlerinin incelenmesi sonucunda elde edilen histomorfometrik sonuçlar ayrıntılı olarak değerlendirildi; Sham grubundan elde edilen femur kesitlerinde trabeküler yapının normal olduğu gözlemlendi (Şekil 4.14). Ovariectomy edilen Ovx-SF grubu sıçanlarda trabeküler yapıda bozulmayla birlikte trabeküler sayıda ve kalınlığında azalma, trabeküller arası mesafede artma saptandı (Şekil 4.15). Alendronat sodyum uygulaması yapılan Ovx-A grubu sıçanlardan alınan femur kesitlerinde ise Ovx-SF grubunun aksine trabekül sayısında ve trabekül kalınlığında artma, trabeküller arası mesafede azalma gözlemlendi (Şekil 4.16). Femurda yapılan histomorfometrik ölçümlerin; kemik hacim / toplam doku hacim oranı (BV/TV), mineralize hacim / kemik hacim oranı (Md.V/BV), mineralize hacim / toplam doku hacim oranı (Md.V/TV), osteoid hacim / kemik hacim oranı (OV/BV), osteoid hacim / toplam doku hacim oranı (OV/TV), kemik yüzey / kemik hacim oranı (BS/BV), kemik yüzey / toplam doku hacim oranı (BS/TV), trabekül sayısı (Tb.N), trabeküler kalınlık (Tb.Th), trabeküller arası mesafe (Tb.Sp) minimum, maksimum ve medyan değerleri Çizelge 4.7'de gösterildi. Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplar ait femurlar'ın, grup içi ve gruplar arası kemik histomorfometri sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ), (Şekil 4.17- Şekil 4.26).



Şekil 4.14. Shm grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş femur kesiti, Toluidine blue (x40).



Şekil 4.15. Ovx-SF grubunda dekalsifiye edilmemiş femur kesiti Toluidine blue (x40).

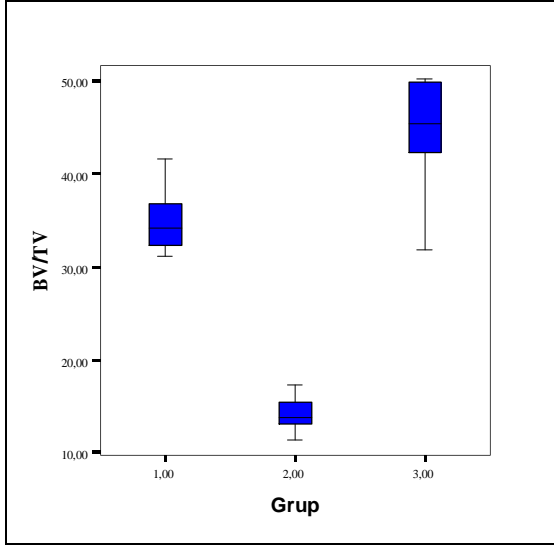


Şekil 4.16. OvX-A grubu sıçanların dekalsifiye edilmemiş femur kesiti, Toluidine blue (x40).

Çizelge 4.7. Femur'un histomorfometrik analiz sonuçları.

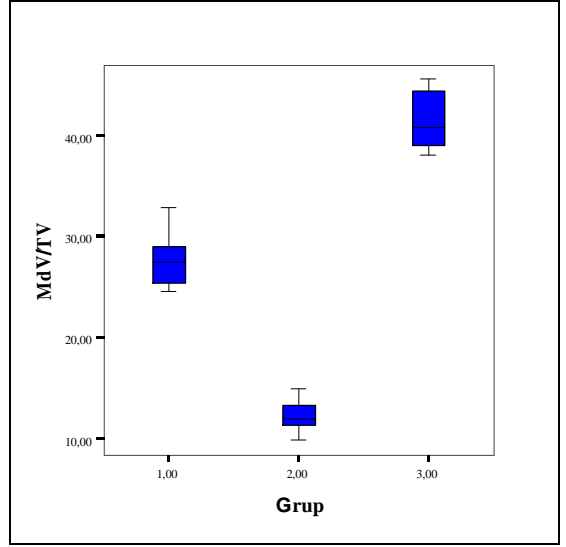
Değişkenler	Shm Grubu (n=10)			Ovx-SF Grubu (n=10)			Ovx-A Grubu (n=10)		
	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.
BV/TV (%)	31,18	41,63	34,20	11,36	17,28	13,80*	31,77	50,09	45,30*
Md.V/BV (%)	82,41	110,02	90,34	96,80	147,14	117,48*	123,23	200,37	179,64*
Md.V/TV (%)	24,59	32,83	27,51	9,83	14,95	11,94*	28,36	45,54	40,83*
OV/BV (%)	13,32	17,78	14,60	7,34	11,17	8,91*	16,60	26,41	23,67*
OV/TV (%)	3,55	4,75	3,90	0,70	1,06	0,85*	4,13	6,51	5,84*
BS/BV (%)	279,30	372,88	306,17	488,91	743,37	593,50*	159,85	201,48	179,13*
BS/TV (%)	75,51	100,81	82,77	45,81	69,65	55,61*	100,59	161,62	144,90*
Tb.N (adet)	41,21	55,02	45,17	9,10	14,70	13,17	22,45	34,13	27,25*
Tb.Th (µm)	8,41	11,23	9,22	4,98	7,57	6,05*	50,70	80,43	72,10*
Tb.Sp (µm)	153,29	204,65	168,03	446,01	678,15	541,43*	120,08	162,78	134,50*

\*: p<0,05.



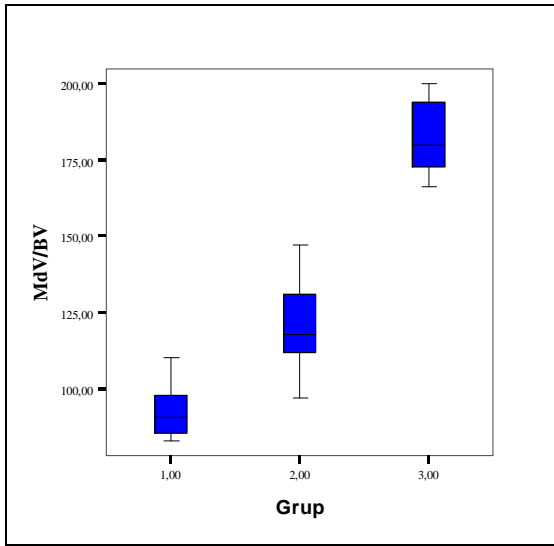
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil 4.17. Femur'un kemik hacim / toplam doku hacim oranı (BV/TV).



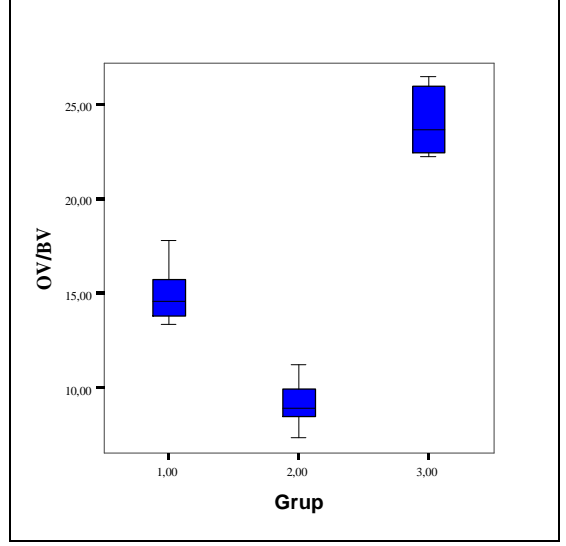
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil 4.19. Femur'un mineralize hacim/toplam doku hacim oranı (Md.V/TV).



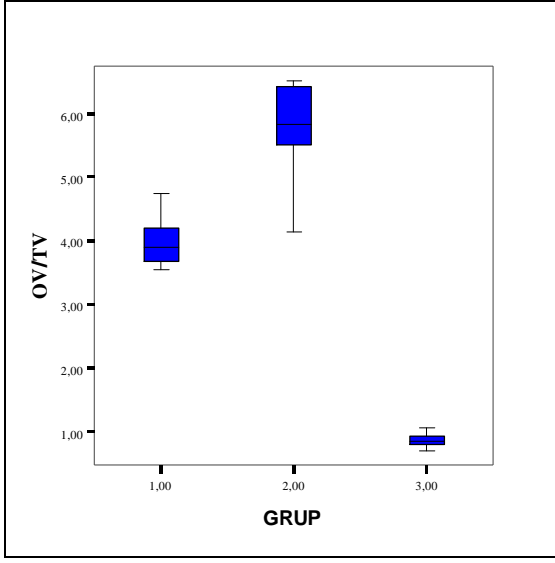
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

Şekil 4.18. Femur'un mineralize hacim / kemik hacim oranı (Md.V/BV).

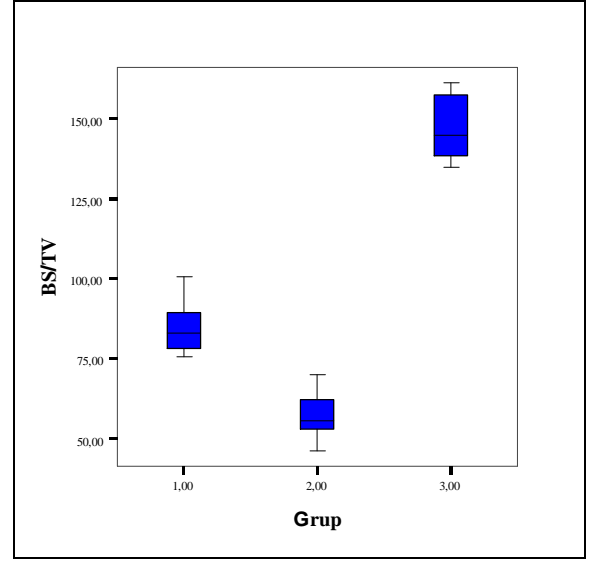


1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A

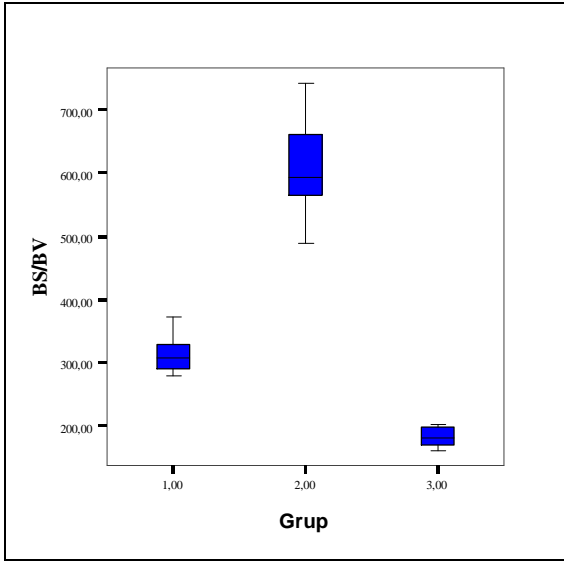
Şekil 4.20. Femur'un osteoid hacim/kemik hacim oranı (OV/BV).



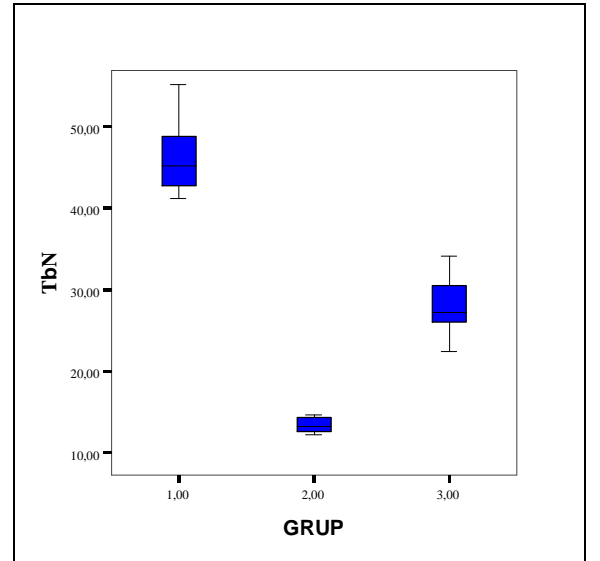
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.21. Femur'un osteoid hacim/toplam doku hacim oranı (OV/TV).



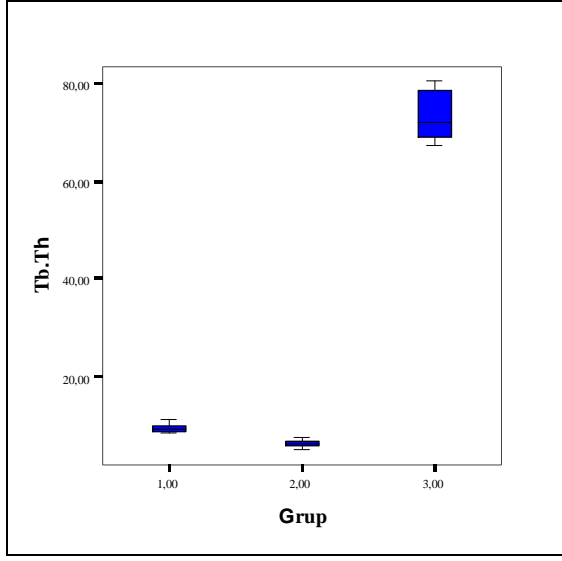
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.23. Femur'un kemik yüzeyi/toplam doku hacim oranı (BS/TV).



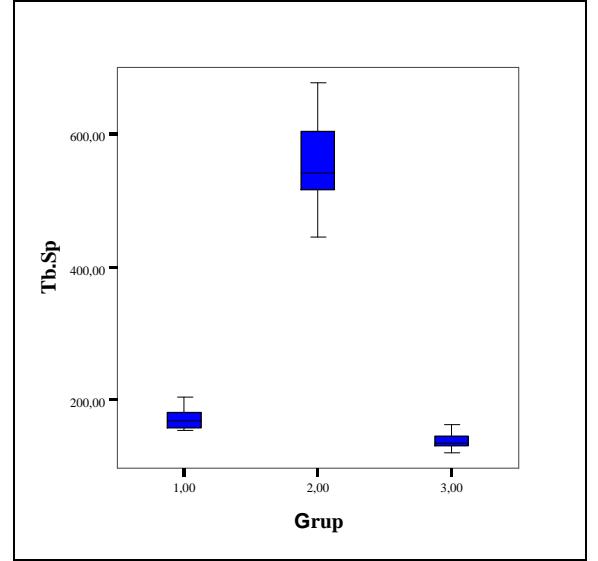
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.22. Femur'un kemik yüzeyi/kemik hacim oranı (BS/BV).



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.24. Femur'un trabekül sayısı (Tb.N).



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.25. Femur'un trabeküler kalınlığı (Tb.Th).

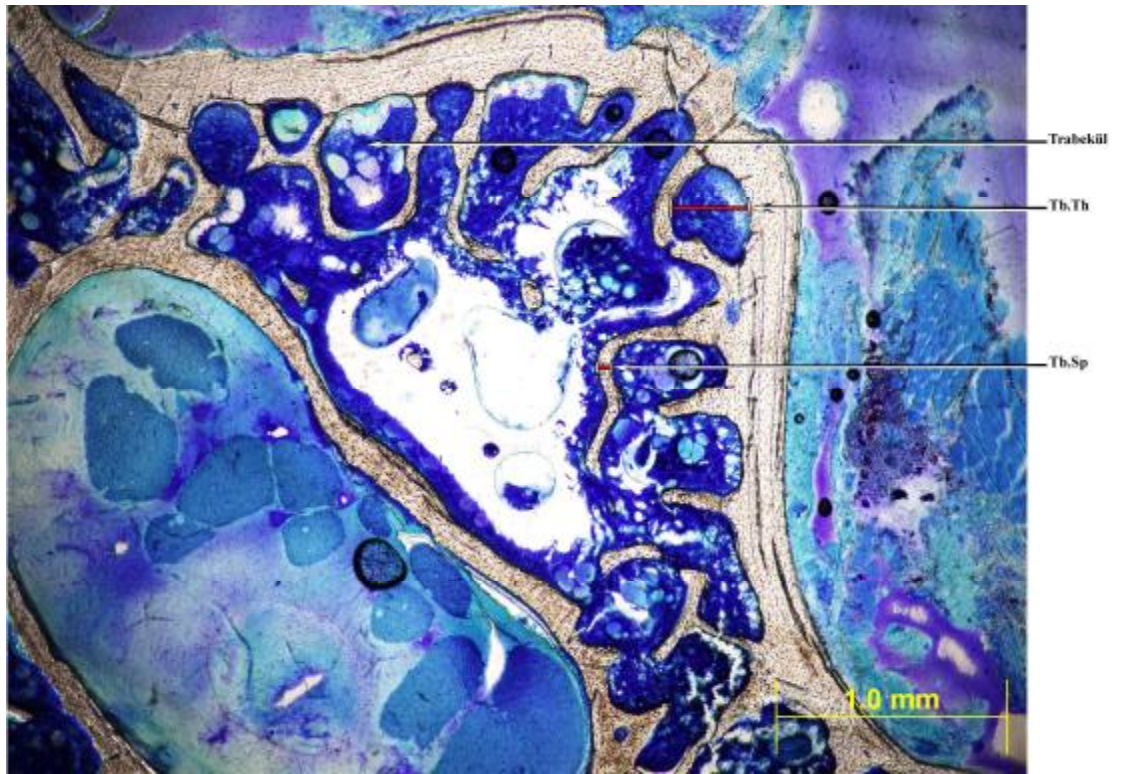


1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
Şekil 4.26. Femur'un trabeküller arası mesafesi (Tb.Sp).

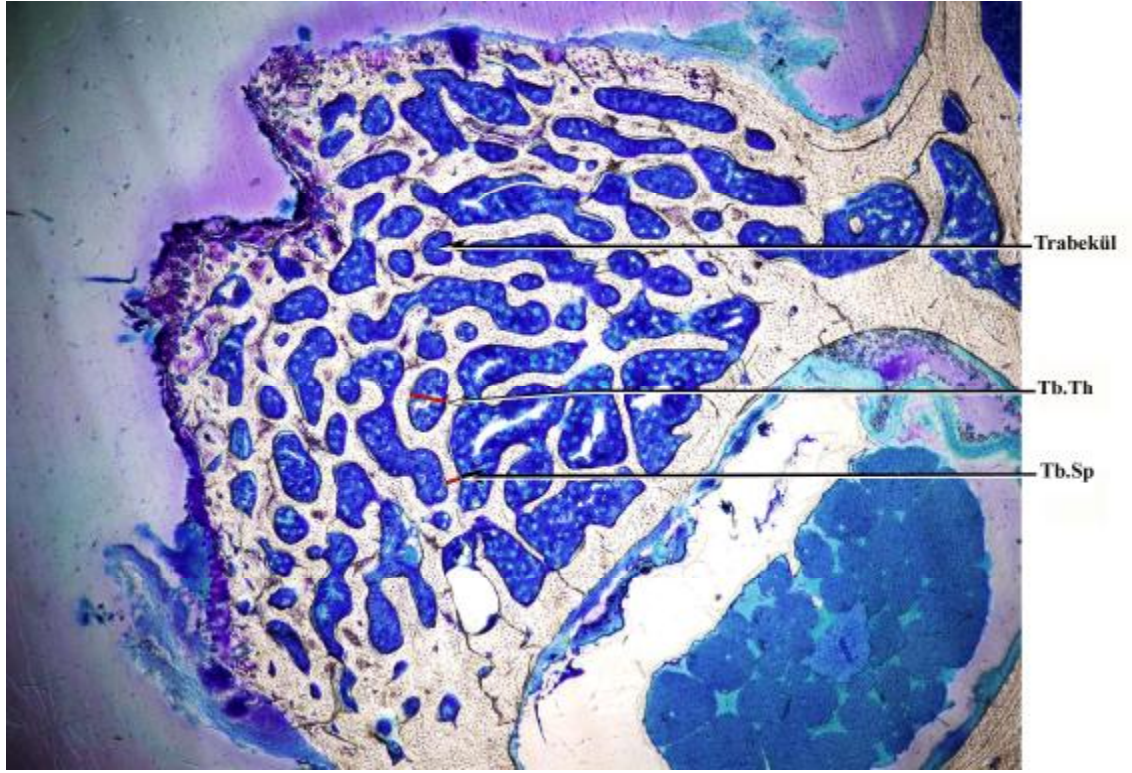
Dekalsifiye edilmemiş vertebra kesitlerinin incelenmesi sonucunda elde edilen histomorfometrik sonuçlar ayrıntılı olarak değerlendirildi; Sham grubuna ait vertebra kesitlerinde trabeküler yapının normal olduğu gözlemlendi (Şekil 4.27). Ovx-SF grubu sıçanlarda trabeküler yapının bozulduğu, trabeküler sayısının ve kalınlığının azaldığı, trabeküller arası mesafenin ise arttığı saptandı (Şekil 4.28). Alendronat sodyum uygulaması yapılan Ovx-A grubu sıçanlardan alınan vertebra kesitlerinde, trabekül sayısında ve trabekül kalınlığında artma, trabeküller arası mesafede azalma gözlemlendi (Şekil 4.29). Vertebralarda yapılan histomorfometrik ölçümlerin (Kemik hacim / toplam doku hacim oranı (BV/TV), mineralize hacim/kemik hacim oranı (Md.v/BV), mineralize hacim / toplam doku hacim oranı (Md.V/TV), osteoid hacim / kemik hacim oranı (OV/BV), osteoid hacim / toplam doku hacim oranı (OV/TV), kemik yüzey / kemik hacim oranı (BS/BV), kemik yüzey / toplam doku hacim oranı (BS/TV), trabeküler kalınlık (Tb.Th), trabekül sayısı (Tb.N), trabeküller arası mesafe (Tb.Sp) minimum, maksimum ve medyan değerleri Çizelge 4.6'da gösterildi. Shm, Ovx-SF, Ovx-A gruplar ait vertebralarda, grup içi ve gruplar arası kemik histomorfometri sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ), (Şekil 4.30- Şekil 4.39).



Şekil 4.27. Shm grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş vertebra kesiti, Toluidine blue (x40).



Şekil 4.28. Ovx-SF grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş vertebra kesiti, Toluidine blue (x40).

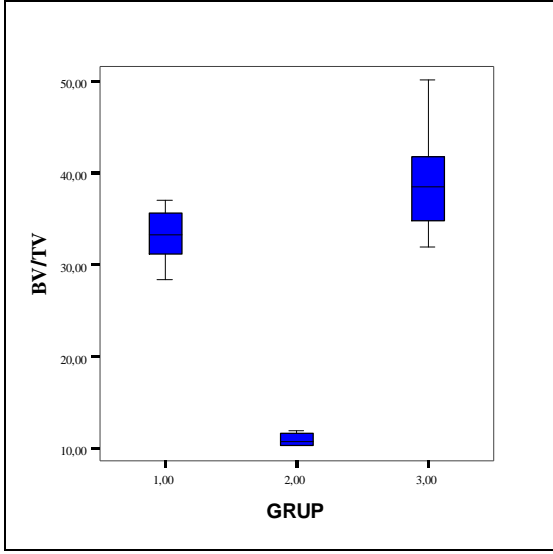


Şekil 4.29. Ovx-A grubu sıçanlarda dekalsifiye edilmemiş vertebra kesiti, Toluidine blue (x40).

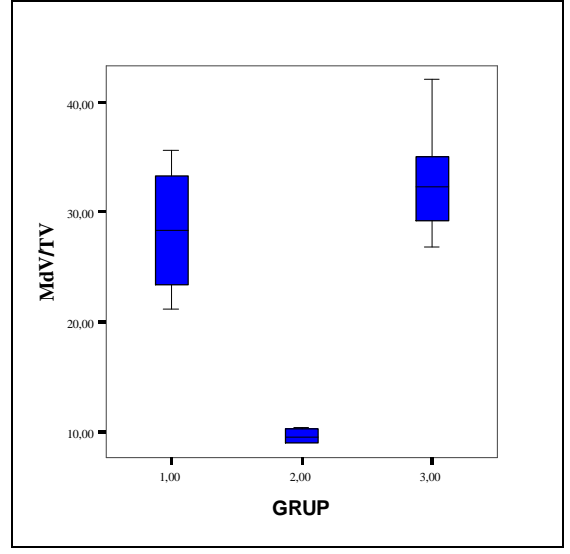
Çizelge 4.8. Vertebra'nın histomorfometrik analiz sonuçları.

Değişkenler	Shm Grubu (n=10)			Ovx-SF Grubu (n=10)			Ovx-A Grubu (n=10)		
	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.	Min.	Maks.	Med.
BV/TV	10,36	50,17	32,10	10,36	12,00	10,88*	31,96	50,17	38,52*
Md.V/BV	80,19	143,99	92,15	88,26	102,20	92,70*	91,74	143,99	110,58*
Md.V/TV	8,96	42,04	27,02	8,96	10,38	9,42*	26,78	42,04	32,28*
OV/BV	6,69	28,66	15,11	6,69	7,75	7,02*	18,26	28,66	22,01*
OV/TV	0,63	8,14	3,33	0,63	0,73	0,66*	5,19	8,14	6,25*
BS/BV	338,53	531,36	408,08	468,37	445,91	516,31*	303,46	200,43	378,62*
BS/TV	41,78	147,82	84,84	41,78	48,37	43,86*	94,18	147,82	113,73*
Tb.N	17,24	73,91	42,93	17,24	21,98	20,47*	47,09	73,91	56,76*
Tb.Th	3,95	12,13	7,76	4,54	5,54	4,86*	7,73	12,13	9,31*
Tb.Sp	100,10	470,10	150,83	406,79	471,02	427,30*	100,10	180,94	130,43*

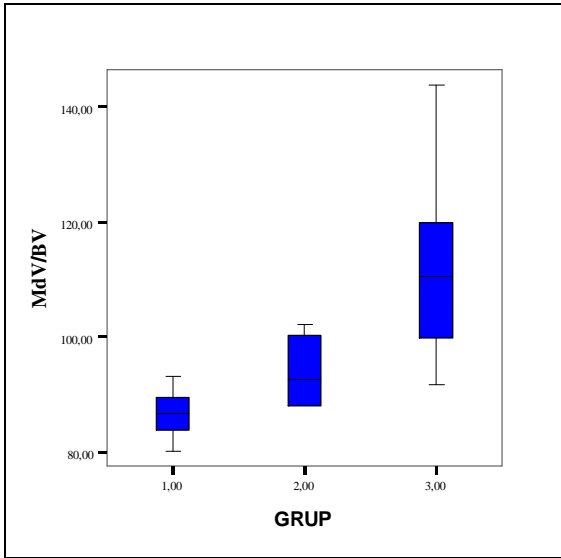
\*: p<0,05.



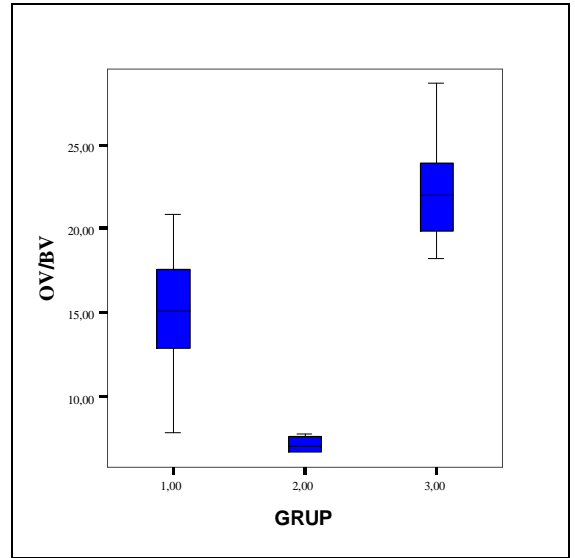
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.30. Vertebra'nın kemik hacmi/toplam doku hacim oranı (BV/TV).



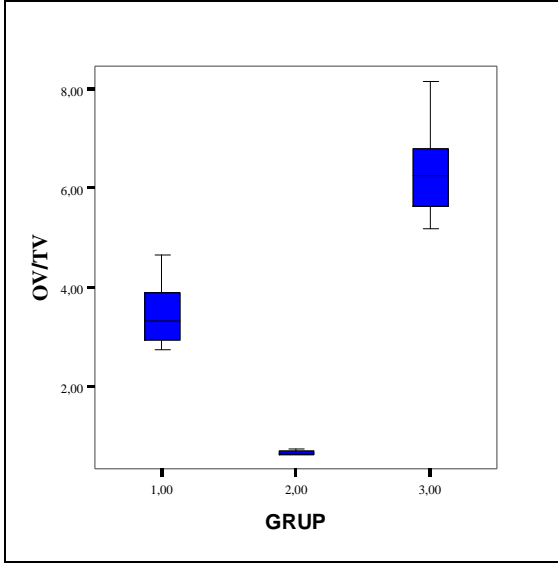
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.32. Vertebra'nın mineralize hacim/toplam doku hacim oranı (Md.V/TV).



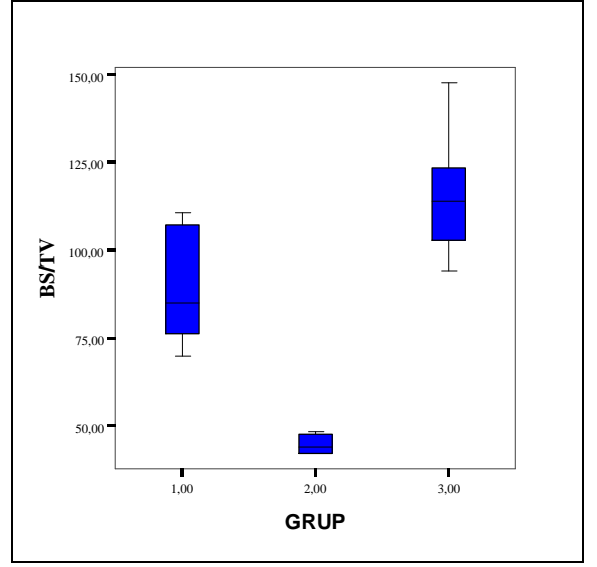
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.31. Vertebra'nın mineralize hacim/kemik hacim oranı (Md.V/BV).



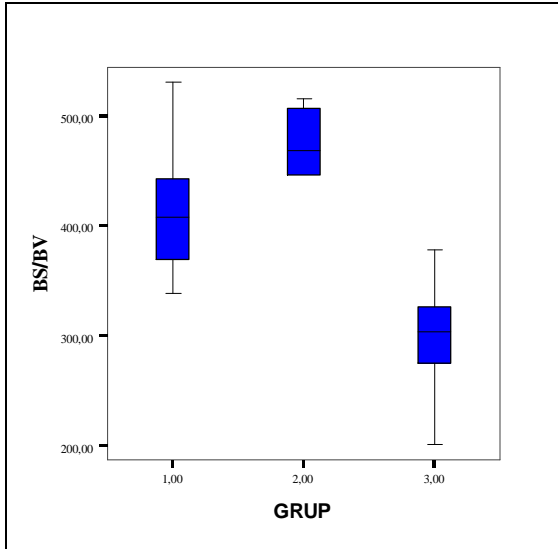
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.33. Vertebra'nın osteoid hacim /kemik hacim oranı (OV/BV).



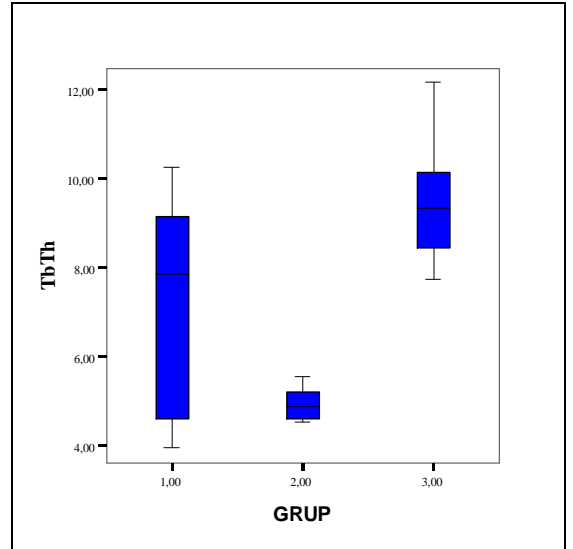
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.34. Vertebra'nın osteoid hacim/ toplam doku hacim oranı (OV/TV).



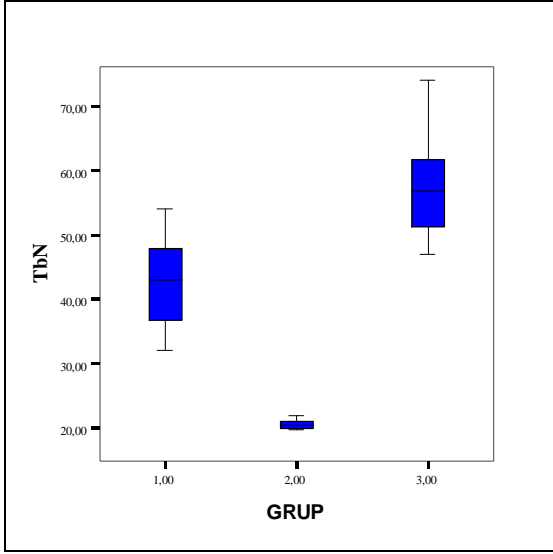
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.36. Vertebra'nın kemik yüzeyi/toplam doku hacim oranı (BS/TV).



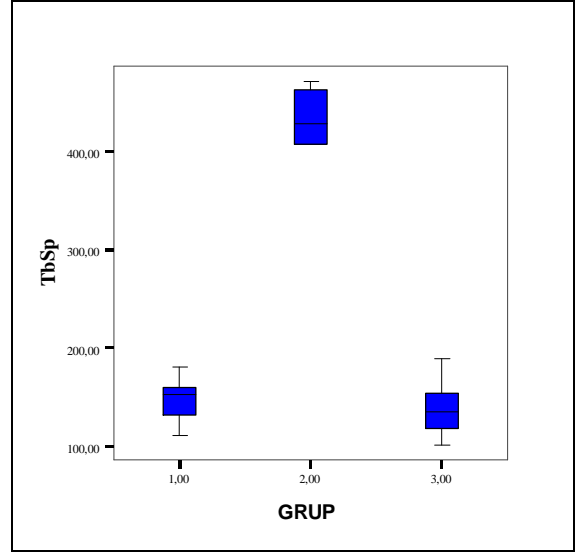
1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.35. Vertebra'nın kemik yüzeyi /kemik hacim oranı (BS/BV).



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.37. Vertebra'nın trabekül sayısı (Tb.N).



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.38. Vertebra'nın trabeküler kalınlığı (Tb.Th).



1,00: Shm, 2,00: Ovx-SF, 3,00: Ovx-A  
 Şekil 4.39. Vertebra'nın trabeküller arası mesafesi (Tb.Sp).

## 5. TARTIŞMA

İleri yaşlarda ve özellikle postmenopozal dönemde ortaya çıkan osteoporoz ve osteoporoza bağlı komplikasyonlar, hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Günümüzde yaşam süresinin uzaması ve tanı yöntemlerinin yaygın kullanımının etkisiyle osteoporozun insidansı önemli oranda artış göstermiştir. Bu artış sonucunda hastalığa olan ilgi artmış ve osteoporoz tanısı ve tedavisine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır<sup>63</sup>.

Overiektomi ile sıçanlarda geliştirilen osteoporoz, postmenapozal kadınlardakine benzer klinik bulgular doğurmaktadır. Overiektomize sıçanlarda gözlenen yüksek kemik yıkım hızı ve bunun sonucunda oluşan kemik kaybı, insanlardaki postmenapozal durumda uygulanan tedavi yöntemleri ile önlenmektedir. Bu benzerlikler sonucunda, insanlarda görülen osteoporozun önlenmesi ve geriletilebilmesi için ilaç değerlendirmeleri amacıyla yapılan çalışmalarda, overiektomize sıçan modeli altın standart olarak kullanılmaktadır<sup>64,65</sup>. Bu nedenle çalışmamızda; postmenapozal osteoporozun trabeküler kemik yapısı üzerine etkilerini değerlendirebilmek amacıyla osteoporotik bir sıçan modeli oluşturduk. Osteoporoz'un kemik üzerindeki etkisini azaltmak için bifosfonat grubu bir farmakolojik ajan olan alendronat sodyum kullandık. Alendronat sodyum'un olumlu etkisi; kan ve idrar biyokimyası, kemik morfometrisi, kemik dansitometrisi ve kemik histomorfometrisine ait tüm bulgularda gözlenirken bu konuda daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile de çok benzerlik göstermiştir.

Osteoporoz tanısında; kemik döngü hızını saptamak, primer ve sekonder osteoporoz ayırıcı tanısını yapmak, kırık riski yüksek olan hastaları belirlemek, tedavi tipini seçmek ve özellikle antirezorptif tedavi etkinliğini değerlendirmek amacıyla kemik döngüsünün biyokimyasal belirleyicilerinden yararlanılmaktadır. Bu belirleyiciler kemik yapım ve yıkımını sağlayan hücrelerin enzimatik aktivelerini, kemik yapan hücrelerin enzim olmayan ürünlerini, yapım ve yıkım sırasında serbestleşen kemik matriks komponentlerini spesifik olarak gösterirler. Ayrıca osteoporoz çalışmalarındaki biyokimyasal bulguların, kırık riski yönünden ve bireysel olarak hastalarda antirezorptif tedavinin etkinliğinin gösterilmesi açısından da kullanılabilmesi kabul edilmektedir<sup>65</sup>. Biyokimyasal belirteçlerin en önemlilerinden

olan osteokalsin, kalsiyum iyonunu kemik matriksine bağlayan bir proteindir<sup>63,66</sup>. Gelişen kemikte mevcut olan ve kemik oluşumuna katkıda bulunan osteokalsin, kemiğin yapılanmasından sorumlu olan osteoblastlarda sentez edilir ve % 10 ile % 30 kadarı da dolaşıma salınır<sup>66</sup>. Postmenapozal osteoporozda, serum osteokalsin düzeyinde artış görülür<sup>63,66,67</sup>. Da Paz, Fox, Yongping ve çalışma arkadaşları, overiektomize sıçanlarda yaptıkları çalışmalarda serum osteokalsin düzeyinde artış olduğunu saptamışlardır<sup>68,69,70</sup>. Overiektomi sonrasında gözlenen yüksek osteokalsin seviyelerinin kemik döngüsünü artırdığı ancak bu etkinin alendronat sodyum tedavisi ile baskılandığı tespit edilmiştir<sup>68,71</sup>. Çalışmamızda, Ovx-SF grubu sıçanlarda (med:18,60 mg/L), Shm grubuna (med:15,90 mg/L) göre plazma osteokalsin değerinde artış gözlenirken alendronat sodyum tedavisi uygulanan Ovx-A grubu sıçanlarda (med:0,90 mg/L) ise Ovx-SF grubuna göre osteokalsin değerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır (Çizelge 4.1). Ovx-A grubunda, alendronat sodyum tedavisi ile baskıladığımız osteokalsinin, Shm grubundaki değerlerinin de altına çekilmesi, kemiğin yeniden yapılanmasının önemli bir oranda baskılandığı sonucunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, daha önce çalışma yapan araştırmacıların çalışmalarıyla uyumluluk göstermektedir<sup>68,69,70,71,72,73,74</sup>.

Plazma kalsiyum değeri, Ovx-SF grubu sıçanlarda ( med:7,10mg/dl) Shm grubuna (med:9,40mg/dl) göre azalmışken, Ovx-A grubu (med:9,40mg/dl) sıçanlardaki plazma kalsiyum değeri Ovx-SF grubuna göre artmıştır (Çizelge 4.1.). Azuma ve arkadaşlarının normal sıçanlarda yaptığı çalışmada, plazma kalsiyum seviyelerinin tek doz alendronat uygulanmasından 2-3 gün sonra düşüş gösterdiği ancak 4. günden sonra tekrar normal değerine döndüğü bildirilmiştir. Ayrıca bu bulguların, alendronat sodyum uygulanmasına karşı antihiperkalsemik cevabın kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu ile ilgili olduğu gösterilmiştir<sup>75</sup>. Iwamoto ve arkadaşlarının overiektomize sıçanlarda yaptığı çalışmada, serum osteokalsin ve idrar deoksipiridinolin seviyelerinin arttığı, serum kalsiyum seviyelerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca alendronat tedavisi ile idrar deoksipiridinolin seviyesinde artışın önlendiği de gösterilmiştir<sup>73</sup>.

İdrarda kalsiyum atılımının değerlendirilmesi, 24 saatlik idrarın toplanması ile yapılmaktadır. Ayrıca spot idrarda kalsiyum /kreatinin oranı da kullanılmaktadır. Primer osteoporozda idrar kalsiyum değerleri genellikle normal sınırlardadır. Ancak immobilizasyon, hipertiroidi, hiperparatiroidi ve kortikosteroid tedavisi uygulanan

sekonder osteoporozda değerler değişmektedir. Ayrıca kemik rezorbsiyonunda artış olduğunda 24 saatlik idrarda kalsiyum atılımı normal, açlık idrarında ise kalsiyum atılımı yüksektir. Her ikisinin de normalden yüksek olması ise ya masif artmış kemik yıkımının ya da barsak absorpsiyonundaki artışın sonucudur (Sarkoidoz, vitamin D toksisitesi, hiperkalsiürik nefrolitiazis gibi). Gerek 24 saatlik idrarda kalsiyum atılımı, gerekse sabah idrarında kalsiyum/kreatinin oranlarının saptanması kemik yıkılımının artışında kullanılan yararlı ve ucuz yöntemler olmasına karşın yeterince duyarlı değillerdir. Shiraishi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, idrar kalsiyum/kreatinin oranı overiektomize grupta sham grubuna göre azalmıştır<sup>76</sup>. Kalsiyum ve kreatinin değerlerini 24 saatlik idrarda değerlendirdiğimiz çalışmamızda, idrar kreatinin değeri Ovx-SF grubu sıçanlarda Shm grubuna göre artış gösterirken, Ovx-A grubu sıçanlarda Ovx-SF grubuna göre azalma göstermiştir (Çizelge 4.2). Giannini ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, hiperkalsiürinin postmenapozal kemik kaybının en yaygın özelliği olduğuna ve hastaların %50'sinde osteoporoz geliştiiği sonucuna varılmıştır<sup>77</sup>. Azuma ve arkadaşları değişik dozlarda bifosfonat uygulamaları ile idrar kalsiyumunun azaldığını ancak bu azalmanın doza bağımlı olmadığını tespit etmişlerdir<sup>75</sup>. Çalışmamızdaki Ovx-A grubuna ait idrar kalsiyum değerlerindeki azalma diğer araştırmacıların bulguları ile uyumluluk göstermektedir.

Osteoporozun en önemli komplikasyonu olan kemik mineral yoğunluğundaki azalma vertebra ve kalça kırıklarının ortaya çıkmasına neden olur<sup>78</sup>. Bu nedenle kemik mineral yoğunluğunu belirlemede radyodansitometrik bir yöntem kullanılmaktadır. Kolay ulaşılabilen ve pahalı olmayan radyodansitometrik yöntem, standardizasyon ve bilgisayar destekli ölçümler sayesinde yüksek duyarlılıkta kullanılabilir. Ayrıca radyodansitometrik yöntem ile diğer dansitometrik yöntemler arasında yüksek korelasyon olduğuna için pek çok çalışmada bu yöntem kullanılmıştır<sup>68,79,80,81</sup>. Overiektomi sonrasında 8. haftada tibia da belirgin trabeküler kemik kaybı olduğuna dansitometrik yöntem kullanarak ortaya konulabilmiştir. Bu değişikliklerin birkaç gün ile birkaç hafta arasında ortaya çıktığı saptanmıştır<sup>80,81</sup>. Da Paz ve arkadaşları, overiektomi yapılan sıçan grubunun femurlarında ileri düzeyde kemik mineral dansitometrisinin azaldığını, ancak alendronat sodyum tedavisi alan overiektomize sıçan grubunda ise arttığını saptamışlardır<sup>68</sup>. Azuma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, overiektomize edilmiş sıçan grubuna ait femurların trochanter, collum ve distal epifiz

bölgelerinde kemik mineral dansitometrik değerlerinin Sham grubuna göre bariz düşük olduğu bulunmuştur<sup>75</sup>. Fakat alendronat sodyumun overiektomize edilmiş sıçan grubuna, 1mg/kg doz uygulanması sonucunda distal epifizdeki kemik mineral dansitometri kaybının açık bir şekilde azaldığı ve 5mg/kg doz uygulanmasında ise corpus femoris orta bölgesi dansitometrisinin arttığı saptanmıştır<sup>75</sup>. Giavaresi ve arkadaşları, overiektomize edildikten sonra alendronat sodyum uygulanan sıçan grubunda, femoral proksimal epifizin kemik yoğunluğunda kontrol grubuna göre %15, overiektomize edilip ancak ilaç uygulaması yapılmayan gruba göre ise %27 artış olduğunu saptamışlardır<sup>82</sup>. Ayrıca alendronat sodyum uygulanan sıçanların corpus femoris orta bölgesinde kemik yoğunluğunun overiektomize gruba göre %18 iyileşme gösterdiğini rapor etmişlerdir<sup>82</sup>. Fusch ve arkadaşları, overiektomize sıçanlarda, alendronat sodyum uygulaması ile proksimal femur ve corpus femoris orta bölgesinin kemik mineral dansitometrisinde, ilaç uygulanmayan gruba göre bariz artış olduğunu saptamışlardır. Ayrıca alendronat sodyum uygulamasının, corpus femoris'te kortikal ve medüller alanı güçlendirerek kemik kalınlığını arttırdığını bulmuşlardır<sup>83</sup>. Çalışmamızda da, tibiada yapılan morfometrik ölçümler sonucunda; caput ve collum tibia çapı, Ovx-SF grubu sıçanlarda Shm grubuna göre azalma gösterirken, Ovx-A grubu sıçanlarda Ovx-SF grubuna göre artış göstermiştir (Çizelge 4.3). Tibialardan aldığımız dansitometrik ölçümlerde, Ovx-SF grubunun (66,90±4,32 mm/Al) kemik yoğunluğunda Shm grubuna (86,97±6,35 mm/Al) göre azalma gözlenirken, Ovx-A grubunun (114,24±6,24mm/Al) kemik yoğunluğunda ise Shm ve Ovx-SF gruba göre artış gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Bu sonuçlar hem alendronat sodyum'un olumlu etkisini ortaya koymuştur hem de daha önceki çalışmaların sonuçları ile uyum göstermiştir.

Sıçanlarda yapılan deneysel çalışmaların yanı sıra postmenapozal osteoporotik kadınlarda da Alendronat'ın kemik mineral dansitometrisi üzerine olan olumlu etkileri ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır; Hosking, Cranney, Chavassieux ve çalışma arkadaşları, alendronat kullanan postmenapozal kadınların lumbal vertebralarında ve femurundaki kemik mineral dansitometrisinin, kontrollere ve Risedronat kullanan gruba göre açık bir şekilde arttığını bulmuşlardır<sup>84,85,86</sup>. Boivin ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, alendronatın 3 yıldan fazla kullanıldığı vakalarda kalça ve omurgada kemik mineral yoğunluğu %5-10 arasında artış gösterirken vertebral ve nonvertebral osteoporotik kırık insidansları %50 azalmıştır<sup>87</sup>. Kemiğin gücünün belirlenmesinde

kemik hacmi, kemiğin mikromimari organizasyonu ve kemik matriksinin mineralizasyon derecesi önemlidir. Çünkü çalışmalarda, kansellöz kemik artışı olmadan kemik mineral dansitometrisindeki artışların ve kırılmalarda azalmaların kemik mineralizasyonundaki artışa bağlı olduğu tespit edilmiştir<sup>88,89,90</sup>. Vertebral kırıkları olan postmenapozal osteoporotik kadınlarda 36 ay alendronat sodyum tedavisiyle, vertebra ve diğer kırık sıklığının azaldığı bildirilmiştir<sup>91</sup>. Vertebral kırığı olmayan postmenapozal osteoporotik kadınlarda ise, 4 yıl alendronat sodyum kullanımı ile kemik mineral dansitometrisinde artış ve ilk vertebral kırığın oluşması yönünden risk azalması Cummings ve arkadaşlarının çalışmasında gösterilmiştir<sup>92</sup>. Bizim çalışmamızda, Ovx-SF grubu (med: 66,40 mm<sup>2</sup>/Al) vertebralar'ın kemik yoğunluğunda, Shm grubuna (med: 85,36 mm<sup>2</sup>/Al) göre azalma gözlenirken, Ovx-A grubunun (med: 100,56 mm<sup>2</sup>/Al) ise Shm ve Ovx-SF grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.5). Çalışmamızın sonuçları ve diğer araştırmacıların bulgularına göre; sıçanlarda yapılan çalışmalarda tibia ve femur gibi uzun kemiklerde ve vertebrada ovariektomi sonucunda görülen kemik mineral yoğunluğundaki kaybın, alendronat sodyum kullanımıyla azaldığı sonucuna varılmıştır<sup>79,80,81,82,83,84</sup>.

Alendronat sodyum ile yapılan deneysel çalışmalarda, Fuchsh, Li, Nakamura ve çalışma arkadaşları, L4 ve L5 vertebralarda kemik mineral yoğunluğunun arttığını ve bu artışın ilacın kesilmesinden sonra bile sürdüğünü bildirmişlerdir<sup>93,94,95</sup>.

Kemiklerin kırılma dayanıklılığındaki büyüklük, kortikal ve trabeküler kemik dayanıklılığının bir göstergesidir. Kemik dayanıklılığında kemiğin mekanik davranışını incelemek için üç-nokta eğme testi kullanılır. Üç-nokta eğme testi, kırık hattı üzerinde biriken stres konsantrasyonunu ölçme avantajına sahiptir. Kemik kırığı oluşumunun temel nedeni mekanik dayanıklılığın azalması olduğu için biyomekanik değerlendirme, kemiğin kuvvete dayanımındaki değişikliği kanıtlamada en önemli değerlendirme metodudur. Fuchs ve arkadaşlarının ovariektomize sıçanlarda yaptığı bir çalışmada; alendronat sodyum'un kemik kuvveti üzerinde arttırıcı etkileri olduğu tespit edilmiştir<sup>84</sup>. Fuchs ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise; alendronat sodyum'un corpus femorisin periostunun çapının artışında etkili olduğu, kemik dokunun sertliğinin sağlanmasında da olumlu etkileri olduğu, collum femoris'te güç artışına neden olduğu ancak sertlik artışına neden olmadığı ve L4 vertebranın çapraz kesitsel alanında olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir<sup>19,93</sup>. Azuma ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise;

üç nokta eğme testinde alendronat sodyum'un kırılma gücüne etkisi olmadığını, ancak collum femoris'in maksimum yüklenmesinde her dozda artış sağladığı bulunmuştur. Ayrıca alendronat sodyum'un collum femoris'teki kemik yapıda sertliği arttırdığı saptanmıştır<sup>75</sup>. Slivinski ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, overiektomize sıçanlarda femurun mekanik özellikleri üzerinde alendronat sodyum ve retinolün etkileri araştırılmış maksimum yüklenme, kırılma kuvveti gibi değerlerin Alendronat uygulanan sıçan grubunda, sadece overiektomize edilip ilaç uygulaması yapılmamış kontrol sıçan gruplarına nazaran açık olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir<sup>96</sup>. Çalışmamızda yaptığımız biyomekanik test sonuçlarına göre; Tibia kırılma kuvveti, maksimum uygulanan kuvvet, alttan ve üstten uygulanan kuvvet, Ovx-SF grubu sıçanlarda Shm grubuna göre azalma gösterirken, Ovx-A grubu sıçanlarda Ovx-SF grubuna göre artış göstermiştir. Çalışmamızda tespit ettiğimiz yüklenme kuvveti, maksimum uygulanan kuvvet, alttan ve üstten uygulanan kuvvet değerlerinde Ovx-SF grubundaki bariz azalmaların tamamı diğer araştırma sonuçları ile de uyumlu olarak osteoporozdaki azalmış kemik mineral yoğunluğunu göstermektedir. Osteoporoz'un kemik üzerinde görülen bu olumsuz etkileri hem bizim hem de diğer araştırmacıların çalışmalarında olduğu gibi alendronat sodyum uygulamaları ile giderilebilmektedir.

Histomorfometri, kortikal ve trabeküler kemikte osteoblastik aktiviteyi dinamik bir şekilde saptayan, kemiğin mikromimarisini, kemikteki lamellar sistemi ve mineralizasyon defektlerini tam olarak ortaya koyan bir yöntemdir. Ayrıca histomorfometrik yöntemler, kemik hastalıkları ile ilgili çalışmalarda uzun yıllardır kullanılmaktadır; Kippo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, osteoporotik sıçanlarda oral kullanılan Klodronat'ın collum femoris ve lumbal vertebrada osteopeniyi önlediği ve trabeküler konnektiviteyi koruduğu bildirilmiştir<sup>97</sup>. Da Paz ve arkadaşları, overiektomize edilen sıçanların tedavisinde, 17  $\beta$  estradiol ve alendronat sodyum kullanarak kemik döngüsünün azaldığını tespit etmişlerdir. Bu etkiyi Alendronat sodyum uygulanan sıçan grubunda daha yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar, kemik doku ve materyal özelliklerindeki değişimlerin, direkt olarak kemik döngüsündeki değişimlerden kaynaklanıyor olabileceği görüşünü desteklemektedir<sup>68</sup>. Da Paz ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın histomorfometrik bulguları incelendiğinde, overiektomize edilmiş sıçan grubunun distal femurunda kontrol grubuna göre BV/TV ve Tb.N'de azalma olduğu rapor edilmiştir. Bu azalmanın 17  $\beta$  Estradiol ve alendronat

sodyum uygulanması ile inhibe olduğu görülmüştür. BV/TV ve Tb.N, alendronat sodyum alan overiektomize sıçan grubunda, 17 $\beta$ -estradiol alan overiektomize sıçan grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur<sup>68</sup>. Iwamoto ve arkadaşları deneysel olarak osteoporoz geliştirilmiş sıçan grubunda, alendronat sodyum ve al fakalsidiol'ün tibia trabeküler yapısı üzerindeki etkilerini karşılaştırarak proksimal tibiannın metafizinde alendronat sodyum uygulanması ile BV/TV, Tb.Th ve TbN değerlerinin belirgin olarak yükselme gösterdiğini tespit etmişlerdir<sup>73</sup>. Azuma ve arkadaşları ise BV/TV'yi overiektomize edilen sıçan grubunda Sham grubuna nazaran düşük bulmuşlardır. Ayrıca alendronat sodyum'un BV/TV' deki overiektominin neden olduğu azalmayı inhibe ettiğini de saptamışlardır<sup>75</sup>. Mosekilde L ve arkadaşlarının çalışmasında, bifosfonat grubundan olan risedronat kullanımı ile osteoporotik sıçan tibialarında BV/TV ve kemik gücünde bariz bir artış olduğu bulunmuştur. Bu sonuca dayanarak, kemik gücünü arttıran mikro yapıdaki parametrelerde görülen artışın, dokunun üç boyutlu yapısına katkıda bulunduğunu söylemişlerdir<sup>98</sup>. Nishida ve arkadaşlarının overiektomize sıçanlara bifosfonat grubundan olan Etidronat uygulaması sonucunda, BV/TV'de %205, Tb.N'da %58, Tb.Th'da %26 oranında artma, Tb.Sp'de ise, %34 oranında azalma olduğunu göstermişlerdir<sup>99</sup>. Çalışmamızda femurdan yapılan histomorfometrik ölçümlerde, Ovx-SF grubu Shm grubu ile karşılaştırıldığında; trabeküler kalınlık ve trabekül sayısında azalma görülürken; trabeküller arası mesafenin arttığı saptanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda Ovx-SF grubu sıçanlarda trabeküler kemik yapısında azalma ve osteoporoz olduğu saptanmıştır. Alendronat uygulaması yaptığımız Ovx-A grubu osteoporotik sıçanlarda, trabeküler kemik yapısındaki artışla birlikte trabeküler kalınlığın, trabekül sayısının ve trabeküler hacmin arttığı gözlenmiştir. Alendronat'ın trabeküler kemik yapısı üzerine olan etkilerinin benzeri, Rico ve arkadaşlarının overiektomize sıçanlarda prometazin ile yaptığı çalışmada Tb.Sp artışının önlenmesi ile kemik rezorbsiyonunun azalarak kemik kaybının sınırlandığı şeklinde gösterilmiştir<sup>100</sup>.

Bu bulgular göz önüne alındığında alendronat sodyum'un overiektomize sıçanlarda trabeküler osteopeniyi inhibe ederek kemik kaybını engellediği ve aynı zamanda trabeküler kemiğin mikromimari yapısını koruduğu gözlenmiştir. Kemiğin trabeküler yapısı üzerindeki bu olumlu etki, alendronat sodyum'un güçlü antirezorbtif etkisi ile oluşmuştur.

Trabeküler kemiğin mekanik özelliklerini belirlemede, sadece kemiğin kütlesi değil, kemiğin ölçüsü, kemik mineralizasyonu ve trabeküler kemik yapısı da önemlidir. Pothuaud ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, lumbal vertebra'daki BV/TV oranının kemiğin mekanik özelliklerinin değerlendirilmesinde güçlü bir belirteç olduğu bildirmiştir<sup>101</sup>. Bizim çalışmamızda, vertebradan yaptığımız ölçümlerde, Ovx-SF grubu, Sham grubu ile karşılaştırıldığında; trabeküler kalınlığın, trabekül sayısının ve trabeküler hacmin azaldığı, trabeküller arası mesafenin ise arttığı saptanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda overiektomize sıçan grubu trabeküler kemik yapısında azalma ve osteoporoz olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Fox ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur<sup>69</sup>. Yao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, overiektomize sıçan grubu sonuçlarının Sham grubuna göre L5 vertebra kemik hacminde, trabeküler sayıda, trabeküler ve kortikal kemik kalınlığında azalma olduğu bildirilmiştir<sup>102</sup>. Yao'nun başka çalışmasında, değişik dozlarda simvastatin uygulanması yapılan overiektomize sıçanlar, ilaç uygulaması yapılmayan grupla ve Sham grubu ile karşılaştırıldığında vertebral kemik hacminde ve kemiğin mimari yapısında önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır<sup>103</sup>. Buna karşın, Yao ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise, overiektomize sıçanlara alendronat uygulaması sonucunda vertebra kemik hacminde, trabeküler ve kortikal kalınlıkta overiektomize gruba göre önemli artış olduğunu tespit etmişlerdir<sup>104</sup>. Yao ve arkadaşlarının bulgularına benzer olarak, bizim çalışmamızda da alendronat sodyum uygulaması yaptığımız Ovx-A grubu osteoporotik sıçanlarda, trabeküler kemik yapısındaki artışla birlikte trabeküler kalınlıkta, trabekül sayısında ve trabeküler hacimde artma, trabeküller arası mesafede ise azalma gözlenmiştir. Osteoporotik sıçanlarda yapılan histomorfometrik çalışmaların yanı sıra postmenapozal osteoporotik kadınlarda da benzer klinik çalışmalar bulunmaktadır. Chavassieux ve arkadaşları, postmenapozal osteoporotik kadınlarda alendronat'ın kemik histomorfometrisi üzerine olan etkisini incelediklerinde, alendronat'ın kemik duvar kalınlığını arttırdığını ve 2 yıldan sonra erozyon derinliğini azalttığını bildirmişlerdir<sup>86</sup>. Bizim ve daha önceki çalışmaların birbiriyle uyumlu sonuçlarına göre; overiektomize sıçanlara uygulanan alendronat sodyum veya diğer bifosfonat grubu farmakolojik ajanlar, hem trabeküler yapıdaki iyileştirmelerde çok etkili olmuş hem de biyomekanik gücün korunmasında yardımcı olmuşlardır.

Sonuç olarak bu çalışmada, overiektomize sıçanlarda alendronat sodyum'un, femur ve lumbal vertebrada osteopeniyi önlediği, trabeküler yapıyı koruduğu, biyomekanik olarak kemiği güçlendirdiği ve biyokimyasal belirteçlerin de gösterdiği üzere kemik döngüsünde artma olmasını önlediği gösterilmiştir. Günümüzde, her ne kadar kemik döngüsünün ciddi şekilde baskılanması sonucu alendronat sodyum tedavisinin potansiyel bir komplikasyonu olarak 3 ay-2 yıl gibi bir süre zarfında iyileşmeyen non-spinal kırık vakaları rapor edilmiş olsa da<sup>105</sup> bisfosfonatlar ve özellikle alendronat sodyum osteoporozdan korunmada tercih edilecek ilaç grubu içerisinde yer almaktadır.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Postmenapozal kemik kaybının çalışabilmesi için seçtiğimiz ve geliştirdiğimiz osteoporotik sıçan modeli ile çalışmamızda çok önemli sonuçlar elde ettik.
2. Plazma biyokimya sonuçlarına göre, osteoporoz oluşturduğumuz Ovx-SF grubu sıçanlarda osteokalsin ve kreatinin değerlerinde artış, kalsiyum değerinde ise azalma gözlemlendi. Alendronat tedavisi uyguladığımız Ovx-A grubunda ise osteokalsin, kreatinin değerlerinde azalma görülürken kan kalsiyum değerinde artma görülmüştür.
3. İdrar biyokimya sonuçlarına göre, osteoporoz oluşturduğumuz Ovx-SF grubu sıçanlarda kreatinin ve kalsiyum değerlerinde artış görülürken, Ovx-A grubunda azalma saptanmıştır.
4. Tibia ve vertebraya yapılan dansitometrik ölçümlere göre, Ovx-SF grubunda, Shm grubuna göre kemik mineral dansitometrisinde azalma görülürken, Ovx-A grubunda ise, Shm ve Ovx-SF grubuna göre artış olmuştur.
5. Tibia'ya yapılan biyomekanik ölçümler sonucunda; kırılma kuvveti, maksimum uygulanan kuvvet, alttan ve üstten uygulanan kuvvet, Ovx-SF grubu sıçanlarda Shm grubuna göre önemli azalma gösterirken, Ovx-A grubu sıçanlarda Ovx-SF grubuna göre artış tespit edilmiştir.
6. Histomorfometrik değerlendirmelerde dekalsifiye edilmemiş femur ve vertebra kesitlerinde Shm grubunda trabeküler yapının normal olduğu gözlemlendi. Osteoporoz geliştirilen Ovx-SF grubu sıçanlarda trabeküler yapının bozulduğu, trabeküler sayının ve kalınlığının azaldığı, trabeküller arası mesafenin ise arttığı gözlemlendi. Alendronat sodyum uygulaması yapılan Ovx-A grubu sıçanlarda ise Ovx-SF grubunun aksine trabekül sayısında ve trabekül kalınlığında artma, trabeküller arası mesafede azalma gözlemlenmiştir.
7. Femur'dan yapılan histomorfometrik ölçümlerde, Ovx-SF grubunda BV/TV, Md.V/TV, OV/BV, OV/TV, BS/TV, Tb.N ve Tb.Th değerlerinde azalma, Md.V/BV, BS/BV ve Tb.Sp değerlerinde artış saptanmıştır. Alendronat uygulaması yaptığımız Ovx-A grubu osteoporotik sıçanlarda, trabeküler kemik yapısındaki artışla birlikte BV/TV, Md.V/BV, Md.V/TV, OV/BV, OV/TV,

BS/TV ve Tb.Th değerlerinde artış, BS/BV, Tb.N ve Tb.Sp değerlerinde ise azalma gözlenmiştir.

8. Vertebra histomorfometrik ölçümlerinde ise, Ovx-SF grubu sıçanlarda, BV/TV, Md.V/TV, OV/BV, OV/TV, BS/TV, Tb.N ve Tb.Th değerleri azalırken; Md.V/BV, BS/BV ve Tb.Sp değerlerinin arttığı saptanmıştır. Ovx-A grubu osteoporotik sıçanlarda, trabeküler kemik yapısındaki artışla birlikte BV/TV, Md.V/BV, Md.V/TV, OV/BV, OV/TV, BS/TV, Tb.N ve Tb.Th değerlerinde artış, BS/BV ve Tb.Sp değerlerinde ise azalma gözlenmiştir.
9. Postmenapozal osteoporoz tedavisi için, bifosfonatlar en etkili antirezorptif ajanlardır. Alendronat sodyum içerdiği yan zincir olan amino grubu nedeniyle diğer bifosfonatlara göre daha güçlü ve selektiftir. Bu çalışmanın sonuçları da Alendronat sodyum'un osteoporoz tedavisinde etkin bir ajan olduğunu desteklemektedir.
10. Osteoporoz görülme sıklığını en aza indirmek amacıyla; toplumun eğitilmesi, koruyucu hekimlik yaklaşımları, uygun tedavi ve yakın klinik izlem temel hedefler olmalıdır. Bu sayede oluşabilecek kırıkların önlenmesi, kırık ve iskelet deformitelerine bağlı semptom ve bulguların iyileştirilmesi sonuçta da yaşam kalitesinin artırılması mümkün olabilecektir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Scientific Advisory Board, Osteoporosis Society of Canada.** *Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis.* CMAJ **1996**; 155:1113-33.
2. **R Faustino, Perez-Lopez:** Postmenopausal osteoporosis and alendronate. *Maturitas* 48 (2004) 179-192.
3. **Marc D. Grynpas, and Kathleen Lundon :** Bone Quality in Animal Models of Osteoporosis. *Drug Development Research* 49: (2000) 146-158.
4. **T.R. Harrison-**Harrison İç hastalıkları Prensipleri Cilt 2- 15. Baskı Türkçe Çeviri, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **2004: 2226-2227.**
5. **H.Libouban, M.F. Moreau, E. Legrand, M.Audran et al.:** Comparison of Histomorphometric Descriptors of Bone Architecture with Dual-Energy X-ray Absorptiometry for Assessing Bone Loss in the Orchidectomized Rat. *Osteoporos int* (2002) 13: 422-428.
6. **J.J. Stepan, F.Alenfeld, G. Boivin, J.H.M. Feyen et al.:** Mechanism of Action of Antiresorptive Therapies of Postmenopausal Osteoporosis. *Endocrine Regulations* Vol.37 227-240, **2003.**
7. **F Dere.** *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı . 5.baskı,* Adana: Nobel Kitabevi, **1999 11-17.**
8. **L Carlos Jungueira, J Corneira, RO Kelley:**Basic Histology. A Lange medical Eighth edition. Appleton & Lange U.S.A.**1995, 132-151.**
9. **LJ Melton,** 3rd. Who has osteoporosis? A conflict between clinical and public health perspectives. *J Bone Miner Res* 15:2309-2314, **2000.**
10. **NIH consensus development panel on osteoporosis prevention:** Osteoporosis prevention, diagnosis and therapy. *JAMA* 285:785-795, **2001.**
11. **Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis.** Geneva, WHO, **1998.**
12. **DW Dempster, R Lindsay.** Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet* 341:797-801, **1993.**
13. **TV Nguyen, J Blangero, JA Eisman.** Genetic epidemiological approaches to the search for osteoporosis genes. *J Bone Miner Res* 15:392-401, **2000.**

14. **Salmen T, Heikkinen AM, Mahonen A, Kroger H, Komulainen M, Saarikoski S, Honkanen R, Maenpa PH.** Early postmenopausal bone loss is associated with Pvu II estrogen receptor gene polymorphism in Finnish women: effect of hormone replacement therapy. *J Bone Miner Res* 15:315-321, **2000**.
15. **Holick MF.** Vitamin D and bone health. *J Nutr* 126:1159S-1164S, **1996**.
16. **Semba RD, Garrett E, Johnson BA, Guralnik JM, Fried LP.** Vitamin D deficiency among older women with and without disability. *Am J Clin Nutr* 72:1529-1534, **2000**.
17. **Longcope C, Johnston CC, Jr.** Androgen and estrogen dynamics in pre- and postmenopausal women: a comparison between smokers and nonsmokers. *J Clin Endocrinol Metab* 67:379-383, **1988**.
18. **Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Jr.** Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest* 81:1804-1809, **1988**.
19. **Wright NM, Papadea N, Willi S, Veldhuis JD, Pandey JP, Key LL, Bell NH.** Demonstration of a lack of racial difference secretion of growth hormone despite a racial difference in bone mineral density in premenopausal women: a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1023-1026, **1996**.
20. **Rodan G.** Mechanical loading, estrogen deficiency and the coupling of bone formation and bone resorption. *J Bone Miner Res* 6: 527-530, **1991**.
21. **Parfitt AM, Villanueva AR, Foldes J, Rao DS.** Relations between histologic indices of bone formation: implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 10:466-473, **1995**.
22. **Bainbridge KE, Sowers MF, Crutchfield M, Lin X, Jannausch M, Harlow SD.** Natural history of bone loss over 6 years among premenopausal and early postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 156:410-417, **2002**.
23. **Bainbridge KE, Sowers M, Lin X, Harlow SD.** Risk factors for low bone mineral density and the 6-year rate of bone loss among premenopausal and perimenopausal women. *Osteoporos Int*, **2004**.
24. **Khosla S, Atkinson EJ, Melton LJ III, Riggs BL.** Effects of age and estrogen status on serum parathyroid hormone levels and biochemical markers of bone turnover in women: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab* 82:1522-1527, **1997**.
25. **Cauley JA SL, Lucas FL.** Postmenopausal endogenous and exogenous hormones, degree of obesity, thiazide diuretics and risk of osteoporosis. *Osteoporosis*. Marcus R, Feldman O, Kelsey S. San Diego. Academic Press Limited. **1996**: 551-6.
26. **Finkelstein JS, Neer RM, Biller BM, Crawford JD, Klibanski A.** Osteopenia in men with a history of delayed puberty. *N Engl J Med* 326:600-604, **1992**.

27. **Bilezikian JP, Morishima A, Bell J, Grumbach M.** Increased bone mass as a result of estrogen therapy in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med* 339:599-603, **1998**.
28. **Kanis J.** *Osteoporosis*, London Blackwell Healthcare Communications Ltd, **1997**.
29. **Cummings SR, Newitt MC, Browner WS, et al.** Risk factors for hip fracture in women. *N Engl J Med* 332:767-773, **1995**.
30. **Compston J.** Risk factors for osteoporosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 36:223-224, **1992**.
31. **Tüzün F.** Osteoporozun tanımı, sınıflaması ve epidemiyolojisi. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Osteoporoz Sempozyumu*. İstanbul, **1999**, p. 9-15.
32. **Göksoy T.** Osteoporozda tanı ve tedavi. *Aktüel Tıp Dergisi*. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi. **2000**. S: **13-32**.
33. **Yuehuei H. An, Kylie L. Martin.** *Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage*. **2003**. S: **342-343**.
34. **Parfitt AM, Villanueva AR, Foldes J, Rao DS.** Relations between histologic indices of bone formation: implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis. *J Bone Miner Res* **1995**. 10: **466-473**.
35. **DSÖ Türkiye İrtibat Ofisi - WHO Turkey Liaison Office. İnancı F G-KY, Öncel S, Eryavuz M, Peker Ö.** A Multicenter, Case- control Study of Risk Factors for Low Bone Mass Among the Residents of Urban Area in Turkey, **1999**.
36. **Johnell O, Gullberg B, Kanis JA, Allander E, Elffors L, Dequeker J, Dilsen G, Gennari C, Lopes Vaz A, Lyritis G.** Risk factors for hip fracture in European women: the MEDOS Study. Mediterranean Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res* 10:1802-1815, **1995**
37. **Cooper C, Melton LJ.** Epidemiology of osteoporosis. *Trends Endocrinol Metab* 3:224, **1992**
38. **Kanis JA, Johnell O, Oden O, Laet CD, Johnsson B, Dawson A.** The epidemiology of hip fracture in Europe. The MEDOS Study. *Revirsol Clin Esp* 188:12-14, **1991**.
39. **Dolan P, Torgerson DJ.** The cost of treating osteoporotic fractures in the United Kingdom female population. *Osteoporosis Int* 8:**611-617**, **1998**.
40. **Ribot C, Pouilles JM, Bonneu M, Tremollieres F.** Assesment of the risk of postmenopausal osteoporosis using clinical risk factors. *Clin Endocrinol (Oxf)* 36:225-228, **1992**.

41. **Kanis JA, McCloskey EV.** Evaluation of the risk of hip fracture. *Bone* 18:127-132, **1996**.
42. **Kanis JA, De Imas P, Burkhardt P, et al.** Guidelines for diagnosis and management osteoporosis *Osteoporosis Int* **1997**; 7: **390-406**.
43. **Ortiz O, Russell M, Daley TL, Baumgartner RN, Waki M, Lichtman S, Wang J, Pierson RN Jr, SB H.** Differences in skeletal muscle and bone mineral mass between black and white females and their relevance to estimates of body composition. *Am J Clin Nutr* 55:8-13, **1992**.
44. **Johnston CCJ, Miller JZ, Slemenda CW, Reister TK, Hui S, Christian JC, Peacock M.** Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N Engl J Med* 327:82-87, **1992**.
45. **Salamone LM, Glynn N, Black D, Epstein RS, Palermo L, Meilahn E, Kuller LH, Cauley JA.** Body composition and bone mineral density in premenopausal and early perimenopausal women. *J Bone Miner Res* 10:1762-1768, **1995**.
46. **Wardlaw GM.** Putting body weight and osteoporosis into perspective. *Am J Clin Nutr* 63:433S-436S, mith SJ. Radial and vertebral bone density in white and black women: evidence for racial differences in premenopausal bone homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 69:762-770, **1989**.
47. **Tudor-Locke C, McColl RS.** Factors related to variation in premenopausal bone mineral status: a health promotion approach. *Osteoporosis Int* 11:1-24, **2000**.
48. **Salamone LM, Gregg E, Wolf RL, Epstein RS, Black D, Palermo L, Kuller LH, Cauley JA.** Are menopausal symptoms associated with bone mineral density and changes in bone mineral density in premenopausal women. *Maturitas* 29:179-187, **1998**.
49. **Micklesfield LK, Lambert EV, Fataar AB, Noakes TD, Myburgh KH.** Bone mineral density in mature, premenopausal ultramarathon runners. *Med Sci Sports Exerc* 27:688-696, **1995**.
50. **Lindsay R, Cosman F, Herrington BS, Himmelstein S.** Bone mass and body composition in normal women. *J Bone Miner Res* 7:55-62, **1992**.
51. **Ensrud KE, Ewing SK, Stone KL, Cauley JA, Bowman PJ, Cummings SR;** Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Intentional and unintentional weight loss increase bone loss and hip fracture risk in older women. *J Am Geriatr Soc* 51:1740-1747, **2003**.
52. **Rehman MTA, Hoyland JA, Denton J, Freemont AJ.** Histomorphometric classification of postmenopausal osteoporosis: implications for the management of osteoporosis. *J Clin Pathol* 48:229-235, **1995**.
53. **Raymakers JA, Hoekstra O, van Putten J, Kerckhoff H, Duursma SA.** Fracture prevalence and bone mineral mass in osteoporosis measured with computed

- tomography and dual energy photon absorptiometry. *Skeletal Radiol* 15:191-197, 1986.
54. **Kanis JA.** Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 359:1929-1936, 2002.
  55. **US Preventive Services Task Force.** Screening for osteoporosis in postmenopausal women: Recommendations and rationale. *Ann Int Med* 137:526-528, 2002.
  56. **Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Gluer CC, Grampp S, Harris ST, Jergas M, Lang T, Lu Y, Majumdar S, Mathur A, Takada M.** Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res* 11:707-730, 1996.
  57. **Brown JP, Josse RG.** 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *Cmaj* 167:S: 1-34, 2002.
  58. **Heaney R.** Calcium needs of the elderly to reduce fracture risk. *J Am Coll Nutr* 20:192S-197S, 2001.
  59. **Watts WB.** Bisphosphonates therapy for postmenopausal osteoporosis. *South Med* 1992;85 (Suppl):2-31.
  60. **Liberman UI, Hirsch LJ.** Esophagitis and alendronate. *N Engl J Med* 335:1069-1070, 1996.
  61. **Naylor G, Davies MH,** Esophageal stricture associated with alendronic acid. *The Lancet* 1996; 348:1030-1031.
  62. **Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut CH, 3rd, Brown J, Eriksen EF, Hoseney MS, Axelrod DW, Miller PD.** Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *Jama* 282:1344-1352, 1999.
  63. **Öztürk EA, Gök H, Yalçın P.** Postmenapozal osteoporozda Alendronat sodyum ve kalsitriol kombinasyon tedavisinin etkinliği. *Romatizma, Cilt:20, Sayı:3, 2005.*
  64. **Rehman MTA, Hoyland JA, Denton J, Freemont AJ.** Histomorphometric classification of postmenopausal osteoporosis: implications for the management of osteoporosis. *J Clin Pathol* 48: 229-235, 1995.
  65. **Kharode YP, Sharp MC, Bodine PV.** Utility of the ovariectomized rat as a model for human osteoporosis in drug discovery. *Methods Mol Biol.* 2008; 455: 111-24.
  66. **Eastell R, Hannon RA.** Biomarkers of bone health and osteoporosis risk. *Proc Nutr Soc.* 2008 May; 67(2): 157-162.

67. **Haspolat K, Söker M.** Kemiğe ait biyokimyasal değerler ve onkoloji. Dicle Tıp Dergisi (Journal of medical school) C:29 S:3 **2002**.
68. **L.H.B.C. da Paz, V.de Falco, N.C.** Teng et al. Effect of 17 $\beta$ -estradiol or alendronate on the bone densitometry, bone histomorphometry and bone metabolism of ovariectomized rats. Brazilian Journal of Medical and Biological Research **2001**. 34: **1015-1022**.
69. **J Fox, M.A.Miller, M.K.Newman, A.F.Metcalf, C.H.Turner, R.R.Recker, A.Y.Simith.** Daily Treatment of Aged Ovariectomized Rats with Human Parathyroid Hormone (1-84) for 12 Months Reverses Bone Loss and Enhances Trabecular and Cortical Bone Strength. Calcif Tissue Int **2006** 79: **262-272**.
70. **Yongping C, Satoshi M, Asuku M, Michael SW; Linda MA, Masahiko S, Tomoyuki A, Liping S, Satoshi K, Kensaku M, Hiromichi N.** Raloxifene, Estrogen and Alendronate Affect The Processes of Fracture Repair Differently in Ovariectomized Rats. JBMR December **2002**, Volume 17; 12: **2237**.
71. **M.Ito, Y. Azuma, H. Takagi, T. Kamimura et al.** Preventive effects of sequential treatment with alendronate and 1 $\alpha$  hydroxivitamin D3 on bone mass and strength in ovariectomized rats.
72. **Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B & Christiansen C. 1991.** Urinary excretion of pyridoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. Journal of Bone and Mineral Research . 6: **639-646**.
73. **Iwamoto J, Azuka S, Takeda T, Sato Y, Yamada H, Yeh JK.:** Comparative Effects of Alendronate and Alfacalcidol on Cancellous and Cortical Bone mass and Bone mechanical Properties in Ovariectomized Rats. Exp. Anim. 55 (4), 357-367: **2006**.
74. **Sebba AI, Broy S, Kohles JD, Weissman P.** Rapid suppression of bone resorption marker levels with ibandronate. Therapy in a bisphosphonate-Naive Population. J. Clin Densitom **2008**. May 2.
75. **Azuma Y, Chokki M, Ohta T, Kiyoki M.** Effects of Alendronate on Plasma Calcium Levels, Urinary Calcium Excretion, and Bone Resorption Markers in Normal Rats: Comparison with Elcatonin, Synthetic Eel Calcitonin. Endocrinology, **1996**. Vol. 137: **2586-92**.
76. **Shiraishi A, Higashi S, Masaki T, Saito M, Ito M, Ikeda S, Nakamura T.** A Comparison of Alfacalcidol and Menatetrenone for the Treatment of Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. Calcif Tissue Int **2002**. 71: **69-79**.
77. **Giannini S, Mobile M, Dalk Carbomare L, et all.** Hypercalciuria is a common and important finding in postmenopausal women with osteoporosis. Eur J Endocrinol **2003**: 149: **209-13**.

78. **Black DM, Cunnings SR, Karpf DB.** Randomized trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. *Lancet* **1996**;348:1535-1541.
79. **Gulam M., Thornton M.M., Hodsman A.B., Holdsworth D.W.,** Bone mineral measurement of phalanges: comparison of radiographic absorptiometry and area dual X-ray absorptiometry, *Radiology*, 216, **586-91: 2000.**
80. **Lane J.M., Russell L., Khan S.N.,** Osteoporosis, *Clin Orthop.*, 372,**139-50, 2000.**
81. **Pastoriau P., Chomel A., Bonnet J.,** Specific evaluation of localized bone mass and bone loss in the rat using dual-energy absorptiometry subregional analysis, *Osteoporosis International*, 5, **143-9, 1995.**
82. **Giaveresi G, Fini M, Gnudi S, Adlini NN, Rocca M, Carpi A, Giardii.** Comparison of calcitonin, alendronate and flurophosphate effects on ovariectomizedrat bone. *Biomed Pharmacother.* **2001** Sep;55(7):397-403.
83. **Fuchs RK, Allen MR, Condon KW, Reinwald S, Miller LM, McClenathan D, Keck B, Phipps RJ, Burr DB.** Strontium ranelate does not stimulate bone formation in ovariectomized rats. *Osteoporos Int.* **2008** Apr.3.
84. **Hosking D, Adami S, Felsenberg D, Andia J.C, Valimaki M, Benhamou L, Reginster J.Y, Yacik C, Feglin A.R. Petruschke R.A, Zaru L, Santora A.C.** Comparison of change in bone resorption and bone mineral density with once-weekly alendronate and daily risedronate: a randomised, placebo-controlled study. *Current Medical Research And Opinion* Vol.19, No.5, **2003, P1-P12.**
85. **Cranney A, Guyatt G, Griffith L, Wells G, Tugwell P, Rosen C.** IX: Summary of Meta-Analyses of Therapies for Postmenopausal Osteoporosis. *Endocrine Reviews* **2002**, 23(4): **570-578.**
86. **Chavassieux P.M, Arlot M.E, Reda C, Wei Ö, Yates A.J, Meunier P.J.** Histomorphometric assessment of the long-term effects of alendronate on bone quality and remodeling in patients with osteoporosis. *J Clin Invest* 100: **1997, 1475-1480.**
87. **Boivin G.Y, Chavassieux P.M, Santora A.C, Yates J, Meunier P.J.** Alendronate Increases Bone Strength by Increasing the Mean Degree of Mineralization of Bone Tissue in Osteoporotic Women. *Bone* 27(5): **2000, 687-694.**
88. **Ito M, Nishida A, Aoyagi K, Uetani M, Hayashi K, Kawase M.** Effects of risedronate on trabecular microstructure and biomechanical properties in ovariectomized rat tibia. *Osteoporos Int.* **2005** Sep; 16(9):**1042-8.**
89. **Roschger P, Rinnerthaler S, Yates J, Rodan G.A, Fratzi P, Klaushofer K.** Alendronate Increases Degree and Uniformity of Mineralization in Cancellous Bone and Decreases the Proximity in Cortical Bone of Osteoporotic Women. *Bone* 29(2): **185-191, Aug. 2001.**

90. **Bone H, Downs R.W, Tucci J.R, Haris S.T, Weinstein R.S, Licata W.J.** Dose-response relationships for alendronate treatment in osteoporotic elderly women. *J.Clin Endocrinol Metabol* 82: **1997, 265-274.**
91. **Black D.M, Thompson D.E, Bauer D.C, Ensrud K, Musliner T, Hochberg M.C, Nevitt C, Suryawanshi S, Cummings S.R,** Fracture Risk Reduction with Alendronate in Women with Osteoporosis: The Fracture Intervention Trial. Vol. 85, No.11, **2000, 4118-4124.**
92. **Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Connor EB, Musliner TA, Palermo L, Prineas R, Rubin SM, Scott JC, Vogt T, Wallace R, Yates AJ, LaCroix AZ.** Effect of Alendronate on Risk of Fracture In Women With Low Bone Density but Without Vertebral Fractures. *Jama* Vol. 280, **1998, No:24, 2077-2082.**
93. **Fuchs RK, Phipps RJ, Burr DB.** Recovery of Trabecular and Cortical Bone Turnover Following Discontinuation of Risedronate and Alendronate Therapy in Ovariectomized Rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, **2008 :10.**
94. **Li M, Jiao J, Meng XW, Xing XP, Xia WB, Zhou XY, Liu HC, Jiang Y, Wang O, Hu YY, Zhan ZW.** Effects of teriparatide and alendronate on bone mineral density of osteoporotic rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. **2005** Feb 2, 85(5): **335-8.**
95. **Nakamura Y, Hayashi K, Abu-Ali S, Naito M, Fotovati A.** Effect of preoperative combined treatment with alendronate and calcitriol on fixation of hydroxyapatite-coated implants in ovariectomized rats. *J Bone Joint Surg Am* **2008** Apr; 90(4): **824-32.**
96. **Slivinski L, Janiec W, Pytlik M, Folwarczna J, Kaczmarczyk- Sedlak I, Pytlik W, Cegiela U, Nowinska B.** Effect of administration of Alendronate sodium and Retinol on the mechanical properties of the femur in ovariectomized rats. *Pol. J. Pharmacol.*, **2004, 56, 817-824.**
97. **Kippo K, Hannuniemi R, Isaksson P, Lauren L, Österman T, Peng Z, Tuukkanen J, Kuurtamo P, Kalervo H, Sellmann R.** Clodronate Prevents Osteopenia and Loss of Trabecular Connectivity in Estrogen –Deficient Rats. *JMBR*. February **1998**, Volume 13, Number 2 Page **287.**
98. **Mosekilde L, Thomsen JS, Mackey MS, Phipps RJ.** Treatment with risedronate or alendronate prevents hind-limb immobilization-induced loss of bone density and strength in adult female rats. *Bone*. **2000** Nov;27(5):**639-45.**
99. **Nishida A, Masako I, Vetasi M, Nakayama T, and Tanaka T.** Effect of etidronate on three-dimensional trabecular structure in ovariectomized or sciatic neurectomized rats. *J Bone Miner. Metab* **2004. 22:335-340.**
100. **Rico H, Gomez M, Revilla M, Gonzales-Riola J, Seco C, Hernandez ER, Villa LF, Gervas JJ.** Effects of Promethazine on Bone Mass and on Bone Remodeling in Ovariectomized Rats: A Morphometric, Densitometric, and Histomorphometric Experimental Study. *Calcif Tissue Int* **1999. 65: 272-275.**

101. **Pothuaud L, Rietbergen BV, Mosekilde L, Beuf O, Levitz P, Benhamou CL, Majumdar S.** Combination of topological parameters and bone volume fraction better predicts the mechanical properties of trabecular bone. **2002**, Bone 35: **1091-1099**.
102. **Yao W, Hadi T, Jiang Y, Lotz J, Wronski TJ, Lane NE.** Basic fibroblast growth factor improves trabecular bone connectivity and bone strength in the lumbar vertebral body of osteopenic rats. Osteoporos Int 16: **2005**, **1939-1947**.
103. **Yao W, Farmer R, Cooper R, Chmielewski PA, Titan XY, Setterberg RB, Jee WSS, Lundy MW.** Simvastatin did not prevent nor restore ovariectomy-induced bone loss in adult rats. J Musculoskelet Neuronal Interact **2006**; 6(3): **277-283**.
104. **Yao W, Tian XY, Chen J, Setterberg RB, Lundy MW, Chmielzski P, Froman CA, Jee WSS.** Rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor, prevented cancellous and cortical bone loss by inhibiting endosteal bone resorption and maintaining the elevated periosteal bone formation in adult ovariectomized rats. J Musculoskelet Neuronal Interact **2007**; 7(2): **119-130**.
105. **Hara K, Kobayashi M, Akiyama Y.** Vitamin K<sub>2</sub> (Menatetrenone) Inhibits Bone Loss Induced by Prednisolone Partly through Enhancement of Bone Formation in Rats. Bone Vol. 31, No.5 **2002**, **575-581**.

## ÖZGEÇMİŞ

Adana'da 1967 yılında doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini aynı ilde tamamlamıştır. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 1990 yılında mezun olduktan sonra, 1990-1991 yılları arasında Ortaköy Devlet Hastanesi (Aksaray) Acil Polikliniğinde mecburi hizmetini tamamlamıştır. 1992-2001 yılları arasında Adana Devlet Hastanesi Acil Polikliniğinde çalışmıştır. 2001 yılında Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Anatomi Doktora Programına başlamıştır. Ç.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında 2001 yılında Araştırma Görevlisi olarak göreve başlamıştır. Halen Ç.Ü.T.F. Anatomi Anabilim dalında Araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir.