

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**OVEREKTOMİZE OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE K1
VİTAMİNİNİN MANDİBULAR KONDİL TRABEKÜLER
MİKROMİMARİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ:
HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA**

Dt. Burcu ÇAM

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet KÜRKÇÜ**

ADANA-2011

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**OVEREKTOMİZE OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE K1
VİTAMİNİNİN MANDİBULAR KONDİL TRABEKÜLER
MİKROMİMARİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ:
HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA**

Dt. Burcu ÇAM

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet KÜRKCÜ**

**Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından DHF
2008D8 no.lu proje olarak desteklenmiştir.**

Tez No:

ADANA-2011

KABUL VE ONAY

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilimdalı Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan 'Overektomize Osteoporotik Rat Modelinde K1 Vitamininin Mandibular Kondil Trabeküler Mikromimarisi Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi: Histomorfometrik Çalışma' adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:14/02/2011

İmza

Doç. Dr. Mehmet KÜRKÇÜ
Çukurova Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. İlter UZEL
Çukurova Üniversitesi

İmza

Prof. Dr. Emin ESEN
Çukurova Üniversitesi

İmza

Prof. Dr. M.Cenk HAYTAÇ
Çukurova Üniversitesi

İmza

Doç. Dr. Nurhan GÜLER
Yeditepe Üniversitesi

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulununtarih vesayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Halil KASAP
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilimdalı'nda doktora yapma imkanını bana tanıyan, doktora eğitimim esnasında bana olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam, danışmanım Ç.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilimdalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet KÜRKCÜ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Ç.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilimdalı mensubu tüm öğretim üyeleri ile asistan arkadaşlarıma doktora süresince bu zorlu yolu paylaştıkları için teşekkür ederim.

Ç.Ü. Tıp Fakültesi, Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nin değerli mensupları ve Veteriner Hekim Dr. Kenan DAĞLIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamın bütün renklerini birlikte paylaştığımız, eğitimim sırasında tüm desteğini arkamda hissettiğim sevgili eşim, arkadaşım Ç.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilimdalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. O. Yener ÇAM'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİ	2
2.1 OSTEOPOROZ	2
2.1.1 Osteoporozun Tanımı	2
2.1.2 Osteoporozun Epidemiyolojisi	3
2.1.3 Osteoporozun Patofizyolojisi	4
2.1.4 Osteoporozu Hazırlayıcı Faktörler	6
2.1.5 Osteoporozun Sınıflandırılması	6
2.1.6 Osteoporozda Tanı Yöntemleri	7
2.1.7 Osteoporozda Kemik Yapısındaki Değişiklikler	8
2.1.8 Osteoporozun Tedavisi	11
2.2 K VİTAMİNİ	12
2.2.1 K Vitamini Hakkında Genel Bilgi	12
2.2.2 K Vitaminin Taşınması ve Hücreye Alım Mekanizması	13
2.2.2.1 K Vitamininin Dolaşımdaki Yeri: Taşınması	13
2.2.3 K Vitamini'nin Etki Mekanizması:Gama Karboksilasyon	14
2.2.4 K Vitaminine Bağlı Proteinler ve Kemik	16
2.2.5 K Vitaminin Hücresel Emilimi	17
2.2.6 K Vitaminin Dokularda Depolanması	17

2.2.7 K Vitamini Eksikliği	18
2.2.8 K Vitaminine Bağlı Toksikite	19
2.2.9 K Vitamini ve İlaç Etkileşimleri	19
2.2.10K Vitamininin Yıkımı ve Atılımı	19
3.GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1 Çalışma Planı	20
3.1.1 Deney Hayvanları	20
3.1.2 Deneysel Model	20
3.2 Histomorfometrik Yöntem	23
3.2.1. Doku Takibi ve Dehidratasyon	23
3.3 Işık Mikroskobu ile Histomorfometrik İnceleme ve Analiz	27
3.4 İstatistiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Osteoporozun Tanımı	4
Şekil 2.2 Kemik yapılanmasının şematik gösterimi	11
Şekil 2.3 Vitamin K ₁ (phylloquinone). Hem Phylloquinone hem de Vitamin K ₂ (menaquinone) fonksiyonel bir <u>naphthoquinone</u> halka ve alifatik zincir içerir. Phylloquinone ayrıca fitil zincir içerir.	15
Şekil 2.4 Vitamin K siklusu, glutamik asit rezidüelinin gama karboksilasyonu, spesifik proteinler üzerinden olur. Reaksiyon Vitamin K'ya bağımlı karboksilaz tarafından gerçekleştirilir ve indirgenmiş Vitamin K (Hidrokinon) oluşur.	18
Şekil 3.1 Hayvanlarda anestezi amacı ile Xylazine HCL ve Ketamin intraperitonyal yöntemle uygulanmıştır. Dorsal yaklaşım ile overlere girişim sağlanmış ve overler bilateral olarak çıkarılmıştır.	25
Şekil 3.2 a) Overektomize sıçanda 2 haftanın sonunda yapılan smear testinde az sayıda hücreye rastlanmış, 'bozulmuş akasya dalı görünümü' hayvanların subeustral dönemde olduklarını göstermektedir. b) Eustral dönemdeki bir sıçandan elde edilen smeara akasyadalı görünümünde çiftleşen vajinal plaklar ile kornifiye epitel hücreleri izlenmektedir.	26
Şekil 3.4 Örnekler dehidratasyon banyosunda degrade derişimlerde alkol ile örneklerin su içeriği kurutuldu.	27
Şekil 3.5 Soğutmalı ışıklı polimerizasyon ünitesi	28
Şekil 3.6 Vakumlu ışıklı polimerizasyon ünitesi	29
Şekil 3.7 Kesit almaya hazır hale getirilmiş bloklar	29
Şekil 3.8 Hassas kesme ünitesi	30
Şekil 3.9 Hassas aşındırma ünitesi	30
Şekil 4.1 Sham grubuna ait bu histolojik kesitte trabeküler yapının korunduğu ve kortikal dokunun intakt ve devamlılığının olduğu izlenmektedir.	32

- Şekil 4.2** Overektomize oseoporotik rat modelinde temporomandibular eklem kondil trabeküler yapısının bozulduğu, trabeküller arası mesafenin artarken konektivitenin azaldığı dramatik olarak izlenmektedir. Çalışmanın sınırları içine dâhil edilmemiş olsa da kortikal ve kıkırdak tabakanın bozulduğu görülmekte. 33
- Şekil 4.3** Vitamin K1 uygulanan VKX grubuna ait bu histolojik görüntüde overektomizasyon sonucunda oluşan osteoporozun etkileri izlenmekle birlikte Vitamin K1'in kemik oluşum ve yıkımındaki dengesizliği kompanse ettiği izlenmektedir. 34
- Şekil 4.4** TME kondilinin kemik hacmi oranı (Grup 1: SHAM, Grup 2: VKX, Grup 3: OVX) 37
- Şekil 4.5** TME kondilinin trabeküler kalınlık miktarı.. (Grup 1: SHAM, Grup 2: VKX, Grup 3: OVX) 38
- Şekil 4.6** TME kondilinin trabeküler arası boşluk miktarı (Grup 1: SHAM, Grup 2: VKX, Grup 3: OVX) 39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 National Osteoporosis Foundation tarafından kemik mineral yoğunluğunun ölçüm endikasyonları	10
Çizelge 3.1 Deney grupları. (+) Standart besine ulaşabilmeyi simgeler. Gruplardan sadece VKX'e Vitamin K ₁ uygulanmıştır.	24
Çizelge 3.2 Histomorfometri analizinde kullanılan parametreler.	31
Çizelge 4.1 Histomorfometrik bulguların gruplar arası istatistiksel olarak değerlendirilmesi.	35
Çizelge 4.2 Çalışma gruplarına ait histomorfometrik bulguların sonuçları	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BAr	:Kemik alanı
BGP	:Bone Gla Protein
BMU	:Temel Multiselüler Ünite
BS	:Kemik yüzeyi
BS-3d	:Üç boyutlu kemik yüzeyi
BV	:Kemik hacmi
DEXA	:Dual Enerji X Işını Absorbsiyometre
DKK	:Doruk Kemik Kütlesi
DSÖ	:Dünya Sağlık Örgütü
FDA	:Food and Drug Administration
Glu	:Glutamik asit rezidüleri
HDL	:Yüksek yoğunlukta lipoprotein
HSPG	:Heparan-sülfat-proteoglikan
IL-1	:İnterlökin-1
KMY	:Kemik Mineral Yoğunluğu
LDL	:Düşük yoğunlukta lipoprotein
M-CSF	:Makrofaj- Koloni Uyarıcı Faktörü
MGP	:Matriks Gla proteini
NAD(P)H	:Nicotinamid adenin dinucleotit fosfat oksidaz
NF κ β	:Nükleer Faktör kappa Beta
NOF	:National Osteoporosis Foundation
OC	:Osteokalsin
OPG	:Osteoprotegerin
PTH	:Parathormon
RANKL	:Nükleer Faktör Kappa-B Ligandının Reseptör Aktivatörü
SS	:Standart Sapma
ŞA	:Şilomikron
Tb. N	:Trabekül sayısı

Tb. Sp	:Trabeküller arası mesafe
Tb.Th	:Trabeküler kalınlık
Tb.Wi	:Trabeküler genişlik
TG	:Trigliserit
TGF- β	:Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TIBDAM	:Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma Merkezi
TNF	:Tümör Nekroz Faktörü
TRL	:Trigliserit zengini lipoprotein
VLDL	:Çok düşük yoğunlukta lipoprotein
WHO	:World Health Organization

ÖZET

OVEREKTOMİZE OSTEOPOROTİK RAT MODELİNDE K1 VİTAMİNİNİN MANDİBULAR KONDİL TRABEKÜLER MİKROMİMARİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ: HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA

Yaşlı bireylerde sıklıkla karşılaşılan osteoporoz kemik yapısında kortikalden çok trabekül kemiği etkilemektedir. Osteoporotik yaşlı kadınlarda serum vitamin K düzeylerinin normalden düşük olduğu bilinmektedir. Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar K1 Vitaminin kemiğin yeniden şekillenmesi, kemik mineral oluşumu ve hacmini düzenleyebildiğini göstermektedir. Temporomandibular eklem kondil trabeküler yapısının osteoporozla bağlı olarak bozulduğu bilinmekle beraber K1 Vitamini ile tedavisine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, osteoporotik rat modelinde, K1 Vitamininin overektomi ile oluşan kemik kaybına etkisini belirlemek amacıyla planlandı.

Çalışmada, Çukurova Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezinde yetiştirilen 3 aylık, 75 adet dişi Wistar türü sıçan kullanıldı ve üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu sahte operasyon (SHAM) uygulanan 25 adet sıçandan oluşturuldu. SHAM işlemi abdominal girişim ile overlere ulaşıldıktan sonra over dokuları yerlerinde bırakılarak bölgenin primer olarak kapatılması ile sağlandı. Dorsal yaklaşımla bilateral overektomi işlemi yapılan 50 adet sıçan rastgele iki gruba ayrılarak overektomize grup (OVX) ve K1 Vitamini grubu (VKX) oluşturuldu. OVX grubu overektomi işleminden sonra beslenmeleri su ve standart yemden oluşurken, VKX grubuna ise standart beslenmelerinin yanında K1 vitamini verildi. VKX grubundaki sıçanlara 56 gün boyunca K1 Vitamini 1mg/kg/gün dozunda gavaj yöntemi ile verildi. Sakrifikasyonu takiben tüm sıçanların alt çenesi kondille birlikte çıkartılarak histomorfometrik değerlendirildi.

SHAM grubunda trabeküler yapı normal gözlenirken, OVX grubunda trabeküler yapıda bozulmayla birlikte trabeküler sayıda ve kalınlığında azalma, trabeküller arası mesafede artma saptandı. VKX grubunda ise trabekül sayısında ve trabekül kalınlığında artma, trabeküller arası mesafede azalma gözlemlendi. VKX grubunun tüm histomorfometrik parametreleri OVX grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken ($p<0,05$), SHAM grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,01$). SHAM grubu ile OVX grubu karşılaştırıldığında tüm histomorfometrik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$).

Bu çalışmanın sonuçları, K1 Vitamini besin desteği ile TME kondil trabeküler yapısı üzerinde osteoporozun etkilerinin en aza indirgenebileceği göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Osteoporoz, Vitamin K1, mandibular kondil, histomorfometri.

ABSTRACT

THE EFFECT OF VITAMIN K1 SUPPLEMENTATION ON THE TRABECULAR MICRO-ARCHITECTURE OF MANDIBULAR CONDYLE ON OVARIECTOMIZED OSTEOPOROTIC RAT MODEL: A HISTOMORPHOMETRIC STUDY

As a frequent disease in elderly people osteoporosis affects trabecular bone rather than cortical bone. Its known that serum Vitamin K levels are significantly lower than normal in elderly women patients with osteoporosis. Recently, studies showed that Vitamin K1 plays a role on bone remodeling, bone mineralization and bone volume. Trabecular bone of temporomandibular condyle is affected from osteoporosis; however, there is no study for the treatment with Vitamin K1 in literature. This study was designed to examine the effects of Vitamin K1 on bone loss induced by overiectomized.

Seventy-five female Wistar rats, each 3-month-old from the Cukurova University Medical Experimental Research Center were used and divided in three groups in this study. Control group was composed of 25 rats which underwent the sham operation (SHAM). Sham operation was performed within the abdominal approach to the ovary, and leaving them untouched in the ovarian. Fifty rats were ovariectomized within dorsal approach and divided in to two groups randomly; ovariectomised group (OVX) and Vitamin K1 group (VKX). OVX group was fed with water and standart chow diet while VKX group was fed with Vitamin K1 addition to their standart chow diet. For 56 days dose of 1mg/kg/day Vitamin K1 was administered by gastric gavage technique to the VKX group. All the temporomandibular condyles were removed for the histomorphometric evaluation following the sacrifice.

VKX grubunun tüm histomorfometrik parametreleri OVX grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken ($p<0,05$), SHAM grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,01$). SHAM grubu ile OVX grubu karşılaştırıldığında tüm histomorfometrik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$)

Trabecular structure was normal in the SHAM group, while a decrease of trabecular number and trabecular thickness and increase in the trabecular separation was observed with the trabecular degeneration in the OVX group. In the VKX group, trabecular number and trabecular thickness was increased and trabecular separation increased. All histomorphometric parameters of VKX group was statistically significant different from the OVX group ($p<0,05$), while no statistically significant difference was found between VKX and SHAM groups ($p>0,01$). All histomorphometric parameters of SHAM group was statistically significant different from the OVX group ($p<0,05$),

Our findings indicate that it is possible to decrease the effects of osteoporosis on temporomandibular condyle with the Vitamin K1 supplementation.

Key Words: Osteoporosis, Vitamin K1, mandibular condyle, histomorphometry.

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemik dokunun mikro mimari yapısındaki bozulma sonucu kemik kırılabilirliğinde artış ile karakterize, pek çok etkenli sistemik bir hastalıktır¹. Osteoporoz, günümüzde yaşlı popülasyonda en sık kırık nedenlerinden biri olup, kırıkların büyük çoğunluğu omurgada, kalça ve el bileğinde görülmektedir. Elli yaşın üzerindeki kadınlarda hayat boyu osteoporozla ilgili kırık riski yaklaşık %40 civarında iken, erkeklerde bu oran %13'lerde seyredir².

Geçmişte kırıklara neden olmadıkça teşhis edilmeyen osteoporoz, günümüzde önceden önlenemez, radyoloji teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak tanısı kolaylıkla konabilir ve ilaç teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak tedavi edilebilir bir hastalık olarak bilinmektedir³. Osteoporozla ilgili kemik kütlesinde oluşan kayıp genellikle bütün iskelet sisteminde kendini göstermektedir. Bu nedenle hastalığın tedavisinde tercih edilen ilaçların tüm iskelet yapısına yönelik olması beklenir. Bu amaçla randomize klinik çalışmalarda bifosfanat ve antirezorptif ilaçların etkinliği gösterilmiştir^{4,5}. Ancak bu ilaçların oral kullanımında karşılaşılan gastrointestinal tahriş ile böbrek fonksiyonlarının etkilenmesinin yanında kanser vakalarında intravenöz kullanımı sonucu oluşan bifosfonata bağlı çenelerde osteonekroz gibi yan etkilerini göz ardı etmemek gereklidir^{5,6}. Osteoporozda kullanılan ilaçlara bağlı komplikasyonlar ve ekonomik maliyetlerin azaltılabilmesi açısından bu hastalığın öncelikle önlenmesi ve tedavisinde alternatif bütüncü ve destekleyici formda besinlere başvurulmaktadır⁷.

K Vitamini, özellikle yeşil bitkilerde bulunan ve antihemorajik etkiye sahip, yağda çözünen bir tür vitamin grubudur. K Vitamini vücutta çeşitli dokularda özellikle kemikte, glutamil rezidüelinin gamakarboksi asite dönüştürülmesi reaksiyonu olan karboksilasyon reaksiyonu için gerekli bir ko-faktördür. Son yıllarda yapılan çalışmalar osteoporozda ve kırık kemik iyileşmesinde terapötik etkinliği ortaya konmuştur^{8,9}.

Bu çalışmanın amacı, osteoporotik rat modelinde Temporomandibular kondilin trabeküler yapısındaki histolojik değişiklikleri hücresel seviyede belirlemek ve K1 Vitamini desteğinin Temporomandibular kemiğin mikro-trabeküler yapısı üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. OSTEOPOROZ

2.1.1. Osteoporozun Tanımı

Osteoporoz kemik hacmindeki azalma ve iskelet yapısında kırılabilirliğe neden olan kemik mikro mimarisinde bozulma ile karakterize bir kemik hastalığı olup kırık oluşma riskini arttırmaktadır¹. Geçmişte kırıklara neden olmadıkça teşhis edilmeyen osteoporoz, günümüzde önceden önlenemez, radyoloji teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak tanısı kolaylıkla konabilir ve ilaç teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak tedavi edilebilir bir hastalık olduğu bilinmektedir³. Osteoporoz kemiğin hem yoğunluğunda hem de kalitesinde bozulmaya neden olmaktadır. Kemik yoğunluğu kemiğin birim alanındaki ya da 1 gramındaki mineral miktarını belirtir. Kemik kalitesi kemiğin mikro mimari yapısı, aldığı hasarlar ve mineralizasyonu ile ilgilidir¹⁰. Dünya Sağlık Örgütü (WHO; World Health Organisation) tarafından kabul edilen tanımlamaya göre aynı cinsiyet grubundaki genç yetişkin bireylerde kemik mineral yoğunluğu ya da kemik mineral içeriği 2.5 Standart Sapma (SS)'nin altında ise osteoporoz mevcuttur².

DSÖ'nün kemik mineral yoğunluğu (KMY) ve ölçümleri için kabul ettiği tanı kriterleri aşağıda belirtilmiştir;

T Değeri

Sağlıklı genç yetişkin bireylerde ortalama kemik mineral yoğunluğuna göre kişinin kemik mineral yoğunluğundaki SS, 'T Değeri' ile ifade edilir.

Dual Enerji X Işını Absorbsiyometre (DEXA) yöntemi kullanılarak elde edilen kemik mineral yoğunluğu değerlerine göre yapılan bu tanımlamalar aşağıda yer almaktadır:

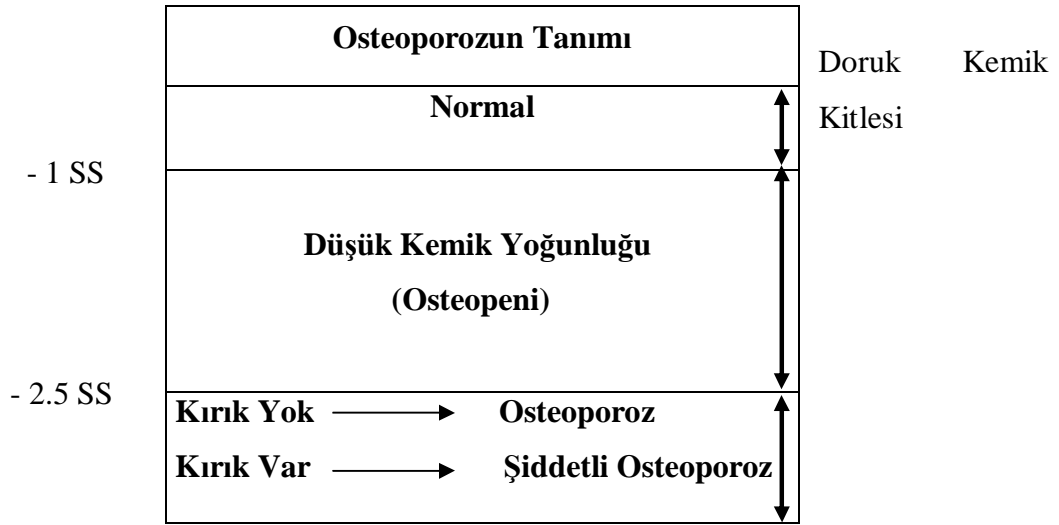
Normal: Genç erişkine göre kemik mineral yoğunluğu T değerinin -1 SS'dan büyük olması. ($T > -1 SS$).

Osteopeni: Genç erişkine göre kemik mineral yoğunluğu T değerinin -1 SS ile -2.5 değerleri arasında yer alması. ($2.5 SS < T \leq -1 SS$)

Osteoporoz: Genç erişkinine göre kemik mineral yoğunluğu T değerinin -2.5 'dan düşük olması. ($T \leq 2.5 SS$)

Şiddetli Osteoporoz: Genç erişkinine göre kemik mineral yoğunluğu T değerinin -2.5'dan düşük olması ve bu değere çok sayıda kırığın eşlik etmesi.

Kemik Mineral
Yoğunluğu



Şekil 2.1 Osteoporozun Tanımı

2.1.2 Osteoporozun Epidemiyolojisi

Osteoporoz sıklıkla rastlanan ve ortalama yaşam süresindeki artışa bağlı olarak daha sık ortaya çıkması beklenen bir hastalıktır. Osteoporoz insidansı kadınlarda erkeklerden, beyaz ırkta ve Asyalılarda siyahî ırktan daha yüksektir¹¹. Yakın gelecekte WHO tarafından 50 yaşına gelen her 10 kadından 4'ünde hayatlarında en az bir kere osteoporotik kırık yaşamak zorunda kalacağı tahmin edilmektedir. Bu hastalığın bu kadar yaygın duruma gelmesi nedeniyle medikal ve sosyoekonomik etkileri toplum sağlığı açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir. Hem osteoporozun tedavisi hem de en önemli komplikasyonu olan kırıkların tedavisine yönelik yatırım ve harcamalar ile oluşan iş gücü kaybının maliyeti osteoporozun oluşmadan önlenmesine yönelik araştırmaları arttırmaktadır.

2.1.3 Osteoporozun Patofizyolojisi

Hayat boyunca ulaşılan maksimum kemik miktarı Doruk Kemik Kütlesi (DKK) olarak adlandırılır. Erkekler yaşam süresi boyunca DKK'nin en fazla %20-30'unu kaybederken kadınlarda bu kayıp % 30-40 olabilmektedir¹². Kemik hacmindeki bu kayıp hem kansellöz hem kortikal kemikte olurken kansellöz kemik daha fazla etkilenir. Kadınların hayatları boyunca kansellöz kemiklerinin % 50'sini kortikal kemiklerinin % 30'unu kaybettiği tahmin edilmektedir. Menopozdan sonra kadınlarda trabekül yapısı incelenerek azalmakta ve bunun sonucunda iskelet yapısı deđişmektedir¹³. Bunun yanında korteks de incelmekte ve gözenekliliği artmaktadır. Temelde kemik mineralizasyon defekti olan osteomalazinin aksine osteoporozde kemiğin kimyasal yapısı değişmez.

Kemik kaybı iki yolla oluşmaktadır. Bunlardan ilki fizyolojimizin doğal sonucu olan hem erkek hem kadınlarda izlenen, kemik kütlesinin % 0,5 – 1 oranında kaybının olduğu doğrusal ve devamlı kemik kaybıdır. Bu kemik kaybının başladığı yaş hala tartışmalıdır. Ancak en azından kansellöz kemik için 50 yaş civarında başladığını gösteren çalışmalar vardır. Kadınlarda bu durumun yanında, kemik kaybının 6 yıla kadar devam ettiği gösterilen çalışmalarda menopoz döneminin uzunluğu ile orantılı olarak, kemik kaybını hızlandırıcı bir diğer etken de östrojen üretimindeki azalmadır¹⁴. Bir noktadan sonra kemik hacmindeki kayıp iskeletsel yapının daha kırılđan olmasına ve kırıklara yol açar. İkinci neden ise bireylerin adölesan dönemlerinde kemik yapımının az olması, osteoporozde yol açabilir ya da her iki nedenin kombinasyonu söz konusu olabilir. DKK'ne genellikle ikinci dekadın sonunda ulaşılır. DKK temelde kalıtım, Vitamin D reseptör geni ve daha az oranda beslenme gibi diğer faktörlerden etkilenmektedir. İkizlerde yapılan çalışmalar DKK'nin %70-80 oranında genetik olarak belirlendiğini göstermektedir^{15,16}. Kollajen sitokinler, apolipoprotein E, büyüme faktörlerinin DKK üzerinde az ya da hiç etkisi olmadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır¹⁷. Büyüme çağında çocuklarda Vitamin D ve östrojen reseptörleri ile kalsiyum alımı ve düzenli fizik egzersizin DKK'nin kazanılmasında etkinlikleri kanıtlanmış faktörlerdir¹⁸. Östrojen hem erkek hem de kadınlarda puberte sonrası epifizyal kapanma ve kemik şekillenmesinin durmasında önemli rol oynar. Erkeklerde ve kadınlarda yapılan kemik biyopsilerinde artmış yıkımın sonucunda kemik trabeküllerdeki bağlantılarda kaybolma, kemik oluşumunda azalma izlenmektedir¹⁹.

Östrojenin erkeklerde de kemik kütlesinin yapılanmasında primer rol oynadığı bulunmuştur²⁰. Östrojen reseptörlerinde mutasyon veya aromataz defisiti tespit edilen erkeklerde büyüme yavaşır ve kemik dansitesi düşüktür²¹.

Östrojenin kemik yapılanmasındaki muhtemel etki noktaları şunlardır:

- 1) T-hücrelerinden sitokin üretiminin düzenlenmesi
- 2) Stromal veya osteoblastik hücrelerinden nükleer faktör k B (NFkB)'nin reseptör aktivatörü ligandı (RANKL) veya osteoprotegerin (OPG) üretiminin düzenlenmesi
- 3) Diferansiye osteoklastların direkt inhibisyonu
- 4) Osteoblast ve osteositlerin mekanik etki altında geliştirdikleri kemik formasyon yanıtında artış²².

Bir kez DKK kazanıldıktan sonra yapım ve yıkım hızları birbirine eşit olması nedeni ile kemik yoğunluğu yıllar boyunca aynı kalır. Kemiğin yeniden yapılanması osteoklastlar tarafından eski kemiğin yıkımı ve osteoblastlar tarafından yeni kemik yapımı ile devam eden bir döngüdür. Osteoporoz yeni kemik yapımında duraklama ya da kemik yıkımında artma sonucunda oluşmaktadır.

Yaş ilerledikçe kadınlarda menopoz sonrası yıkım yapım hızını aşar. Menopoz dönemindeki kemik kaybı ilk 5 yıl içinde çok şiddetlidir. Menopozda hızlı kemik kaybının esas nedeni östrojen eksikliğidir, ancak kadınlarda distal radiusta kemik kaybı menopozdan önce de başlayabilir²³. Kırklı yaşlarda Colles kırıklarının insidansında artma görülür. Menopozdan sonraki dönemlerde vertebra kırıkları 5 kat fazla izlenirken, kalça kırıkları logaritmik bir artış gösterir²⁴. Bu bilgiler doğrultusunda osteoporozun asıl olarak yaşa ve menopoza bağlı olduğunu söylemek mümkündür. Kemik yıkım aktivitesi muhtemelen östrojen ve başka bir takım faktörlerin eksikliğine bağlı olarak osteoklastların apoptozunda azalma ile ilgili olabilir.

Yaşlanmaya bağlı olarak osteoporozda D vitamini absorpsiyonunun bozulması, azalan hareket kabiliyeti, ciltteki değişiklikler sonucu güneş ışığından yeterince faydalanamamak, cildin D vitamini sentezinde bozulma sonucu D Vitamini eksikliği izlenmektedir^{24,25}. Bunun yanında diyetle alınan kalsiyumun emiliminin azalması nedeniyle azalan kalsiyum seviyeleri parathormon (PTH) düzeyinde artma meydana getirir. Kalsiyum ve D Vitamini dengesinin bozulması kemik döngüsünde de bozulmaya neden olur²⁶.

2.1.4 Osteoporozu Hazırlayıcı Faktörler

Osteoporoz ve kırıklar için tanımlanmış birçok risk faktörü mevcuttur. Ancak bu risk faktörlerinin klinikte kemik mineral yoğunluğu ve kırık riskinin belirlenmesindeki duyarlılık ve güvenilirlikleri tartışmalıdır²⁷. Etiyolojik faktörlerin bilinmesi ve yüksek risk taşıyan hasta gruplarının tanınması ile gerekli önlemler alınabilir ve osteoporoz erken dönemde teşhis edilip kırık oluşumunun önüne geçilebilir. Bu faktörler genel olarak yaşlanma, genetik, ırk, hormonlar, beslenme, yaşam tarzı ve alışkanlıklar, çeşitli ilaçlar ve hastalıklar olarak nitelendirilebilir.

2.1.5 Osteoporozun Sınıflandırılması

Etyolojik sınıflandırmaya göre osteoporoz primer ve sekonder osteoporoz olmak üzere ikiye ayrılır²⁸.

1. Primer Osteoporoz

I. İdiyopatik Osteoporoz

a. **Juvenil Osteoporoz:** Prepubertal büyüme hızı fazla olan çocuklarda görülür. Vertebrada kompresyon fraktürü, metafiz fraktürleri görülebilir, 2-6 yıl içinde kendiliğinden düzelir.

b. **Erişkin Osteoporoz:** Çok sık izlenmemekle beraber 30-50 yaş arasındaki erkeklerde daha sık izlenir. Aksial iskelet tutulumu görülür.

II. Postmenopozal Osteoporoz (Tip I) : Kadınlarda doğal menozla birlikte ortaya çıkan östrojen eksikliğinin yol açtığı, sıklıkla 50-70 yaş arasında izlenen kemik kaybıdır. Trabeküler kemik yapısı kortikal kemikten daha fazla etkilenir. Vertebrada çökme, femur başı ve distal radius kırığı sıklıkla izlenir.

III. Senil Osteoporoz (Tip II): Yaşlanma ile oluşmaktadır, genellikle 75 yaşından sonra izlenir. Tip I osteoporozun aksine Tip II kadın ve erkekte eşit oranda izlenir. Hem kortikal hem trabeküler kemik yapısı etkilenir.

2. Sekonder Osteoporoz

I. Endokrin Bozukluklar: Cushing Sendromu, Diabetes Mellitus,

Hiperparatiroidizm, Hipertiroidizm

II. Gastrointestinal Bozukluklar: Subtotal gastrektomi, malabsorpsiyon, kronik obstrüktif sarılık.

- III. Bağ Dokusu Hastalıkları: Romatoid Artrit, Ehler Danlos Sendromu, Marfan Sendromu.
- IV. Diyetle ilgili bozulukluklar: Diyetle kalsiyum alımında azalma, artmış protein tüketimi.
- V. İmmobilizasyon
- VI. Malign hastalıklar: Lenfoma, Lösemi, Multiple Myeloma.
- VII. İlaç kullanımı: Glukokortikoidler, Heparin, antikonvülsanlar, metotreksat.
- VIII. Diğer: Alkol bağımlılığı, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı, Skorbüt, Sigara kullanımı.

2.1.6 Osteoporozda Tanı Yöntemleri

Osteoporoz tanısında öncelikli olan risk faktörlerinin belirlenmesi için hastanın anamnezi ile takibinde klinik muayenedir. Travma olmaksızın meydana gelen kırıklarda kemikte kırılma eğilimine neden olacak başka bir hastalığı olmayanlar, risk faktörleri ile birlikte değerlendirildiğinde osteoporoz teşhisi konulabilir. Ancak niceleyici bir veriye sahip olmak için önerilen yöntem KMY'nun ölçülmesidir. WHO'nun 2004'deki raporuna²⁹ göre osteoporozun tanısı dansitometrik yöntemlerle saptanan kemik mineral yoğunluğu değerlerine göre konulmaktadır. KMY ve kırık riski arasında kuvvetli ilişkiyi gösteren pek çok çalışma yapılmıştır³⁰. KMY'ü azalmış bireylerde bu ölçümün sonuçları ile birlikte diğer risk faktörlerinin göz önünde bulundurulması yöntemin duyarlılığı ve özgüllüğünü arttırmaktadır. KMY'nin ölçümü için kullanılacak kemiklerde tercih, hiperparatiroidi gibi durumlarda ön kol, topuk vs. iken osteoporozde daha güvenilir sonuçlar vermesi açısından önerilen iliak ve vertebrada yapılan eşzamanlı ölçümlerdir. KMY sonuçlarının normal aralıkta çıkması kırık riskini azaltmakta ancak tamamı ile ortadan kaldığı anlamına gelmemektedir. Bunun yanına KMY'nun azalmış olmasının kırık riskini ciddi oranda arttırdığı düşünülmektedir³¹. National Osteoporosis Foundation (NOF) tarafından ortaya konan 1998 yılında Amerika'da yayınlanan KMY ölçülme endikasyonlarını belirleyen çizelge aşağıda sunulmuştur.

Çizelge 2.1 NOF tarafından kemik mineral yoğunluğunun ölçüm endikasyonları

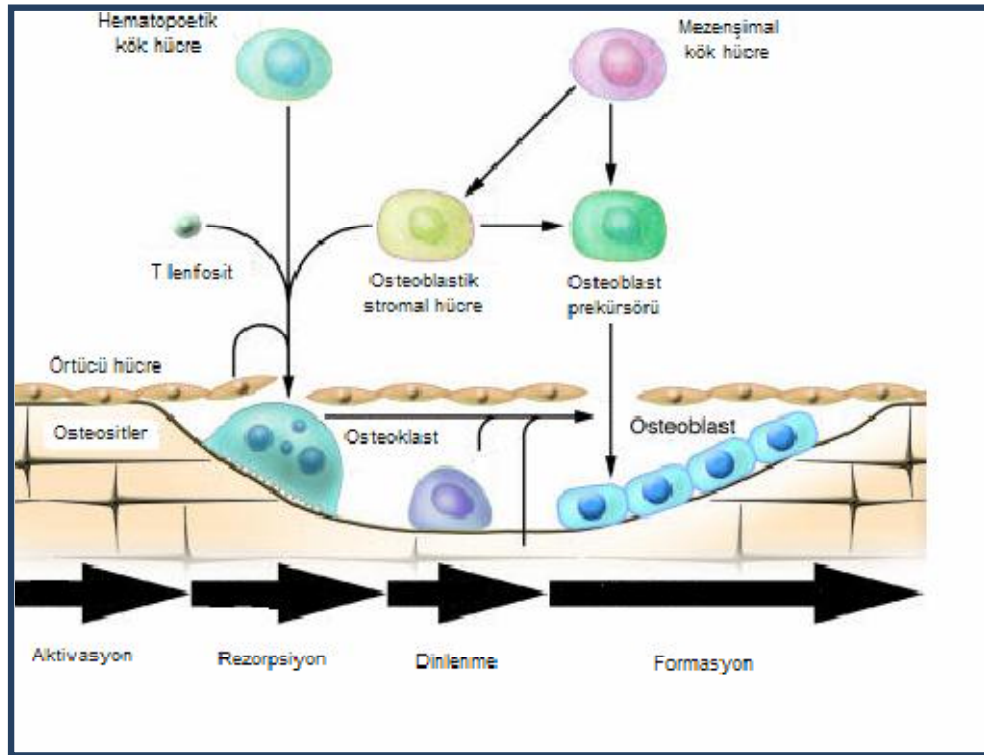
65 Yaş üzerindeki bütün kadınlarda
65 Yaşının altında ancak menopoz dışında 1 veya daha fazla risk faktörü taşıyanlarda
57,6 kg'ın altında olan bireylerde
Sigara kullananlarda
40 yaşından sonra düşük şiddette travma ile kırık öyküsü olanlarda
Anamnezinde kırık olanlarda
Kırık öyküsü olanlarda tanıyı doğrulamak, hastalığın ciddiyetini ortaya koymak
Ölçümün tedavi kararını etkileyeceği menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda
Uzun zaman hormon replasman tedavisi altında olan bireylerde

Osteoporozun teşhis ve tedavisinin izleminde, kemik yapım ve yıkımı hakkında bilgi veren, serumda ya da idrarda kemik döngüsü belirteçleri kullanılır. Kemik yapımı için alkalen fosfataz ve osteokalsin serumda ölçülebilir değerler iken, kemik yıkımını ortaya koyan idrardan ölçülen piridolin ve deoksipiridolin ile hem serum hem idrardan ölçülen Tip I kollajen telopeptidlerdir³².

2.1.7 Osteoporozda Kemik Yapısındaki Değişiklikler

Osteoporozun patofizyolojisinin anlaşılması için öncelikle normal kemik döngüsünün incelenmesi gerekmektedir. Yaşam boyunca iskelet sistemindeki homeostazinin sağlanması ve yapısal bütünlüğünün korunması için hem kortikal hem de trabeküler kemikte meydana gelen değişim döngüsüne yeniden şekillenme adı verilir ki iki bileşeni kemik yıkımı ve kemik yapımıdır. Yeniden şekillenme olayında osteoblast ve osteoklastlar bir denge içinde hareket ederler. Söz konusu bu denge, “Kemik Yeniden Şekillenme Ünitesi veya Temel Multiselüler Ünite (BMU) olarak adlandırılmaktadır. BMU geçici bir anatomik yapıdır. Bu anatomik ünite osteoklastlar, osteoblastlar, kanlanma desteği ve ilgili yumuşak dokulardan oluşur³³. Yeniden şekillenme mekanizması 5 safhadan oluşur. Yeniden şekillenme, temelde kemik yıkımının tamamlandığı yüzeylerde kemik yığılmasıyla gerçekleşir. Birinci aşama olan aktivasyonda osteoklast prekürsör hücreleri rezorbe edilecek kemik yüzeyine göç ederek çok çekirdekli osteoklastlarla birleşirler. Osteoklastların ortaya çıktığı bu

aşamada amaç, yüzeyin aktif bir yeniden şekillenme bölgesi halini almasıdır. Yıkım fazı olan ikinci aşamada kemik o bölgede bulunan mononükleer fagositler yardımıyla osteoklastlarca rezorbe edilir. Üçüncü aşama olan geriye dönüş safhasında osteoblastlar farklılaşarak osteoid ve kemik yapımına başlarlar. Yapım aşamasından sonra dinlenme fazı başlar ve hücreler ve mineralize kemik arasında osteoid fark edilemez hale gelir. Bu aktivasyon döngüsü, normal kemikte her 10 saniyede bir tekrar eder. (Şekil 2.2)



Şekil 2.2: Kemik yapılanmasının şematik gösterimi³⁴.

Kemik rezorpsiyonu ve kemik yapımının ardışık düzeninin devam ettiği yeniden şekillenme sürecinde rezorpsiyon ve yapım işlemleri birbirini karşılayamaz duruma gelirse yeniden şekillenme sürecinde dengesizlik oluşur. Yeniden şekillenmenin hücresel temelini anlaşılmaması son zamanlarda hız kazanmıştır. Tümör Nekrozis Faktör (TNF) ligand (bağlanma molekülü) ailesine ait bir membran molekülü olan nükleer kapp beta ($\text{NF}\kappa\beta$) reseptör aktivatörü ligandı (RANKL) osteoklast yapımı için gerekli bir moleküldür^{35,36}. RANKL iki farklı reseptörle etkileşir. Bunlar osteoklast progenitör

hücre yüzeyinde bulunan bir sinyal reseptörü olan (NF κ B) reseptör aktivatörü (RANK) ve TNF reseptör ailesine ait bir molekül olan osteoprotegerin (OPG) sitokin reseptörüdür. RANK, RANKL ve OPG reseptörünün osteoklastik kemik rezorpsiyonunda anahtar rol oynadığı in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Osteoblastlar yüzeylerinden RANKL açığa çıkarırlar. RANKL osteoklast prekürsörlerinden açığa çıkarılan RANK ile etkileşerek osteoklast farklılaşmasını aktive eder. Olgun osteoklastlardaki RANK ile RANKL'ın etkileşmesi osteoklastın aktivasyonuna ve sağkalımının uzamasına neden olur. Osteoprotegerin, osteoblastlar ve stromal hücreler tarafından salınır ve görevi RANK ve RANKL etkileşimini bloke etmektedir³⁷.

Postmenopozal osteoporozda hücresele seviyede görülen kemik kaybı osteoklast ve osteoblast aktiviteleri arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşur. Östrojen hormonu normal fizyolojik kemik remodelasyonunda ve fizyolojik kemik döngüsünde merkezi bir öneme sahiptir. Östrojen bu fonksiyonu kemik hücrelerinin yaşam sürelerini düzenleyerek ve sitokinlerce indüklenmiş osteoklastogenezisi azaltarak gerçekleştirir. Östrojenin olmadığı ortamda dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- β) üretiminin azalması sonucunda T hücrelerinden TNF salınımında artış meydana gelir. Buna ek olarak monositler daha fazla miktarda interlökin-1 (IL-1) üretmeye başlarlar. TNF, Makrofaj-Koloni uyarıcı faktörünü (M-CSF) ve RANKL üretimini uyararak osteoklast prekürsörlerinden osteoklast üretimini indükler. Aynı zamanda IL-1 ve RANKL osteoklastların apoptozisini önleyerek yaşam sürelerini uzatır. Sonuç olarak östrojen yetersizliği durumunda fonksiyonel BMU sayısı büyük ölçüde artar³⁸. Bunun yanında östrojen eksikliğinde osteositlerin yaşam süreleri kısalmır. Osteoblastların mekanik uyarılara olan cevabının ve kemiğin hasar görmüş kısımlarını tespit ve tamir etme kabiliyetinin azaldığı gözlenir.

Östrojen IL-1 ve TNF'nin negatif düzenlemenin sağlamanın yanı sıra TGF- β üretiminin artmasına yol açarak osteoklast apoptozisini hızlandırır. Bir önemli antirezorptif etkisi de osteoblastlardan osteoprotegerin salımını stimule etmesidir.

Özetle, menopoz sonrası görülen östrojen yetersizliği kemikte yapım-yıkım dengesizliğine ve artmış kemik döngüsüne neden olur. IL-1, IL-6 ve TNF gibi osteoklastojenik proinflatuar sitokinlerin artış göstermesi sonucunda osteoklast yapım hızının artması ve trabeküler kemik kaybına yol açar.

2.1.8 Osteoporozun Tedavisi

Osteoporoz önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. Hastalık gelişmeden alınacak önlemler ile osteoporoze bağlı mortalite ve morbidite oranı azalacaktır. Osteoporoz tedavisi patogenetik mekanizmalara dayalıdır. Kemik kaybını ve kemik kaybına bağlı kırıkları önlemek tedavinin önde gelen hedefidir²⁶. Osteoporozun tedavisinde ilaçsız ya da ilaçla tedavi yaklaşımları uygulanmaktadır. Kemik sağlığını korumakta ilaçsız yöntemler uygun diyet, egzersiz ve düşmeleri önlemekle ilgilidir³⁹.

Yaşlanmaya bağlı osteoporoz büyük ölçüde kalsiyum ve D Vitamini metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır³⁹. Azalmış kalsiyum alımı, yaşlanmaya bağlı azalmış barsak kalsiyum absorpsiyonu ve D Vitamini yetersizliği sekonder hiperparatiroidizm ile sonuçlanabilmektedir. D Vitamini yetersizliği ve sekonder hiperparatiroidizm kemik kaybını arttırmakta ve aynı zamanda nöromusküler zedelenmeye neden olmaktadır. Dolayısıyla kırık riskiyle birlikte düşme riskini de arttırmaktadır²⁶.

Kalsiyumun vücutta emilimini engelleyen çay, kahve ve gazlı içeceklerin kullanımı azaltılmalı veya tüketilirken kalsiyum replasmanı yapılmalıdır²⁷. Düzenli fiziksel aktivite kasların ve kemiklerin gücünü arttırmakta, dengeyi iyileştirmekte ve dolayısıyla düşme olasılığını azaltmaktadır, haftada üç kez en azından otuz dakika süreyle yapılan egzersiz KMY'yi arttırmakta ve kırık riskini azaltmaktadır^{39,40}. Kalça ve el bileği kırıkları genellikle düşme sonrası meydana gelmektedir. Düşmelerin önlenmesi amacıyla görme bozukluklarının düzeltilmesi, dengesizlik yapabilecek ilaçların kullanımının azaltılması, kaygan olmayan zeminler yaptırılması, merdiven kullanımından kaçınılması travmayı önlemek için alınabilecek önlemler arasındadır⁴¹. KMY'una göre osteoporozun ilaçla tedavisine karar verildikten sonra çeşitli seçenekler mevcuttur. Bu ilaçlarla amaç kemik yıkım döngüsüne müdahale ile mevcut kemiğin korunmasına yöneliktir. Her bir ilacın kullanımına bağlı kar-zarar dengesi kendi içinde değerlendirilmelidir. Osteoporozda tedavi amaçlı kullanılacak ilaçlardan kısaca bahsedilmiştir:

Bifosfonatlar: Sıklıkla başvuru alan kalça kırıkları ile vertebra kırıklarının tedavisinde başarılı sonuçlarla kullanılan bu ilacın etki mekanizması osteoklastlar üzerine etki göstererek, osteoklast apoptozisini arttırmak ve farklılaşması ile aktivitelerini engellemektir. Biyoyararlanımları düşüktür ve plazma yarı ömürleri

kısaadır. Uzun süre aktif kaldıkları kemikte etkinlikleri ortaya çıkar. En sık görülen yan etkileri gastrointestinal sistemle ilgili olanlar olarak bilinmektedir⁴². Osteoporozlu hastalarda KMY'nu artırır, kalça ve vertebra kırıklarının azaltılmasında kullanılır. Osteoporozun tedavisi amaçlı oral kullanımının yanında kanser tedavisinde damar içi formunun kullanımı sonucu bifosfanata bağlı çenelerde osteonekroz gösteren çeşitli olgu raporları mevcuttur^{43,44}. Bu klinik durum çene kemiğinin bir bölümünün ağız ortamına açılması ile karakterizedir.

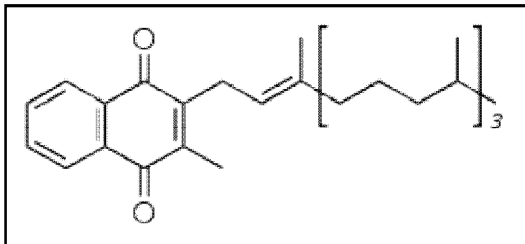
Ülkemizde osteoporoz tedavisinde kullanılan bifosfonatlar; **etidronat**, **alendronat** ve **risedronattır**.

Bu ilaçların yanında kemik metabolizmasıyla ilgili başka önemli besin kaynakları Vitamin K ve proteinlerdir. Vitamin K ve proteinlerin yetersiz alımı kemik kaybı ve osteoporozu yol açabilmektedir²⁶.

2.2. K VİTAMİNİ

2.2.1 K Vitamini Hakkında Genel Bilgi

K Vitamini, yağda çözünebilen bir grup vitaminden oluşup bazı proteinlerin değişim sonrası modifikasyonları için ihtiyaç duyduğu vitamindir. K Vitaminin etkinliği ilk kez Danimarkalı bilimadamı Henrik Dam'ın⁴⁵ kolesterol üzerine yaptığı çalışmalar esnasında bulunmuştur. Vitamine adını veren 'K', Danca 'koagulation' kelimesinin baş harfidir. K Vitamini kan pıhtılaşması üzerindeki rolü ile bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar K Vitaminin kemik doku metabolizması üzerindeki etkinliğini ortaya koymaktadır. K Vitamini 2-methyl-1,4-naphthoquinone derivativesidir. K1 Vitamini phyloquinone ya da phytomenadione olarak da bilinir; sarı amber renginde, kokusuz, şeffaf sıvı olup, suda çözünmez; yağda, kloroform ve etanolde çözünür; ıspanak, brokoli, brüksel lahanası gibi yeşil ve lifli gıdalarda doğal olarak bulunur.



Şekil 2.3 K1 Vitamini (phyloquinone). Hem Phyloquinone hem de Vitamin K₂ (menaquinone) fonksiyonel bir naphthoquinone halka ve alifatik zincir içerir. Phyloquinone ayrıca fitil zincir içerir.

K2 Vitamini (menaquinone, menatetrenone) genellikle bakteriler tarafından kalın bağırsakta üretilir ve molekülün absorbe edilmesini engelleyen bir hastalık, kalın bağırsağın zarar görmesi ya da geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı söz konusu değil ise eksikliği çok nadir görülür.

K Vitamini grubunun diğer üyeleri K₃, K₄, K₅ olup sentetik olarak üretilip hayvan yemi endüstrisinde kullanılmaktadır.

K Vitamininin kan pıhtılaşmasında etkin role sahip olduğu bilinmektedir. Lazer yaralanmalarında, rosea hastalığında, yüzeysel varislerde, cerrahi sonrasında deride morarma ve ödemi gidermek amacı ile topikal kullanımı söz konusudur⁴⁶. En geniş terapötik kullanımı yeni doğanda hemorajik hastalıkların önlenmesi ve koruyucu fonksiyonudur. Bunun yanında kasti ya da kaza sonucu meydana gelebilen kumarin zehirlenmesi tedavisinde de kullanılır. Salisilat, sülfonamid, kinin ya da antibiyotiklerden kaynaklanan kanamaların medikal tedavisinde kullanılmaktadır. Haushcka et. al.'nin⁴⁷ yaptığı çalışma ise, K Vitamininin kemik formasyonunda da etkili olabileceğini ortaya koymuştur.

Kırık kemik iyileşmesindeki metabolik etkileri henüz tanımlanamamış olmakla beraber yapılan çalışmalar K Vitamininin insanda ve hayvanda kırık kemik iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir^{48,49}. Dodds et. al.⁵⁰ K Vitamini inhibitörü dikumarolun, ratta oluşturulan kırık modelinde kallus miktarını etkilemeden üretilen kemik miktarını azalttığını ortaya koymuşlardır. Osteoporoza bağlı kemik dokuda meydana gelen değişiklikler araştırıldığında osteoporozun, temporomandibular eklem kondilinde dejeneratif değişikliklere neden olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır⁵¹.

2.2.2 K Vitaminin Taşınması ve Hücreye Alım Mekanizması

2.2.2.1 K Vitamininin Dolaşımdaki Yeri: Taşınması

Radyoizotop işaretleme ile K1 Vitamini kullanılarak yapılan çalışmalarda intestinal absorpsiyondan sonra K1 Vitamini, lenf bezlerinden salgılanan ve torasik kanal yolu ile kana karışan şilomikronlarla birleşir⁵². Dolaşım sistemine girdikten sonra, K1 Vitamini hızlıca şilomikronların bilinen metabolizma yolu ile temizlenir. Şilomikronlar dolaşımda iken endotelial yüzeylerde bulunan ve şilomikron artığı (ŞA) haline gelerek lipoprotein lipaz, trigliseritlerini (TG) kaybederler. Birlikte çok düşük

yoğunlukta lipoproteinler (VLDL: very low-density lipoproteins) ile trigliseritten zengin lipoproteinleri (TRL: triglyceride-rich lipoproteins) meydana getirir ki bunlar K1 Vitamininin dolaşımını sağlayan major taşıyıcılardır. Daha az oranda ise LDL (low-density lipoproteins) ve HDL (highdensity lipoproteins) tarafından taşınmaktadır^{53,54}. Şilomikronlar ve şilomikron artıkları intestinal mukozadan derive olurken VLDL, LDL, HDL'nin çeşitli formları karaciğerden derive olur. Şilomikron artıklarının kemik tarafından emilimi diyetle alınan lipitlerin kemiğe taşınması için önemlidir. Daha kritik olan şilomikron artıklarınca taşınan K1 Vitamininin osteoblastlara taşınabilmesi ve gama-karboksilasyon için hazırda bulunmasıdır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada büyümekte olan yeşil sebzede deuterium izotopu ile yapılan işaretleme ile gönüllülerin bu bitkiyi yemesi sağlanarak fizyolojik dozda (400 µg) K1 Vitamini verilmiştir. K1 Vitamininin plazma konsantrasyonu yiyeceğin tüketilmesinden 6-9 saat sonra doruk mikara ulaşmış ve 24 saatin sonunda tekrar normal sınırlarına dönmüştür⁵⁵. İşaretlenmiş K1 Vitamininin daha sonra LDL parçalarında görülmesi esas olarak TRL aracılığı ile taşınan bu vitaminin LDL ve HDL tarafından taşındığını göstermektedir.

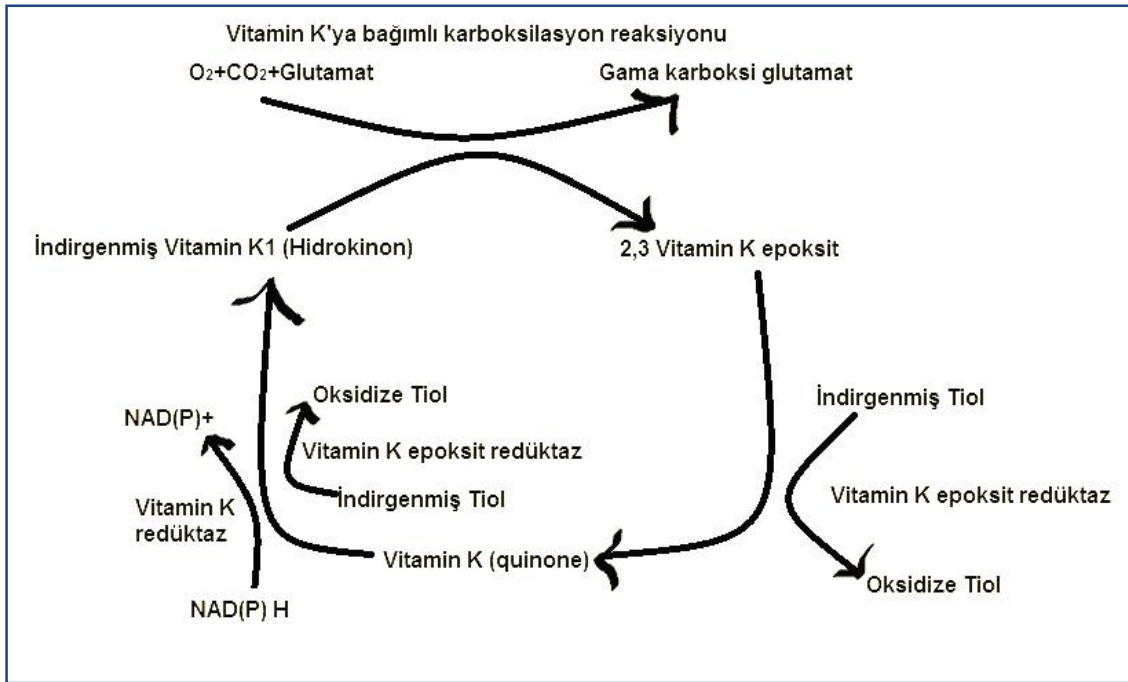
Birçok çalışma ile K1 Vitamininin dolaşımdan çok çabuk kaybolduğu ve metabolize olduğunu gösterilmiştir⁵⁶. Yıkımının bir kaç saat içinde gerçekleşmesi iztoplu takibini dahi zorlaştırmaktadır. K1 Vitamininin metabolizması iki fazdan oluşmaktadır; ilki hızlı olup 20 dakikalık bir süreyi gösterirken ikincisi 2.5 saatlik süre ise yavaş fazdır. İnsan vücudunda damar içi verilen formu %35-40 oranında kalırken oral formunda bu orana %30'a düşmektedir. Bu durum K1 Vitamininin geride kalan parçalarının yavaş dönüşüm ile fizyolojik organlarda yani kemik ve adipoz dokuda toplandığını göstermektedir^{57,58}.

2.2.3. K Vitamininin Etki Mekanizması: Gama Karboksilasyon

K Vitamini, birçok biyokimyasal metabolik yollarda kofaktör olarak çalışan bir moleküldür. En sık 'K Vitamine bağlı karboksilasyon ile kemik döngüsünde izlenir. Bu reaksiyonlarda K Vitamininin indirgenmiş formu hidrokinon, gama-glutamilkarboksilaz enzimi için kofaktör olarak glutamil rezidüelinin gamakarboksigliutamik asit rezidüeline dönüşmesini sağlayan karboksilasyon reaksiyonunda yer alır⁵⁹. Epoksit formu, Vitamin K epoksit redüktaz, kinon redüktaz ve koagülasyon faktörü II (protrombin), VII, IX ve X, protein C,protein S gibi glutamik

asit içeren proteinler yolu ile tekrar reaksiyona girer ve karboksile olur. Hepatik ve ekstra-hepatik proteinde meydana gelen reaksiyon daha fazla kalsiyum bağlanmasını sağladığı için K Vitaminine ihtiyaç duyulur. Bu nedenle K Vitaminin koagülasyon için ortamda bulunması gereklidir.^{60,61,62}

Osteokalsin içinde glutamik asitin gama-karboksilasyonu K Vitamininin varlığına bağlıdır ve glutamik asit rezidülerinin (Glu) gama-karboksilglutamik asit rezidüellerine dönüşümünü içerir. (Şekil 2.4)



Şekil 2.4 K Vitamini siklusu, glutamik asit rezidüelinin gama karboksilasyonu, spesifik proteinler üzerinden olur. Reaksiyon K Vitaminine bağımlı karboksilaz tarafından gerçekleştirilir ve indirgenmiş K Vitamini (Hidrokinon) oluşur.

Osteokalsin ya da kalbindin gibi bazı kalsiyum bağlayan proteinler gama-karboksilglutamik asit içerirler. Bu proteinler kalsiyum alımı ve kemik mineralizasyonunda yer alır. Osteokalsin sadece osteoblastlarda sentezlenir⁶². Karboksile olmayan osteokalsin hidroksiapatite bağlanamaması nedeni ile serum osteokalsin seviyesi metabolik kemik döngüsünü tespit etmek için iyi bir belirteçtir⁶³. Kan koagülasyon proteinlerinin aksine osteokalsininin total gama-karboksilasyonu için yüksek dozda K Vitaminine ihtiyaç vardır⁶⁴. Literatürde artmış serum gama-karboksile osteokalsin seviyesinin sağlıklı bireylerde Vitamin K desteği ile sağlanabileceği gösterilmiştir⁶⁵.

2.2.4. K Vitaminine Bağlı Proteinler ve Kemik

Kemikte, K Vitaminine bağımlı en az üç proteinin; Osteokalsin (OC) ya da Bone Gla Protein (BGP), matriks Gla proteini (MGP) ve protein S, olduğu bilinmektedir. Vitamin K karaciğerde depolanırken bunu takip eden doku kemik matriksi olup glutamik rezidüllerinin gama-karboksilasyonu için hedef bölgedir. Knapen et. al.⁶⁵ karboksile olmamış serum OC'nin, yeni menopoza girmiş kadınlarda kısmen, yaşlı kadınlarda belirgin derecede arttığını göstermiştir. Szulc et. al.⁶⁶ ise kalça kırığı sıklığının karboksile olmuş OC ile ters orantı gösterdiğini rapor etmiştir. Bu bulgular doğrultusunda bu durum yaşlılığa bağlı vitamin eksikliği olarak değerlendirilmiştir.

K Vitamininin kemik mineralizasyonunda yer aldığı düşünülmektedir. Çünkü bu proteinlerin gama karboksilasyonu kalsiyum ve hidroksiapatite olan afiniteyi arttırmaktadır. Osteokalsinin glutamil rezidüelinin gama-karboksilasyonuna benzer şekilde kemik kalsifikasyonu için de K Vitamini döngüsüne ihtiyaç vardır. Bu döngüde K Vitamini osteoblastlarda meydana gelen indigeyci Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidazı (NAD(P) H) taşır ve mineralizasyonda yer alır. Osteokalsin osteoblastlara özgü üretilen bir protein olup kalsifikasyonda hidroksiapatit kristallerinin büyümesini düzenlemektedir. Karboksilasyonu K Vitaminine bağlı olan osteokalsinin hidroksiapatit kristallerine bağlandığı ve kalsifikasyonu hızlandırdığı düşünülmekle birlikte yapısında taşıdığı glutamil rezidüelinin de hidroksiapatitin kristallerine bağlanarak kristalin büyümesini düzenlediği öne sürülmektedir⁶⁷.

K Vitamininin etkilerinin kemikte sadece karboksilasyon ile sınırlı olmadığı düşünülmektedir. İlk olarak 1990'lı yıllarda K Vitaminin kemik sağlığında etkin rol oynayabileceği düşünülmüş ve yaşlı bireylerde düşük serum K Vitamini seviyesi ile osteoporozla bağlı kırıkların bağlantılı olabileceği ortaya konmuştur⁶⁸. 6 aylık çift-kör plasebo kontrollü çalışmada, kemik mineral yoğunluğu günlük 45 mg K Vitamini takviyesi verilen bireylerde plasebo grubu ile karşılaştırıldığında metakarpal kemiklerdeki kemik mineral yoğunluğunun arttığı izlenmiştir⁶⁹. Bu nedenle günümüzde osteoporozun tedavisinde K Vitamininden yararlanılmaktadır.

Petursson et. al.⁷⁰ ortognatik cerrahi öncesi kan dolaşımındaki K Vitamini düzeyinin ameliyat sonrası yaklaşık olarak %3-25 oranında düştüğünü ancak 3-4 hafta içinde olması gereken normal değerlere geri döndüğünü bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada genç bireylerin kemik dokusunda yaşlı bireylere oranla daha fazla K Vitamini

bulduğunu göstermekle beraber, bu artışın nedeni bilinmemektedir⁷¹. Ortognatik cerrahi geçiren hastalarda K1 Vitamini'nin kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda tedavi amaçlı verilen K1 Vitamini'nin kırık iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir^{48,49}. Bu nedenle kırık vakalarında K1 Vitamini'nin terapötik etkisinden faydalanmak mümkün olacaktır.

2.2.5. K Vitaminin Hücresel Emilimi

Tüm lipoproteinler, lipoprotein lipaz (LPL) ve hücre-yüzey reseptörlerinin etkileşimlerini belirleyen ve bazıları yağ içeriklerinin beraberinde K1 Vitamini'in, hücreye alımını sağlayan apolipoproteinler içerir. K1 Vitamini'in farklı dokulara taşınmasının aynı yollarla olmadığı gösterilmiştir⁷². Karaciğer ve kemik farklı şekilde K1 Vitamini gereksinimi olan dokulara örnek gösterilebilir. Literatürde K1 Vitamini'in karaciğer hücreleri tarafından nasıl alındığını gösteren çalışma bulunmamasına rağmen, yeni absorbe edilen Vitamin K'nın büyük bir kısmı şilomikron artıkları ile karaciğere taşınmakta olduğu bilgisine ulaşılmıştır⁷². Diğer taraftan kemikte lipoproteinlerin alımı uzun zaman görmezden gelinmiş ve bu nedenle Vitamin K'nın kemik dokuya taşınması için gerekli yol varsayımı yapılamamıştır. Newman et. al.'nin⁷³ yaptığı çalışmada radyoizotoplu işaretlenmiş K1 Vitamini'in insan lipoproteinlerine ayrılarak osteoblast hücreleri ile inkübe edilerek, K1 Vitamini'in alımının, hücre-yüzey ilişkili heparan-sülfat-proteoglikan (HSPG)'nin enzimatik olarak çıkarılmasından sonra azaldığı görülmüştür. Bu durum Vitamin K'nın kemiklere taşınmasında LDL'nin TRL'den daha etkin olduğunu göstermektedir. Anti-apoE antiserum varlığında K1 Vitamini alımının azaldığı izlenirken lipoproteinlerin apoE eklenerek zenginleşmesini takiben arttığı izlenmiştir. Fare osteoblast kültüründe mineralizasyonun erken aşamalarında apoE geninin çok güçlü uyarıldığını ve bu aşamada TRL alımının ApoE eksikliği olanların kontrol grubuna göre daha az olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır⁷⁴. Bu sonuç apoE eksikliğinin lipoproteine bağımlı Vitamin K'nın osteoblastlara alımında fonksiyonel seviyede bozulma olduğunu göstermektedir.

2.2.6. K Vitamininin Dokularda Depolanması

Karaciğer, K Vitaminine bağımlı kan koagülasyon faktörlerinin sentezlendiği yer olması nedeni K Vitamininin depolandığı organ olduğu düşünülmektedir. İngiltere'de

kadavralarda yapılan bir çalışmada karaciğerde 12-18 pmol/g kadar K Vitamini tespit edilmiş⁷⁵. Thijssen et. al. ⁷⁶ yaptığı otopsi çalışmasında karaciğerden sonra en yüksek K Vitamini miktarı kalp ve pankreasta bulunmuş, 10 pmol/g kadar; daha az oranda beyin, böbrek ve akciğerlerde tespit edilmiş. Kemikten elde edilen yağ dokusunda da yine ağırlıklı olarak K1 Vitamini bulunmaktadır.

2.2.7.K Vitamini Eksikliği

K Vitamin eksikliğinin hamileliğin ilk üç ayında gelişmesi durumunda maksilonazal hipoplaziye neden olduğu bildirilmiştir⁷⁷. Usui et.al' nin ⁷⁸ yaptığı klinik çalışmada sindirim sistemi ameliyatı olan hastalarda operasyon öncesi ve sonrası K vitamini değerleri karaciğer biyopsisi ve serumda tespit etmişlerdir. Buna göre operasyon öncesi üç gün düşük doz K Vitamini (5µgK₁/gün) verilen grupta serum değeri hızlıca % 50 oranında azalırken, standart diyetle beslenen (150-450µgK₁/gün) grupta serum değeri yavaş seyirle %70 oranında azaldığı ve operasyon sonrası üçüncü günde doruk noktasına tekrar yükseldiği bildirilmiştir. Bu çalışmada dikkat çekici olan ise karaciğer biyopsisinde düşük doz K Vitamini alan grup, standart diyete sahip olan grubun karaciğerdeki K Vitamini miktarının %25'ine sahip olmasıdır. Yine K Vitamini eksikliğinin kemikteki glutamil rezidüeli içeren proteinlerin gama-karboksilasyonunun olumsuz yönde etkilenecek menopoz sonrası kemik kaybında rol oynadığı düşünülmüştür^{66,79}.

K Vitamininin eksikliğinde bu durumu değiştirebilmek için K Vitaminin dokulardaki dağılımı ve metabolizmasının nasıl değiştirilerek hemostazi gibi kritik bir fonksiyonun devam ettirildiği bilinmemektedir. Tam kan sayımlarında Gla proteinlerinin durumunu gösteren ve bazıları dokuya özel olan, gama-karboksilasyon belirteçleri tespit edilmiştir. Karboksile olmamış proteinlerin değerlendirilmesi için başka hangi değerlerin kullanılacağı hala tartışmalı olmakla birlikte K Vitamini'nin plazma seviyesinin ölçülmesi dokulardaki miktarını göstermek açısından doğru bir yöntemdir. Karboksile olmamış Gla-proteinlerinin değerlendirilmesi için hepatik protrombin ve kemik osteokalsin (OC) seviyeleri kullanılmaktadır. Metodolojik olarak kesinlik kazanmamış olsa da kemik osteokalsininin gama-karboksilasyon miktarının durumu, K Vitamininin biyo-ulaşılabilirliğini gösteren kemik osteokalsin değerinin total osteokalsine oranı ile açıklanmaktadır.

2.2.8. K Vitaminine Bağlı Toksikite

K1 Vitaminine bağlı allerjik reaksiyonlar görülebilsede yüksek dozda alınmasına bağlı toksisite rapor edilmemiştir. Ancak sentetik formdaki K3 Vitaminin yüksek dozlarda hemolitik anemi, karaciğer hücrelerinde sitotoksisite ve allerjik reaksiyonlar gibi etkileri nedeni ile Food and Drug Administration (FDA) tarafından satışı yasaklanmıştır⁸⁰.

2.2.9. K Vitamini ve İlaç Etkileşimleri

K1 Vitamini(filokinon) ve K2 Vitamini (menakinon), warfarin gibi antikoagülanların etkinliğini bloke edebilir. Uzun dönemde arteriyal kalsifikasyona neden olan bu ilaçların etkilerinin geri dönüşümünü sağlayabilirler^{81,82}.

2.2.10. K Vitamininin Yıkımı ve Atılımı

K Vitamini karaciğerde depolanır ancak yarılanma ömrü kısadır. Sıçan karaciğerinde en yüksek konsantrasyon oluşumu serum değerinin doruk konsantrasyonundan 1.5-3 saat sonra gerçekleşir. Bunu takip eden 10 saat yarılanma ömrü ile hızlıca azalır. Vücuda alınan K Vitamini idrar ve feçesle atılır⁸³.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 ÇALIŞMA PLANI

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezinde yetiştirilen 3 aylık, 250-300 gr ağırlığında, 75 adet dişi Wistar türü sıçan üzerinde Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulu'ndan alınan izin ile yürütüldü. Tüm hayvanlar, %1 kalsiyum, %0,7 fosfor, 1000 IU/kg D3 Vitamini ve 300 IU/kg vitamin A (Tavas 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 barındırıldı.

3.1.2 Deneysel Model

Çalışmaya dâhil edilen 75 sıçan üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu sahte operasyon (SHAM) uygulanan 25 adet sıçandan oluşturuldu. SHAM işlemi abdominal girişim ile overlere ulaşıldıktan sonra over dokuları yerlerinde bırakılarak bölgenin primer olarak kapatılması ile sağlandı. Dorsal yaklaşımla bilateral overektomi işlemi yapılan 50 adet sıçan rastgele iki gruba ayrıldı. OVX grubu overektomi işleminden sonra beslenmeleri su ve standart yemden oluşurken, VKX grubu ise standart beslenmelerinin yanında K1 vitamini verildi. (Çizelge 3.1)

Çizelge 3.1 Deney grupları. (+) Standart besine ulaşabilmeyi simgeler. Gruplardan sadece VKX'e K1 Vitamini uygulanmıştır.

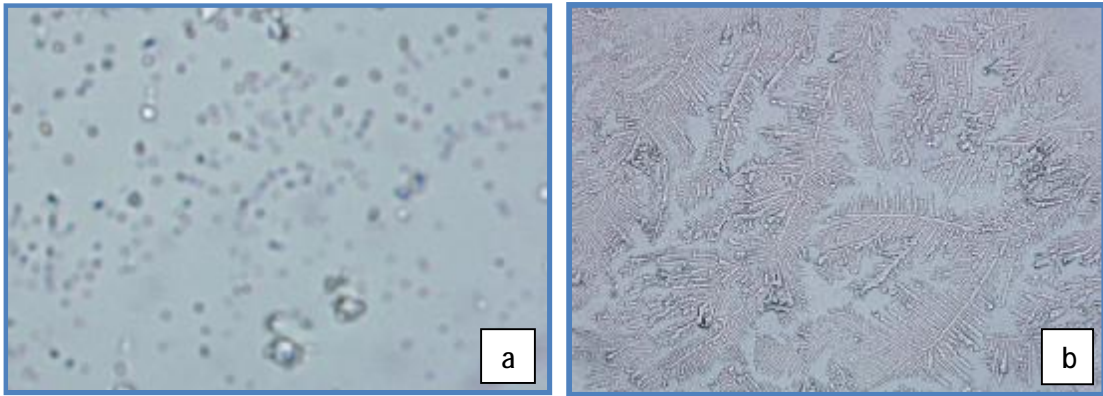
Gruplar	Deneysel Model	Hayvan Sayısı	Su+Yem	K1 Vitamini
Kontrol	(SHAM)	25	+	-
Ovariectomize+ K1 Vitamini	(VKX)	25	+	+
Overektomize	(OVX)	25	+	-

Sıçanlar ameliyat öncesinde 12 saat aç bırakıldı ve anestezisi, intraperitoneyal 20mg/kg Xylazine HCL (Rompun[®], Bayer Türk Kimya San. Ltd., İstanbul) ve 1mg/kg ketamin (Alfamyne[®], Egevet, İzmir, Türkiye) ile sağlandı. (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Hayvanlarda anestezi amacı ile Xylazine HCL ve Ketamin intraperitoneyal yöntemle uygulanmıştır. Dorsal yaklaşım ile overlere girişim sağlanmış ve overler bilateral olarak çıkarılmıştır.

Anestezi yapılan sıçanların karın bölgesi traşlandıktan sonra povidin iyodin solüsyonu ve steril cerrahi örtü ile bölgede antisepsi sağlandı. Sıçanların karın orta hattı üzerinde 2 cm'lik laparotomi insizyonu ile karın boşluğu açıldı. Overlere ulaşıldıktan sonra mezovaryum ve tuba uterina ligatüre edildi. Over dokuları çift taraflı olarak eksize edildi. Kanama kontrolünü takiben cilt ve cilt altı dokusu suture edildi. Sıçanların günlük pansumanları antiseptik ve antibiyotikli yara pomadı (Furacin %2 Pomad, ECZI Sanayi, Türkiye) ile yapıldı. Cerrahi sonrasında kafeslere alınan hayvanlara postoperatif dönemde 3 gün boyunca enfeksiyonu önlemek amacıyla kas içi Sefazolin® 50 mg/kg (Cefamezin® IM Flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) enjeksiyonu uygulandı. İki haftalık bekleme süresinin sonunda hayvanlarda overektomi işlemi, yapılan vajinal smear testi ile doğrulandı. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2 a) Overektomize sıçanda 2 haftanın sonunda yapılan smear testinde az sayıda hücreye rastlanmış, 'bozulmuş akasya dalı görünümü' hayvanların subestril dönemde olduklarını göstermektedir. b) Eustral dönemdeki bir sıçandan elde edilen smearda akasyadali görünümünde çiftleşen vajinal plaklar ile kornifiye epitel hücreleri izlenmektedir.

K1 vitamini yağda çözünen bir vitamin olması nedeni ile bağırsaklardaki emilimini arttırmak amacı ile trigliserid (Sunar ayçiçeği yağı, Adana, Türkiye) yağda çözeltisi hazırlanarak deney hayvanlarına uygulandı. Işığa ve ısıya duyarlılığı sebebi ile koyu renkli cam şişe alüminyum folyo ile kaplanarak buzdolabında korunan K1 Vitamini hayvanlara uygulanmadan önce oda ısısında ve trigliserid yağdaki çözeltisi günlük olarak hazırlandı. VKX grubundaki sıçanlara 56 gün boyunca K1 Vitamini 1mg/kg/gün dozunda gavaj yöntemi ile verildi.

Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanların yaşamı, 57.günde uygulanan intraperitoniyal 10 mg/kg Xylazine HCL (Rompun® , Bayer Türk Kimya San. Ltd.

İstanbul) enjeksiyonunu takiben dekapitasyon ile sonlandırıldı. Tüm sıçanların alt çenesi kondille birlikte çıkartıldı. Elde edilen kemikler fosfat tamponlanmış % 10 luk formalin içerisinde bekletildi.

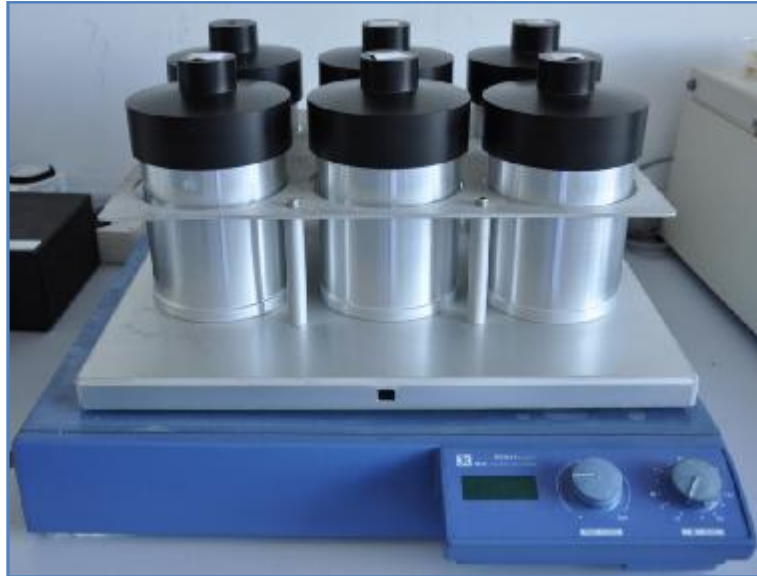
3.2 Histomorfometrik Yöntem

Histomorfometrik değerlendirme için dokuların hazırlanmasında Kürkçü ve Benlidayı'nın⁸⁴ tarafından tarif edilen, Donath ve Breuner⁸⁵ tanımladığı yönteminin modifikasyonu kullanıldı.

3.2.1 Doku Takibi ve Dehidratasyon

1. Dokuların hazırlanması: Deney hayvanından alınan örnekler daldırma ile tamponlanmış formalin ile ön tespite tabi tutuldu. Örneklerin tam olarak tespit edilebilmesi için en az 24 saat süreyle ikinci tespite tabi tutuldu.

2. Dehidratasyon işlemi: Örnekler %70, %80, %90, %96 ve %99,5'lik derişimlerde hazırlanmış 5 adet etilalkol solüsyonu içerisinde derişimleri artan sırayla 24'er saat bekletilerek kurutuldu. (Şekil 3.4) En son kapta %99,5'luk etil alkol solüsyonunda bekletilen örnekler plastik infiltrasyon safhasına hazır hale getirildi.



Şekil 3.4 Örnekler dehidratasyon banyosunda, degrade derişimlerde alkol ile su içerikleri kurutuldu.

3. Plastik infiltrasyon: Örnekler histolojik kesitlerde kullanılmaya elverişli metilmetakrilat historezin solüsyonu (Technovit® 7200 VLC, Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Germany) içerisinde, negatif basınç altında 8-12 saat süreyle tutularak dokulara infiltrasyon sağlandı.

4. Örneklerin gömülmesi ve akril polimerizasyonu: Örnekler özel şeffaf kalıplar içerisinde Technovit® 7200 historezin kullanılarak gömüldü. Hava kabarcığı olmaması için vakum altında örneklerin gömüldüğü kutular sabit 40°Cde, düşük yoğunlukta sarı ışık altında 4 saat polimerize edildi. Doku içine işlemiş olan rezinin tam olarak polimerize edilebilmesi amacıyla yüksek yoğunluklu mavi ışık (450nm) ile polimerizasyona 4 saat devam edildi. (Şekil 3.5)



Şekil 3.5: Soğutmalı ışıklı polimerizasyon ünitesi

5. Blokların ilk kesime hazırlanması ve paralel yüzey hazırlığı: Bloklar şeffaf kalıplardan çıkarılıp ve düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine polimetilmetakrilat yapıştırıcı (Technovit® 7210 VLC, Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) yardımıyla vakum altında yapıştırıldı. (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7) Örneğin lama yapıştırılmayan tarafına paralel olacak şekilde ikinci bir pleksiglas lam yapıştırıldı.



Şekil 3.6: Vakumlu ışıklı polimerizasyon ünitesi



Şekil 3.7: Kesit almaya hazır hale getirilmiş bloklar

6. Bloktan kesit alma: Örneklerden “Exakt 300 CP Hassas Kesme Sistemi” (Şekil 3.8) elmas testere ile ortalama 100-150 μm kalınlığında alınan kesitler elde edildi. Bu kesitler sonraki aşamada aşındırma ünitesinde (Exakt 400 CS microaşındırma Sistemi) 1200 ve 2500 grenli zımparalar kullanılarak 40 μm kalınlıkta olacak şekilde dekalsifiye edilmemiş kesitler hazırlandı.



Şekil 3.8: Hassas Kesme Ünitesi



Şekil 3.9: Hassas Aşındırma Ünitesi

7. Boyama: Hazırlanan dekalsifiye kesitlerin tamamı %10'luk H_2O_2 banyosunda 15 dakika bekletilerek distile su altında yıkandı. Kesitler %1'lik Toluidine Mavisi ile 30 dakika boyunca tutulup yıkandı. 8 saat karanlık ortamda kurumaya bırakılan kesitler üzerine yapıştırıcı historezin (Technovit® 7210 VLC, Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) ile lameller yapıştırıldı.

3.3. Işık Mikroskobu ile Histomorfometrik İnceleme ve Analiz

Preparatlar Olympus BX 50 mikroskopta (Olympus® BX50, Tokyo, Japan), incelendi. Dijital kamera (Olympus® DP 70, Tokyo, Japan) yardımı ile kesitlerden 4x büyütmede dijital görüntüler elde edildi. Görüntüler, kişisel bilgisayara aktarıldı ve Wintas (Version 0.1, University of Leeds, UK) ⁸⁶ kemik histomorfometri programı kullanılarak analiz edildi. Histomorfometrik verilerde Çizelge 3.2’de tanımlanan parametreler kullanıldı. (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Histomorfometri analizinde kullanılan parametreler.

BV	Kemik hacmi
BS	Kemik yüzeyi
BAr	Kemik Alanı
Tb.Th	Trabeküler kalınlık
Tb.N	Trabekül sayısı
Tb.Sp	Trabeküller arası mesafe
TbWi	Trabeküler genişlik
BS-3d	3 boyutlu kemik yüzeyi

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

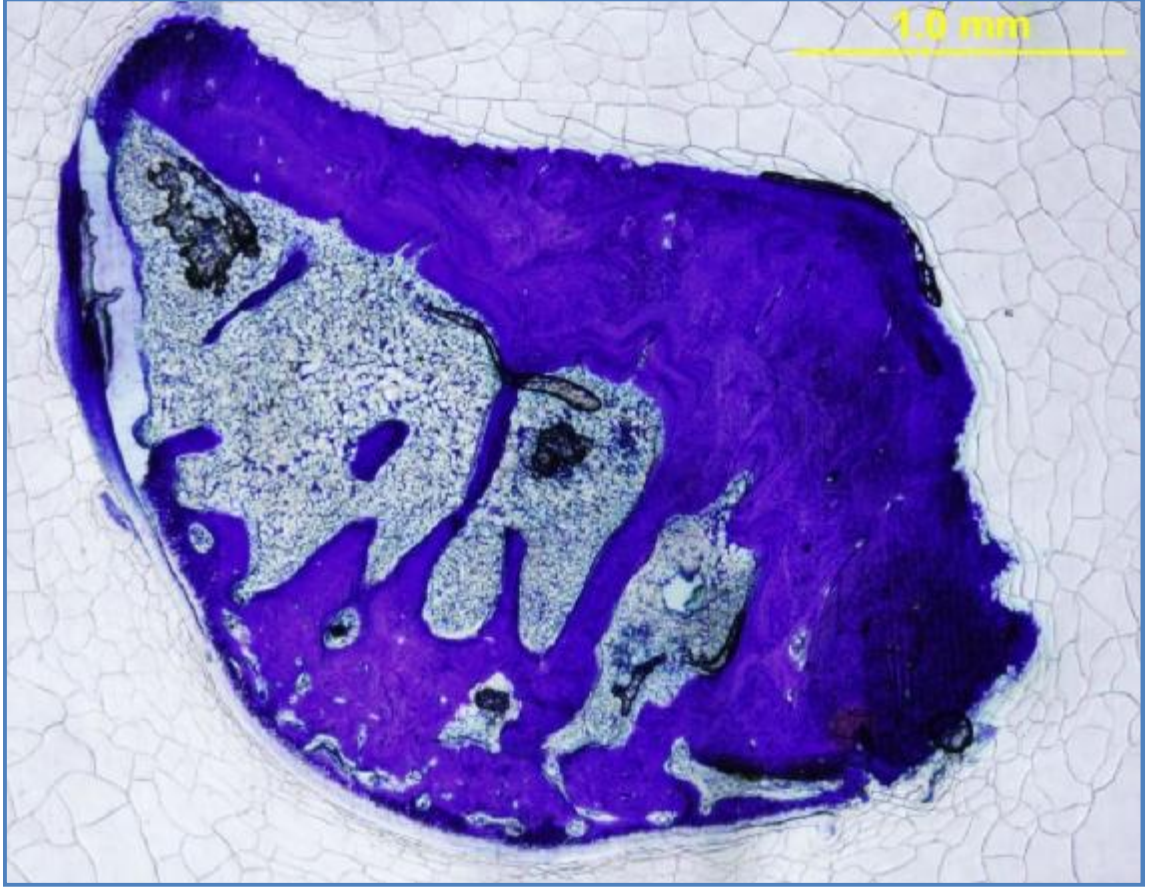
Tüm parametrelerin istatistiksel analizinde SPSS v16⁸⁷ network versiyonu kullanıldı. Sürekli değişkenlerin gruplararası karşılaştırmaları için non-parametrik ANOVA (Kruskall Wallis ANOVA) kullanıldı. Değişkenler ortalama \pm standart sapma olarak özetlendi. Çoklu grup karşılaştırmaları için Tamhane veya Bonferroni düzeltmeleri kullanıldı. Gruplar arası farklılık saptandığında farkın kaynağı non-parametrik iki ortalama arasındaki farkın önemliliği testi (Mann Whitney U testi) ile analizi yapıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4.BULGULAR

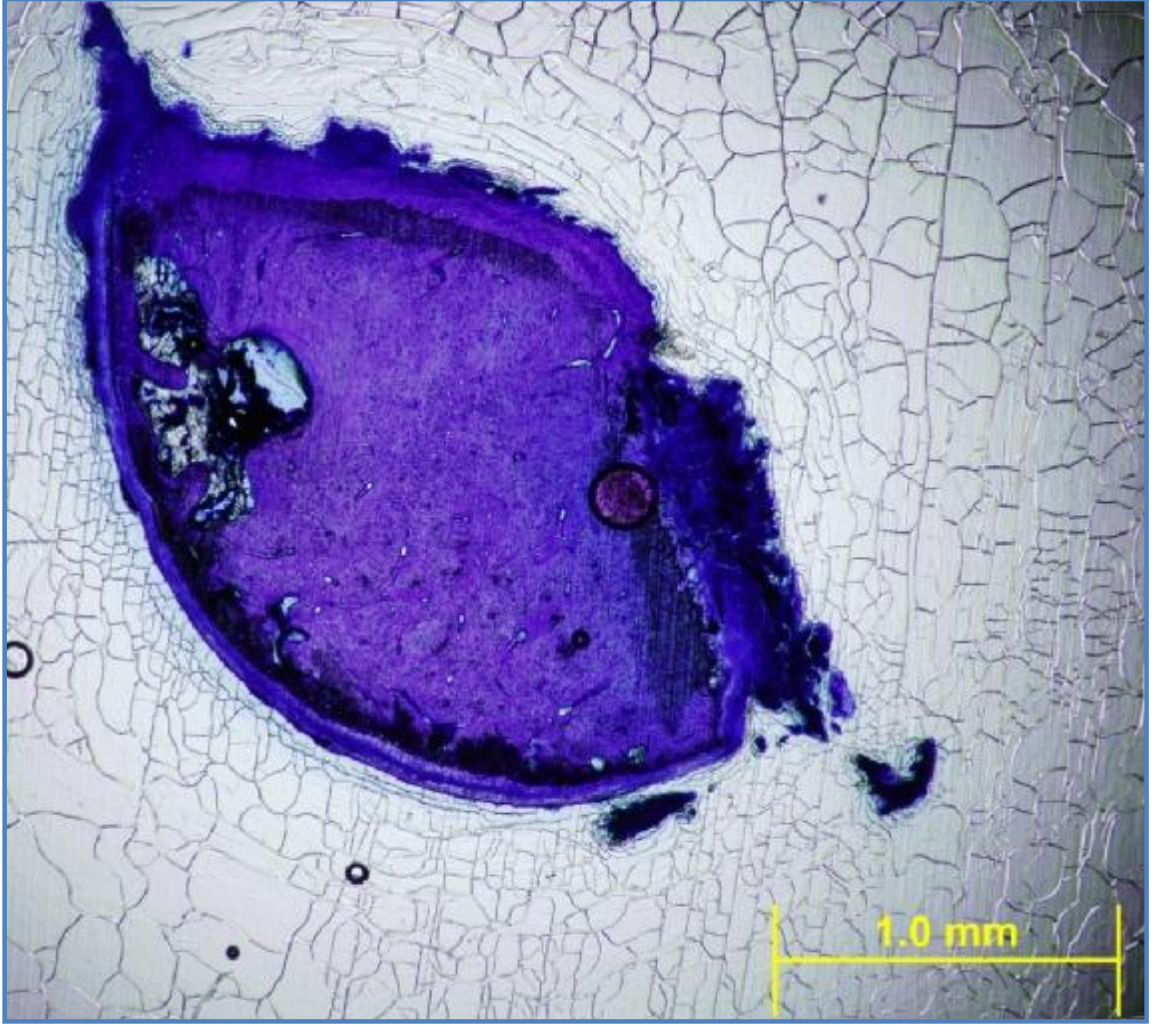
Gruplardan elde edilen kalsifiye edilmemiş TME kondil kesitlerindeki trabeküler yapının gözlemsel olarak değerlendirilmesinde; SHAM grubunda trabeküler yapı normal gözlenirken (Şekil 4.1) OVX grubunda trabeküler yapıda bozulmayla birlikte trabeküler sayıda ve kalınlığında azalma, trabeküller arası mesafede artma saptandı. (Şekil 4.2). VKX grubunda ise trabekül sayısında ve trabekül kalınlığında artma, trabeküller arası mesafede azalma gözlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.1 SHAM grubuna trabeküler yapının korunduğu ve kortikal dokunun intakt ve devamlılığının olduğu izlenmektedir.



Şekil 4.2 Overektomize oseoporotik rat modelinde temporomandibular eklem kondil trabeküler yapısının bozulduğu, trabeküller arası mesafenin artarken konektivitenin azaldığı dramatik olarak izlenmektedir. Çalışmanın sınırları içine dahil edilmemiş olsa da kortikal ve kıkırdak tabakanın bozulduğu görülmekte.



Şekil 4.3 K1 Vitamini uygulanan VKX grubuna ait bu histolojik görüntüde ovariectomy sonucunda oluşan osteoporozun etkileri izlenmekle birlikte K1 Vitamini'in kemik oluşum ve yıkımındaki dengesizliği kompanse ettiği izlenmektedir.

Tüm gruplardaki TME kondillerindeki histomorfometrik parametrelerin ortalaması Çizelge 4.1'de gösterilmektedir. VKX grubunun tüm histomorfometrik parametreleri OVX grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken ($p < 0,05$), SHAM grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0,01$). SHAM grubu ile OVX grubu karşılaştırıldığında tüm histomorfometrik parametelerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,05$).

Çizelge 4.1 Tüm grupların kondillerindeki histomorfometrik parametrelerin ortalaması ve gruplar arası istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

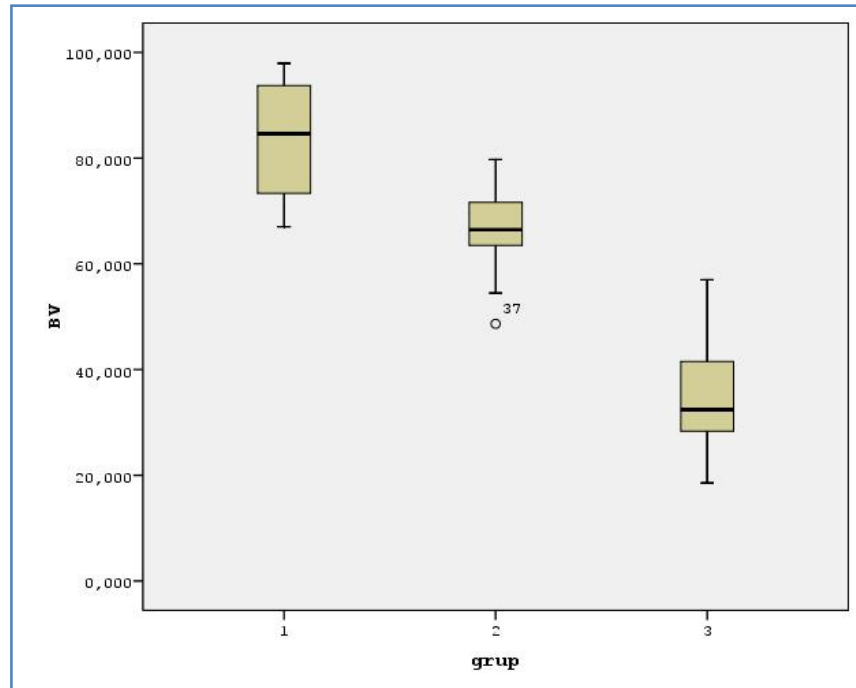
Değişken	SHAM	VKX	OVX		Çoklu karşılaştırma		
	(Grup1)	(Grup 2)	(Grup 3)		p _{tamamı}	P _{1,2}	P _{1,3}
BV	84,35±10,77	66,76±7,71	34,82±9,23	0,001	0,001	0,001	0,001
BS	55,32±44,70	85,62±30,52	62,62±41,22	0,003	0,005	0,318	0,004
TbTh	58,89±54,40	15,27±8,31	11,99±6,95	0,001	0,001	0,001	0,037
BAr	0,56±0,30	0,52±0,21	0,22±0,18	0,001	0,83	0,001	0,001
BPm	41,03±42,21	65,34±44,32	38,91±31,51	0,006	0,012	0,528	0,003
TbWi	73,70±64,50	18,22±10,01	14,37±8,33	0,001	0,001	0,001	0,04
TbN	52,81±18,20	37,53±24,71	31,91±26,76	0,001	0,001	0,171	0,02
TbSp	5,83±3,38	7,30±3,34	23,08±13,04	0,001	0,024	0,001	0,001
BS3d	44,26±37,31	71,32±25,51	52,22±34,38	0,002	0,003	0,165	0,04

SHAM, VKX ve OVX gruplarındaki kondil kesitlerinde kemik hacmi (BV), kemik yüzeyi (BS), kemik alanı (BAr), trabeküler kalınlık (Tb.Th), trabekül sayısı (Tb. N), trabeküller arası mesafe (Tb. Sp.), trabeküler genişlik (Tb.Wi.) üç boyutlu kemik yüzeyi (BS-3d) değerlerinin minimum, maksimum ve medyan değerleri Çizelge 4.2 'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Çalışma gruplarına ait histomorfometrik parametrelerin sonuçları

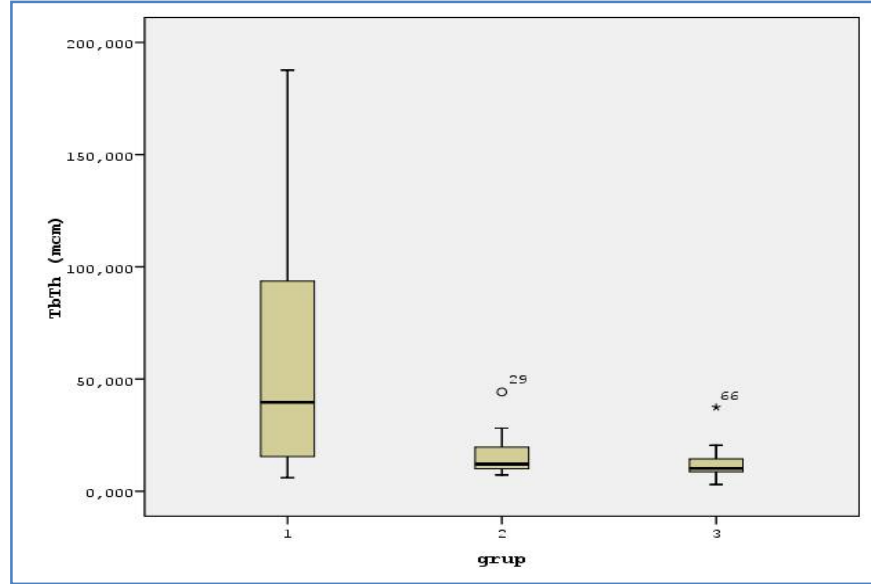
Değişken	SHAM			VKX			OVX		
	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median
BV	67	97,94	84,61	48,65	79,75	66,46	18,54	56,99	32,41
BS	8,54	173,28	39,47	29,70	147,32	89,51	20,81	212,26	52,36
TbTh	6,03	187,65	39,6	7,26	44,24	12,08	3	37,41	10,18
BAr	0,24	1,56	0,51	0,15	1,13	0,50	0,58	0,88	0,15
TbWi	7,24	225	55,93	8,7	53,04	14,47	3,57	44,85	12,20
TbN	5	104	17,41	18	88	55,57	12	127	31,39
TbSp	2	15	4,50	3	17	6,79	5	60	20,74
BS3d	7,12	144,53	22,65	24,77	122,87	74,67	17,36	177,09	43,67

Kemik hacmindeki (BV) azalma OVX grubunda belirgin izlenirken, VKX grubunda bu değer göreceli olarak OVX grubundan fazla, SHAM grubundan az bulundu. (Şekil 4.4)



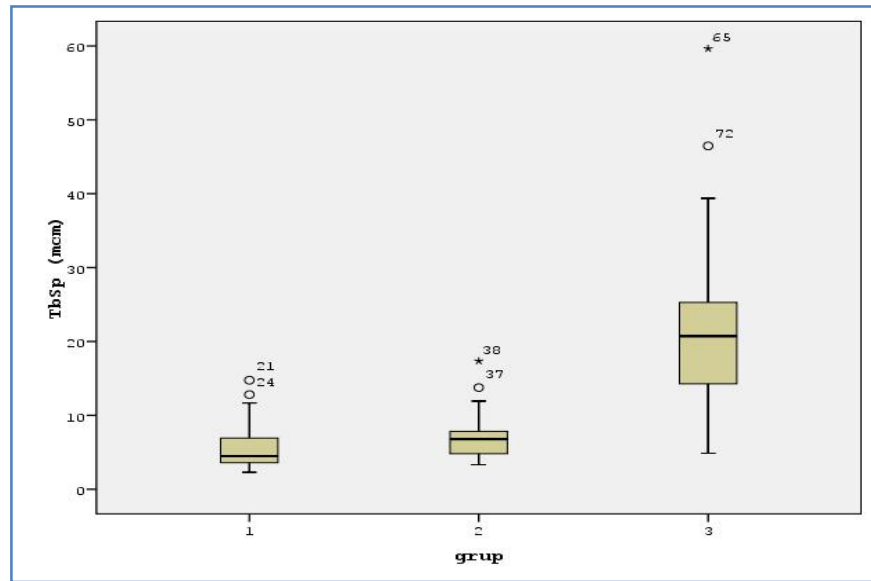
Şekil 4.4 TME kondilinin kemik hacmi oranı (Grup 1: SHAM, Grup 2: VKX, Grup 3: OVX)

Trabeküler kalınlık (Tb.Th.) değeri en yüksek oranda SHAM grubunda izlenirken, VKX ve OVX gruplarında bu değerin daha az olduğu görüldü. (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 TME kondilinin trabeküler kalınlık miktarı. (Grup 1: SHAM, Grup 2: VKX, Grup 3: OVX)

Trabeküler arası boşluk (Tb. Sp). en çok OVX grubunda izlenirken, bu değer VKX ve SHAM gruplarında çok daha az izlendi. (Şekil 4.6)



Şekil 4.6 TME kondilinin trabeküller arası boşluk (Tb.Sp) miktarı (Grup 1: SHAM, Grup 2: VKX, Grup 3: OVX)

5. TARTIŞMA

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi, kemiğin mikro mimari yapısının ve kalitesinin bozulması, kırılma riskinde artışa yol açan kemik gücünün azalması ile karakterize, sistemik bir iskelet hastalığıdır¹. Osteoporozun kısa ve uzun dönem sonuçlarında; ağrı, fiziksel yetersizlik, tedavi maliyetinde artış, yaşam kalitesinde bozulma, yeni kırık riskinde ve mortalitede artış izlenmektedir. Postmenopozal dönemde kardiyovasküler sistemden sonra en büyük riski oluşturan osteoporoz⁸⁹, fizyolojik bir sürecin sonucunda gelişmesine rağmen önlenabilir ve tedavi edilmesi gerekli bir hastalıktır².

Overektominin kemik dokuda özellikle de femur ve lumbal vertebralarda mineralizasyondaki kayıba ek olarak mekaniksel ve histomorfometrik değişiklikler yarattığı bilinmektedir⁹⁰. Temporomandibular kondilin trabeküler yapısındaki osteoporoze bağlı değişiklikler, geri dönüşümsüz dejenerasyona yol açarak ileri yaşlarda eklem sorunlarına neden olabilir. İskeletsel kemik mineral yoğunluğunun azalmasının çiğneme sistemindeki uyumu bozarak kraniomandibular düzensizliklere yol açabileceği gösterilmiştir⁹¹. Yaşlılığa bağlı olarak temporomandibular eklemde ankiloz, romatoid artrit, tümör ve kırıklar sıklıkla karşılaşılan ve hastaların yaşam standardının devamı için tedavisi yapılması gereken hastalıklardır⁹². Temporomandibular eklem kondilinde overektominin ve yaşlanmanın etkilerini inceleyen çalışmalarda, östrojen eksikliğinin, kemik iliği boşluğu alanının ciddi oranda artmasına neden olduğu bildirilmiştir⁹³. Ancak literatürde osteoporoze bağlı kondil kırığı rapor edilmemiştir.

Temporomandibular eklem kondilinin trabeküler yapısının overektomi işleminden etkilendiğini bildiren çalışmalar⁵¹ bulunmakla beraber, osteoporozun tedavisi ve önlenmesi amacı ile sıçanlarda yapılan çalışmada bifosfonatlar kullanılmış ve mikro tomografik görüntülerde yapılan ölçümlerde kondil boyutlarının ve kemik oluşum belirteçleri olan serum alkalin fosfat ile osteokalsin seviyelerinin arttığı, bununla beraber kemik rezorpsiyon belirteci olan Tip I kollagen karboksi terminal çapraz bağ telopeptidi β -CTX (Crosslaps)'in azaldığı tespit edilmiştir⁹⁴. Yine overektomize osteoporotik sıçan modelinde kemik doku mühendisliği yöntemi ile Kemik Morfojenik Protein-2 (Bone Morphogenetic Protein-2, BMP-2) kullanılarak

kemik defektlerinin tedavisinin mümkün olabileceği ileri sürülmektedir⁹⁵. Ancak overektomi sonrasında gelişen osteoporozde destekleyici K1 Vitamini kullanımının mandibular kondil üzerindeki etkilerini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla planlanan çalışmamızdan elde edilen histomorfometrik veriler, overektomi sonucunda östrojen yokluğunda gelişen osteoporozun etkilerine karşı koruyucu amaçlı K1 Vitamini kullanımının etkili olabileceğini göstermektedir.

Deneysel olarak osteoporozun oluşturulmasında kullanılan overektomi işleminin sıçanlarda kullanışlı bir model olduğu bildirilmektedir. İntrakortikal yapıda yeniden şekillenmenin görülebildiği tavşan, köpek ve domuz gibi daha büyük hayvan modellerinde daha yavaş kemik yapım-yıkım oranı izlenmektedir. İnsan ve sıçanların patofizyolojik cevaplarının benzer olması ve bunun yanında ekonomik ve kolay yetiştirilebilmesi nedeni ile en sık kullanılan hayvanlar olarak sıçanlar önerilmektedir^{96,97,98}. Literatürde overektomi sonrasında 8. haftada tibia ve vertebrada belirgin kansellöz kemik kaybı gözleendiği, bu değişikliklerin birkaç gün ile birkaç hafta arasında ortaya çıktığı bildirilmiştir⁹⁹. Bu verilere dayanarak mevcut çalışmada overektomize işlemini takiben hayvanlara ikinci haftada K1 Vitamini besin takviyesi başlanmış ve osteoporozun etkileri önlenmeye çalışılmıştır.

Overektomizenin doğrulanması sıçanlarda yapılan vajinal smear testi ile gerçekleştirilmektedir. Üretken safhada olan bir sıçanda eustrus döneminde kornifiye epitelyum hücreleri izlenirken, overektomi sonucunda sterilize edilen sıçanların subestrus döneminde olduğu ve bunun sonucunda hücre sayısında azalma ile eser sayıda lökosit, ipliksi şekilde izlenen mukus oluşumu beklenmektedir¹⁰⁰. Overektomi işlemini takiben uygulanan smear testi ile az sayıda hücre izlenmiş ve işlem sırasında pipet üzerinde biriken artık mukus salgısı ile sıçanların cinsel açıdan dönemde olmadıkları gösterilmiştir. Bu yöntemin dışında hayvan modellerinde sakrifikasyonu aşamasında otopsi ile overektomi tespiti mümkündür³⁸. Ancak bu yöntem, deneyin uygulamama aşaması tamamlandıktan sonra gerçekleştirilmektedir. Smear yöntemi otopsi ile karşılaştırıldığında basit, etkin ve çabuk sonuç alınabilir bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kemiğin saptanmış olan standart parametreler yönünden mikro mimari yapısının sayısal olarak değerlendirilmesi “kemik histomorfometri” olarak tanımlanmaktadır¹⁰¹. Histomorfometri, kortikal ve trabeküler kemikte osteoblastik aktiviteyi dinamik bir

şekilde saptayan, kemiğin mikro mimarisini, kemikteki lameller sistemi ve mineralizasyon defektlerini ortaya koyan bir yöntemdir. Matsunata et. al. çalışmalarında¹⁰² K1 Vitamini desteği verilen grupta overektomize gruba oranla tibianın yapısının daha kalın ve düzenli yapıda olduğu, trabeküler dokunun daha az bozulduğunu göstermiştir. K1 Vitamininin besin desteği olarak uygulanan iskeletsel florozisli sıçanların lumbal vertebralarında trabeküler sayı ile trabeküler kalınlığın arttığı gösterilmiştir¹⁰³. Çalışmamızda kesit alma yöntemi olarak literatürde kabul gören Donath ve Breuner'in⁸⁶ tanımladığı yöntemin modifikasyonu kullanılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen histomorfometrik veriler doğrultusunda 8 haftalık K1 Vitamini uygulamasının overektominin etkilerini dengelediği gösterildi. Kondil mikro trabeküler yapısında kansellöz kemik alanlarında, kemik yoğunluğu ölçümlerine paralel olarak VKX örneklerinde OVX gruba göre kemik hacim (BV) anlamlı olarak yüksek bulundu. BV değeri SHAM ve VKX grupları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı. Osteoid alanlar VKX örneklerinde anlamlı şekilde yüksek bulunması osteoblastik aktivitenin devam ettiğinin bir göstergesi olarak değerlendirildi. Trabeküler kemik üzerinde belirgin değişiklikler olduğu histomorfometrik değerlendirmeler ile gösterildi. Tb.N'nin VKX ile SHAM grubunda benzer olarak gerçekleşirken, OVX grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi. Bu durumu destekler şekilde trabeküller arası seperasyon (Tb.Sp) OVX grubunda artmışken, VKX ve SHAM grubunda OVX grubundan yüksek ve birbirine oldukça yakın gerçekleşti. Ayrıca mevcut trabeküller genişliğin (Tb.Wi) osteoporoz etkisiyle OVX grubunda incelendiği gözlemlendi.

Tanaka et.al.^{104,105,106} çalışmalarında mandibular kondilin kansellöz kemik hacmindeki değişiklikleri SHAM ve OVX gruplarında kondilin subkondral ve santral alanları ile anterior ve posterior alanlarında incelemiştir. Overektomiyi takiben çenelerin kemik yapısındaki değişiklikleri göstermek amacıyla yapılan çalışmada overektomili sıçanlar ve SHAM kontrol grubunun 1 yıllık takiplerinde SHAM grubunda alveoler trabekül yapısının ağ şeklindeki görünümünün koruduğu, OVX grubunda bu yapının bozulduğu bildirilmektedir. Mekanik kuvvet alan kondilin, subkondral ve anterior bölgelerinde mekanik stimulus nedeniyle kemiğin her iki grupta artış gösterdiği, ancak kondilin santral alanında östrojen eksikliği nedeniyle kemik artışının engellendiği ve kondilin posterior alanında net kemik kaybının izlendiği bildirilmiştir. Çalışmamızda OVX grubundan elde ettiğimiz histolojik kesitler literatürdeki bu veriler

ile uyumludur. OVX grubuna ait kesitlerde trabeküller arası mesafenin arttığı ve trabeküler bağlantıların azaldığını göstermektedir.

Trabeküler kemik kaybı genel bir trabeküler incelme ya da total bir yapı kaybı ya da ikisinin kombinasyonu şeklinde görülebilir. İncelme izlenen kemik dokusunda bifosfonatlar gibi anti rezorptif terapötik ajanlarla trabeküler kemik dokuda kalınlaşma sağlanabilirken total kaybın olduğu durumlarda trabekülü yerine koymak mümkün olmamaktadır¹⁰⁷. Bu çalışmada elde edilen kesitlerde OVX grubundaki trabeküler yapıda lokalize total trabeküler kaybı gösterirken, VKX grubunda göreceli olarak daha düzenli trabeküler bar yapısı izlendi. Çalışmanın sonucunda deney hayvanlarından elde edilen kondil trabeküler kemik dokusunda trabeküler bağlantıların devam ettiği, BV, Tb. Th ve Tb.Wi miktarlarının overektomili grup ile karşılaştırıldığında belirgin derecede yüksek olduğu izlendi. Ancak SHAM grubu, OVX grubu ile karşılaştırıldığında sıçanlarda trabeküler kalınlık ve trabekül sayısında azalma görülürken, trabeküller arası mesafenin arttığı belirlendi. Bu bulgular doğrultusunda OVX grubu sıçanlarda trabeküler kemik yapısında azalmanın osteoporozun etkisi sonucunda geliştiği düşünülmüştür.

Osteoporoz ile ilgili klinik çalışmalarda, osteoporozun en önemli komplikasyonları arasında yer alan kemik mineral yoğunluğundaki azalmanın ölçülebilmesi amacı ile radyodensitometrik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında en sık kullanılan Dual X-Ray Absorbsiyometri (DEXA) yöntemidir¹⁰⁸. Bireylerde uygulanması kolay ve ucuz olan bu yöntemin, özellikle sıçan gibi küçük hayvanlarda uygulanabilmesi için daha küçük piksel alanları içeren özel yazılım programlarının yanında yüksek çözünürlüklü tarayıcı kolimatöre ihtiyaç duyulmaktadır¹⁰⁹. Bu nedenle farklı radyodensitometrik yöntemler tercih edilebilmektedir. Ancak mandibular kondilin trabekül yapısının sadece DEXA ile incelemek yeterli olmamaktadır. OVX ve SHAM sıçanlarda yapılan çalışmada; kemik mineral yoğunluğunda bir farklılığın bulunmamasının kortikal kemik kalınlığının trabeküler kemiği gölgelemesi nedeni ile olabileceği ileri sürülmektedir¹⁰⁹. Ikey et. al.¹¹⁰ mekanizması tam olarak açıklanamamış olsa dahi postmenopozal osteoporozlu kadınlarda östrojen eksikliğinin mandibulanın kemik hacminde azalmanın yanında kondilin kartilajenöz kemikleşmesini de etkilediğini göstermişlerdir. Overektomize sıçanlarda yapılan histolojik çalışmada 12. haftadan sonra, östrojen eksikliğinin temporomandibular eklemden değişikliklere

neden olduğu ve osteoporözün dejeneratif eklem hastalıklarına predispozan bir faktör olabileceği öne sürülmüştür⁵¹.

K1 Vitamininin sadece kemik mineralizasyonunda değil, aynı zamanda kemik kollojen matriksinin devamlılığının sürdürülmesinde de önemlidir. Barone ve ark. K vitaminine bağımlı Matriks Gla Protein (MGP) mRNA yapımı ile ağırlıklı olarak kemik kollojen yapısını oluşturan tip I kollojen mRNA'nın aynı zamanda ve en üst düzeyde sentezlenerek kemik matriksinde birikmeye başladığını göstermişlerdir¹¹¹. Araştırmacılar K vitamininin sadece kemik mineralizasyonunda değil aynı zamanda kemik kollojen yapımında da önemli rol oynayabileceğini ileri sürmektedir.

Literatürde K Vitamininin kemik metabolizmasında rol oynadığına işaret edilmektedir^{112,113}. Bu özellikle hem K vitaminine bağımlı bir protein hem de kalsiyum iyonunu kemik matriksine bağlayan bir protein olan osteokalsinin normal kemik miktarının devam ettirilmesinde ve yeniden yapılanmasında önemini arttırmaktadır. Gelişen kemikte mevcut olan ve kemik oluşumuna katkıda bulunan osteokalsin, kemiğin yapılanmasından sorumlu olan osteoblastlardan sentezlenerek %10-30'u dolaşıma salınır. Ancak postmenopozal osteoporozda, serum osteokalsin düzeyinde artış görülür¹¹⁴. Eriksen et.al.¹¹⁵, osteoblastlar üzerindeki östrojen reseptörlerinin osteokalsin üretiminde ve K vitamini ihtiyacı konusunda direkt etkiye sahip olabildiğini ileri sürmesine rağmen, bu reseptörlerin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Miyaura ve ark¹¹⁶, östrojen ve K vitamini güçlü bir rezorbsiyon ajanı olan interlökin 6'nın inhibisyonunu sağladığını bildirirken, K Vitaminine bağımlı proteinler arasında yer alan bir diğer protein matriks Gla proteinin, vasküler kalsifikasyonu durdurduğu bilinmektedir¹¹⁷. Bu bilgi hiperparatiroidizm, hiperfosfatemi, hiperkalsemi gibi vasküler kalsifikasyonun patogenetik mekanizmasının anlaşılabilmesi ve tedavisinde K1 Vitaminin kullanımı açısından yol gösterici olabilir. Karboksile olmamış osteokalsin ve matriks Gla protein, K1 Vitamininin serum düzeyinin indirekt belirtecidir. Ancak yapılan çalışmalar da bugüne kadar K Vitaminin rolü kesin olarak tespit edilememiştir^{118,119}.

Biyofiziksel çalışmalar, ilave K Vitamini desteğinin osteotropik süreci arttırdığı ve kalsiyumu bağlayarak osteoklastik aktiviteyi yavaşlattığını göstermektedir. Genellikle antikoagülan olan K Vitamini antagonistleri ile yapılan fare çalışmalarında, epifiz ve epifizyal plakların erken kalsifikasyonu sonucu kemik dokunun büyümesinde

dramatik oranda azalma izlendiği gösterilmiştir. Bu durum primer fonksiyonu kemik ve kırıkdağın aşırı kalsifikasyonunu önlemek olan osteokalsin ve matriks Gla proteinlerindeki defekt sonucu gelişmektedir. Bu aşamada K Vitamininin varlığı önem kazanır; glutamik asitin (Glu), karboksilasyon reaksiyonunda yer alarak gama-karboksi glutamik asit (Gla) oluşumunu sağlar¹²⁰. K1 Vitamininin kemik mineralizasyonu üzerindeki etkileri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir^{121,122}. Mevcut çalışmamızda kullanılan TME kondillerinin boyutları nedeni ile kırılabilirliğini biyomekanik bir test yardımı ile test edebilmek mümkün olmamıştır. Ancak daha önce yapılan çalışmalar K1 Vitamininin mineralizasyon yapısında yer almasının mekanik direnci arttırdığını göstermektedir¹²².

Diyetle K1 Vitamini alımı ve kalça kırığı riskinin ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Günde bir veya birden fazla kıvrık salata tüketerek günlük 110 mikrogram K1 Vitamini alan bireylerin haftada bir veya daha az oranda tüketenlerden daha az kalça kırığı olduğu bildirilmiştir¹²³. Ancak çok merkezli randomize plasebo kontrollü çalışma ile K Vitaminini desteğinin postmenopozal kadınlarda osteopeni riskinin değerlendirildiği çalışmada yüksek dozda K1 Vitaminine rağmen plasebo grubu ve vitamin desteği alan gruplar arasında kemik densitesi açısından fark bulunmadığı bildirilmiştir¹²⁴. Klinik çalışmalarda perimenopozal kadınlarda K1 Vitamini desteğinin kemik densitesi ve kırık riski açısından fark olmadığını gösterilmektedir¹²⁵. K1 Vitamini desteği ve kemik yoğunluğu üzerine yapılan klinik çalışmalar arasında elde edilen sonuçların farklı olması bireysel genetik ve fizyolojik farklılıkların yanında ülkesel beslenme alışkanlıkları sonucunda da ortaya çıkabildiği bildirilmektedir. Örneğin K1 Vitamini alımı Amerikalı bireylerde 89 µg / gün iken, İngilizlerde 65 µg/gün, İskoçlarda 69 µg/gündür. Türkiye’de günlük tüketime dair bilimsel bir veri bulunmamaktadır. Stevenson ve ark.’nın¹²⁵, 2009 yılında yaptığı sistematik derlemede K1 Vitamininin allendronat gibi osteoporozda etkinliği kanıtlanmış bir ilaca göre maliyet etkinliği araştırılması gerekli olmakla birlikte yaşlı kadınlarda kırık riskini azalttığını ortaya konmuştur. Bifosfanatların osteoporozda kullanımı uzun yıllar yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Ancak bu ilaçların yarattığı BRONJ, gastrointestinal tahriş gibi komplikasyonlardan kaçınabilmek için osteoporozun tedavisinin ötesinde osteoporozun kemiklerde meydana getirdiği yapım-yıkım dengesizliğinin önlenmesini gerektirmektedir. Bu durumda doğru beslenmenin ve egzersizin önemi

vurgulanmaktadır^{6,7}. Haftada 3 gün 30'ar dakikadan yapılan fiziksel egzersizin ergenlik döneminde kazanılan doruk kemik kütlelerini, erişkinlerde ise kemik kütlelerini arttırdığı gösterilmiştir¹²⁶. Overektomize sıçanlarda yapılan fizik egzersiz deneyleri ile kemik mineral yoğunluğunun da arttırıldığı gösterilmiştir¹²⁷.

Hayat boyunca ulaşılan maksimum kemik miktarı olan Doruk Kemik Kütleli (DKK)'ne genellikle ikinci dekadın sonunda ulaşılır^{15,16}. Bu nedenle pubertal atılım döneminde dengeli beslenmenin önemi ortaya çıkmaktadır. Osteoporozun oluşma nedenleri arasında yer alan bireylerin adölesan dönemlerinde kemik yapımının az olması ileri sürülmektedir.

Mevcut çalışmada deney hayvanlarına K1 Vitamininin kemikte depolanması için yeterli olduğu bildirilen 0.1-0.3 mg/ g terapötik doz 1mg/kg/gün olarak verildi¹²⁸. Elde edilen bulgular doğrultusunda hayvan deneyi modelinde uygulanan doz ile osteoporozu karşı koruyucu etkinin gerçekleştiği söylenebilir. Ancak K1 Vitamininin etkin dozunun insanlarda belirlenebilmesi için doz-cevap çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda elde edilen olumlu cevaba dayanarak, K1 Vitamini besin desteği ile TME kondil trabeküler yapısı üzerinde osteoporozun etkilerinin en aza indirgenebileceği düşünülebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda postmenopozal kemik kaybının önlenmesi için seçtiğimiz ve geliştirdiğimiz overektomize osteoporotik sıçan modeli ile önemli sonuçlar elde edildi.
- Overektomize osteoporotik rat modelinde standart besinin yanında gavaj yöntemi ile besin desteği olarak verilen K1 Vitamininin deney hayvanlarına verilmesi, osteoporoz nedeniyle özellikle trabeküler kemikte meydana gelen değişikliklerin önlenebileceği gösterildi. Osteoporozda K1 Vitamininin besin desteği olarak alınmasının osteoporoze bağlı kırıkların oluşmasını engellediği gösterilmiştir. Bu durum osteokalsinin karboksilasyonunda gerekli olan K1 Vitamininin kemik mineralizasyonunu ve kemik yoğunluğunu arttırması ile açıklanabilir.
- K1 Vitamini ile osteoporoza karşı önleyici doz olarak 1mg/ kg seçilmekle beraber bu doz kemikte depolanması için gerekli olan 0.1-0.3 mg / g doz aralığında olup ihtiyaç duyulan günlük 65-80 mg/kg'ın üzerinde bir değerdir.
- Kemiğe yönelik yapılan çalışmalarda farklı parametrelerin ve testlerin kullanımı çalışmanın güvenilirliğini arttıracaktır. Bu çalışmada seçilen sıçanların kondillerinin anatomik olarak küçük olmasının yarattığı teknik zorluk nedeni ile biyomekanik testin uygulanamayışı trabeküler yapının direncinin ölçülmesini ve kemik mineral yoğunluğunun ortaya konması için gerekli DEXA uygulanamamıştır. Histolojik inceleme için uygun olan overektomize osteoporotik rat modelinde bu nedenle histomorfometrik inceleme uygulanmıştır.
- Yapılan bu çalışma ile TME kondil trabeküler yapısındaki histolojik değişiklikler hücresel bağlamda ortaya konmuştur ve K1 Vitamini besin desteği ile TME kondil trabeküler yapısı üzerinde osteoporozun etkilerinin en aza indirgenebileceği düşünülebilir. Ancak immunohistokimyasal araştırmalar ile bu vitaminin osteoporozun önlenmesindeki etkinliğinin açıklanabilmesinde önemli olduğu çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır

KAYNAKLAR

1. **Eryavuz M.** *Osteoporozun tanımı ve sınıflandırması*; In: Kutsal Y.G. (Ed) Osteoporoz: İstanbul, Günes Yayınevi, **2005**; 1-7.
2. **World Health Organisation (WHO).** Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* **1993**;94:646-650.
3. **Fleisch H.** *Bisphosphonates in Bone Disease From the Laboratory to the Patient.* 2. Baskı, İngiltere: Parthenon Publishing, **1995**, 115-136.
4. **Ciaschini PM, Straus SE, Dolovich LR, Goeree RA, Leung KM, Woods CR, Zimmerman GM, Majumdar SR, Spadafora S, Fera LA, Lee HN.** Community based intervention to optimize osteoporosis management: randomized controlled trial. *BMC Geriatr.* **2010**; 27:10:60.
5. **Vittinghoff E, McCulloch CE, Woo C, Cummings SR.** Estimating long-term effects of treatment from placebo-controlled trials with an extension period, using virtual twins. *Stat Med.* **2010**; 29(10):1127-36.
6. **Pazianas M, Cooper C, Ebtino FH, Russell RG.** Long-term treatment with bisphosphonates and their safety in postmenopausal osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag.* **2010**; 21(6):325-43.
7. **Manfredi M, Merigo E, Guidotti R, Meleti M, Vescovi P.** Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case series of 25 patients affected by osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **2010** Dec 14. (Epub ahead of print)
8. **Holzer G, Grasse AV, Zehetmayer S, Bencur P, Bieglmayer C, Mannhalter C.** Vitamin K epoxide reductase (VKORC1) gene mutations in osteoporosis: A pilot study. *Transl Res.* **2010**;156(1):37-44.
9. **Borrelli F, Ernst E.** Alternative and complementary therapies for the menopause. *Maturitas.* **2010**;66(4):333-43. Review.
10. **NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention: Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy.** *JAMA.* 285:785-795, **2001**.
11. **Wasnich RD.** Epidemiology of Osteoporosis. In Epidemiology of osteoporosis in the United States of America. *Osteoporos Int.* **1997**;7 Suppl 3:S68-72.
12. **Christiansen C, Riis B.** The Silent Epidemic. Post-Menopausal Osteoporosis. 1st Ed. Fagerstien Vedbaek, Denmark. (**1990**)
13. **Ferrari S.** Comparing and contrasting the effects of strontium ranelate and other osteoporosis drugs on microarchitecture. *Osteoporos Int.* **2010**; 2:437-42.

14. **Yasaku K, Ishikawa-Takata K, Koitaya N, Yoshimoto K, Ohta T.** One-year change in the second metacarpal bone mass associated with menopause nutrition and physical activity. *J Nutr Health Aging.* **2009**; 13(6):545-9.
15. **Ngyuen TV, Blangero J, Eisman JA.** Genetic epidemiological approaches search for osteoporosis genes. *J Bone Miner Res.* **2000**; 15:392-401.
16. **Salmen T, Heikkinen AM, Mahomen A, Kroger H, Komulainen M, Saarikoski S, Honkanen R, Maenpa PH.** Early postmenopausal bone loss is associated with PVU II eustrogen reseptor gene polymorphism in Finnish women: effect of hormone replacement therapy. *J Bone Miner Res.* **2000**; 15:315-321
17. **Semba RD, Garret E, Johnson BA, Guralnik JM, Fried LP.** Vitamin D deficiency among older women with and without diasability. *Am J Clin Nutr.* **2000**; 72:1529-1534.
18. **Jian WX, Yang YJ, Long JR, Li YN, Deng FY, Jiang DK, Deng HW.** Estrogen receptor alpha gene relationship with peak bone mass and body mass index in Chinese nuclear families. *J Hum Genet.* **2005**;50(9):477-82.
19. **Bilezikian JP, Morishima A, Bell J, Grumbach M.** Increased bone mass as a result of eustrogen therapy in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med.* **1998**; 339:599-603.
20. **Seeman E, Eisman JA.** Treatment of osteoporosis: why, whom, when and how to treat. *MJA.* **2004**;180(6):298-303.
21. **Gordon JD, Speroff L.** Handbook for clinical gynecologic endocrinology and infertility. 1st Ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, **2002**:298-320.
22. **Raisz LG.** Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest.* **2005**;115(12):3318-25.
23. **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.
24. **Bainbridge KE, Sowers M, 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.* **2002**; 156:410-417.
25. **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 turn-over in women: population based study. *J Clin Endocrinol Metab.* **1997**;82: 1522-1527.
26. **Kuchuk NO, Pluijm SM, Van Schoor NM, Looman CW, Smit JH, Lips P.** Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons. *J Clin Endocrinol Metab.* **2009**; 94(4):1244-50.
27. **Compston J.** Risk factors for osteoporosis. *Clin Endocrinol.* **1992**; 36: 223-224.

28. **Erkan Ö.** Postmenapozal osteoporozlu kadınlarda egzersizin kemik mineral yoğunluğu ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileri. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon A.D. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, **2000**.
29. **World Health Organisation (WHO).** Prevention and management of osteoporosis. Report of WHO scientific group. World Health Organization Technical Reports Series. **2003**;921:1-3, 53-81.
30. **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.* **1992**;55: 8-13.
31. **Salomone 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.* **1995**;10: 1762-1768.
32. **Heaney R.** Calcium needs of elderly to reduce fracture risk. *J Am Coll Nutr.* **2001**;20: 192-197.
33. **Seeman E.** Bone modeling and remodeling. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* **2009**;19(3):219-33. Review.
34. **Ahmet NR.** Ooferektomize ratlarda stronsiyum ranelat, raloksifen ve mizoprostolün kemik mineral dansitesi üzerine etkileri. Trakya Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve doğum Anilim Dalı, Doktora Tezi, Edirne, **2007**.
35. **Bord S, Ireland DC, Beavan SR, Compston JE.** The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts. *Bone,* **2003**; 32: 136-141.
36. **Fuller K, Wong B, Choi Y, Chambers TJ.** TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption. *J Exp Med.* **1998**;188:997-1001.
37. **Alper Yıldız.** Osteoporozlu Tavşan Modelinde Sistemik Zoledronik Asit Uygulamasının Titanyum İmplant Osseointegrasyonu Üzerine Etkisi. Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Doktora Tezi, Adana, **2008**.
38. **Sambrook P, Cooper C.** Osteoporosis. *Lancet,* **2006**; 367: 2010-2018.
39. **Delaney MF.** Strategies for the prevention and treatment of osteoporosis during early postmenopause. *AJOG.* **2006**;194: 12-23.
40. **Murray J Favus (edt).** Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. **3.Ed.**, Lippincott- Raven Comp Philedelphia, **1996**: 249-252.
41. **Gökçe-Kutsal Y.** Osteoporoz. **Kişnişçi H, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu L** (Editörler). Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi; **1996**.
42. **Watts WB.** Biphosphonates therapy for postmenopausal osteoporosis. *South Med* **1992**;85: 2;31.

43. **Manfredi M, Merigo E, Guidotti R, Meleti M, Vescovi P.** Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case series of 25 patients affected by osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **2010** Dec 14. (Epub ahead of print).
44. **Kumar V, Pass B, Guttenberg SA, Ludlow J, Emery RW, Tyndall DA, Padilla RJ.** Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a report of three cases demonstrating variability in outcomes and morbidity. *J Am Dent Assoc.* **2007**;138(5):602-9.
45. **Dam H.** The Antihemorrhagic Vitamin Of The Chick: Occurrence and chemical nature. *Nature*, **1935**; 135:652-9: **Bilge Çadır.** K1 Vitamini ve İskeletsel Florozis. Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Doktora Tezi, Adana, **2002**.
46. **Lou WW, Quintana AT, Geronemus RG, Grossman MC.** Effects of topical vitamin K and retinol on laser-induced purpura on nonlesional skin. *Dermatol Surg.* **1999**;25(12):942-4.
47. **Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM.** Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev.* **1989**;69(3):990-1047. Review.
48. **Çadır B, Meghji S, Hodges S, Harris M.** Aprotinin (Trasylol) and K1 Vitamini reduce tenderness in healing bone. *J Dent Res.* **1998**; 77: 775.
49. **Çadır B, Heys TD, Hodges S, Harris M, Meghji S.** The Effect of K1 Vitamini and aprotinin on bone healing. *J Dent Res.* **2000**; 79: 624.
50. **Dodds RA, Catterall A, Bitensky L, Chayen J.** Effects on fracture healing of an antagonist of the vitamin K cycle. *Calcif Tissue Int.* **1984**;36(2):233-8.
51. **Cheng P, Ma X, Li S.** Histologic study of the temporomandibular joints after ovariectomy in rats. *Chinese Journal of Stomatology.* **2000**;35(6):458-61.
52. **Blomstrand R, Forsgren L.** K1 Vitamini-3H in man. Its intestinal absorption and transport in the thoracic duct in lymph. *Int Z Vitaminforsch* **1968**; 38: 45-64.
53. **Kohlmeier M, Salomon A, Saupe J, Shearer MJ.** Transport of vitamin K to bone in humans. *J Nutr.* 1996; 126: 1192S-1196S.
54. **Lamon-Fava S, et al.** Plasma lipoproteins as carriers of phyloquinone (K1 Vitamini) in humans. *Am J Clin Nutr.* **1998**; 67: 1226-1231.
55. **Erkkilä AT, Lichtenstein AH, Dolnikowski GG, Grusak MA, Jalbert SM, Aquino KA, Peterson JW, Booth SL.** Plasma transport of vitamin K in men using deuterium-labeled collard greens. *Metabolism*, **2004**; 53: 215-221.
56. **Jones KS, Bluck LJ, Wang LY, Coward WA.** A stable isotope method for the simultaneous measurement of vitamin K1 (phyloquinone) kinetics and absorption. *Eur J Clin Nutr.* **2008**;62(11):1273-81.
57. **Olson RE, Chao J, Graham D, Bates MW, Lewis JH.** Total body phyloquinone and its turnover in human subjects at two levels of vitamin K intake. *Brit J Nutr.* **2002**; 87: 543-553. 23.

58. Shearer MJ, McBurney A, Barkhan P. Studies on the absorption and metabolism of phylloquinone (K1 Vitamini) in man. *Vitamins and Hormones*, **1974**; 32: 513–542. 24.
59. Stenflo J, Fernland P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K dependant modifications of glutamic acid residues in prothrombin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1974**;71: 2730-2734.
60. Price PA, Otsuka AS, Poser JW, Kristapanis J, Raman N. Characterization of γ -carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1976a**; 73:1447.
61. Price PA, Otsuka AS, Poser JW, Kristapanis J, Raman N. Characterization of γ -carboxyglutamic acid-containing protein from bovine bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1976b**;73: 3374.
62. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest.* **1980**;66:878-883.
63. Booth SL, Suttie JW. Dietary intake and adequacy of vitamin K. *J Nutr.* **1998**;128:785-788.
64. Binkley NC, Krueger DC, Engelke JA, Foley AL, Suttie JW. Vitamin K supplementation reduces serum concentrations of under-gamma-carboxylated osteocalcin in healthy young and elderly adults. *Am J Clin Nutr.* **2000**;72:1523-1528.
65. Knapen MHJ, Hamulyak K, Vermeer C. The effect of Vitamin K supplementation on circulating osteocalcin (Bone Gla protein) and urinary calcium excretion. *Ann. Int. Med.* **1989**; 111:1001-005.
66. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin. Invest.* **1993**; 91: 1769-74.
67. Hauschka PV, Lian JB, Gallop PM. Direct identification of calcium-binding amino acid γ -carboxyglutamate in mineralised tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1975**;72: 3925-3929.
68. Hodges SJ, Pilkington MJ, Stamp TC, Catterall A, Shearer MJ, Bitensky L, Chayen J. Depressed levels of circulating menaquinones in patients with osteoporotic fractures of the spine and femoral neck. *Bone*, **1991**; 12: 387–389.
69. Orimo H, et al. Clinical evaluation of menatetrenone in the treatment of involutional osteoporosis-a double blind multicenter comparative study with 1 α hydroxy vitamin D3. *J Bone Miner Res* **1992** (Suppl 1); 7: S122: Shearer MJ, Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K *Thromb Haemost.* **2008**;100(4):530-47.
70. Petursson S, Harrington D, Shearer M, Hoper C, Hodges SS. Circulating levels of Phylloquinone (K1 Vitamini) in patients following orthognathic surgery. *J Dent Res.* **1994a**; 72(4);689.
71. Petursson S, Hodges SS, Harrington D, Hoper C, Henderson B, Harris M. Phylloquinone (K1 Vitamini) content of young adults jaw bone. *J Dent Res.* **1994**;73(4):831).
72. Cooper AD. Hepatic uptake of chylomicron remnants. *J Lipid Res.* **1997**; 38: 2173–2192.

73. **Newman P, Bonello F, Wierzbicki AS., Lumb P, Savidge GF., Shearer MJ.** The uptake of lipoprotein-borne phylloquinone by osteoblasts and osteoblast- like cells: role of heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J Bone Miner Res.* **2002**; 17: 426–433.
74. **Schilling AF, Schinke T, Münch C, Gebauer M, Niemeier A, Priemel M, Streichert T, Rueger JM, Amling M.** Increased bone formation in mice lacking apolipoprotein E. *J Bone Miner Res.* **2005**; 20: 274–282.
75. **Niemeier A, Niedzielska D, Secer R, Schilling A, Merkel M, Enrich C, Rensen PC, Heeren J.** Uptake of postprandial lipoproteins into bone in vivo: Impact on osteoblast function. *Bone*, 2008; 43: 230-237.
76. **Thijssen HHW, Drittij-Reijnders MJ.** Vitamin K status in human tissues: tissue specific accumulation of phylloquinone and menaquinone-4. *Br J Nutr.* **1996**; 75: 121–127.
77. **Howe AM, Lipson AH, Sheffield LJ, HAAAn EA, Halliday JL, Jenson F, David DJ, Webster WS.** Prenatal exposure to phenytoin, facial development, and a possible role for vitamin K. *Am J Med Genet.* **1995**;11:58(3):238-44.
78. **Usui Y, Tanimura H, Nishimura N, Kobayashi N, Okanoue T, Ozawa K.** Vitamin K concentrations in the plasma and liver of surgical patients. *Am J Clin Nutr.* **1990**; 51: 846–852.
79. **Vermeer C, Shearer MJ, Zittermann A, Bolton-Smith C, Szulc P, Hodges S, Walter P, Rambeck W, Stöcklin E, Weber P.**Beyond deficiency: potential benefits of increased intakes of vitamin K for bone and vascular health. *Eur J Nutr.* **2004** Dec;43(6):325-35. Review.
80. **Higdon** (February 2008). "Vitamin K". Linus Pauling Institute, Oregon State University. Erişim:<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminK/>. Retrieved 2008-04-12. Erişim tarihi: **Ekim 2010**.
81. **Ansell J, Hirsh J, Poller L, Bussey H, Jacobson A, Hylek E.** The pharmacology and management of the vitamin K antagonists: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* **2004**; 126 (3 Suppl): 204S–233S.
82. **Crowther MA, Douketis JD, Schnurr T, Steidl L, Mera V, Utorri C, Venco A, Ageno W.** Oral vitamin K lowers the international normalized ratio more rapidly than subcutaneous vitamin K in the treatment of warfarin-associated coagulopathy. A randomized, controlled trial. *Ann. Intern. Med.* **2002**; 137 (4): 251–4.
83. **Kindberg CG, Suttie JW.** Effect of various intakes of phylloquinone on Vitamin K deficiency and serum and liver phylloquinone concentrations in rats. *J Nutr.* **1989**;119:175-80.
84. **Kürkçü M, Benlidayı ME.** Biyomateryal İçeren Sert Dokulardan Histolojik Kesit Hazırlanmasına İlişkin Yöntem. *Türk Oral Maksillofas Cer Derg.* **2008**.
85. **Donath K, Breuner G.** A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. *J Oral Pathol.* **1982**;11: 318-326.
86. **Wintas Version 0.1, University of Leeds, UK.**

87. **SPSS Inc.** *SPSS for Windows. Version 16.0, Chicago: SPSS Inc., 2007.*
88. **Piziak VK, Rajab MH.** An effective team approach to improve postoperative hip fracture care. *J Orthop Trauma.* **2011**;25(2):72-5.
89. **Ertüngealp E, Seyisoğlu H (Editörler).** Menopoz ve osteoporoz tarihçesi. Ulusal Menopoz ve Osteoporoz Derneği İstanbul:**2000: 1-10.**
90. **Bagi CM, Mecham M, Weiss J, Miller SC.** Comparative morphometric changes in rat cortical bone following ovariectomy and/or immobilization. *Bone.* **1993** 14: 877-83.
91. **Klemetti E, Vainio P, Kröger H.** Craniomandibular disorders and skeletal mineral status. *Cranio.* **1995** Apr;13(2):89-92.
92. **Hausamen JE, Schliephake H.** Oromaxillofacial surgical treatment in aging patients. *Z Gerontol.* **1990**; 23(6):330-7.
93. **Tanaka M, Ejiri S, Kohno S, Ozawa H.** The effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats. *J Prosthet Dent.* **1998**; 79(6):685-90.
94. **Kimura M, Miyazawa K, Tabuchi M, Maeda H, Kameyama Y, Goto S.** Bisphosphonate treatment increases the size of the mandibular condyle and normalizes growth of the mandibular ramus in osteoprotegerin-deficient mice. *Calcif Tissue Int.* **2008**;82(2):137-47.
95. **Tang Y, Tang W, Lin Y, Long J, Wang H, Liu L, Tian W.** Combination of bone tissue engineering and BMP-2 gene transfection promotes bone healing in osteoporotic rats. *Cell Biol Int.* **2008**;32(9):1150-7.
96. **Egermann M, Goldhahn J, Schneider E.** Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int.* **2005**;16(Suppl 2): 129-138.
97. **Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ.** FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone.* **1995**;17(4 Suppl):125S-133S.
98. **Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA.** The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med.* **2008**;58(5):424-30.
99. **Lane J.M., Russell L., Khan S.N.** Osteoporosis, *Clin Orthop.* **2000**:372,139-50: **Pastoriatu 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*, **1995**:5, 143-9.
100. **Monies GS., Luque EH.** Effects of Ovarian Steroids on Vaginal Smears in the Rat. *Acta Anatomica*, **1988**;133:192-199.
101. **Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR.** Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*, **1987**;2: 595-610.

- 102. Matsunaga S, Ito H, Sakou T.** The effect of vitamin K and D supplementation on ovariectomy-induced bone loss. *Calcif Tissue Int.* **1999**;65(4):285-9.
- 103. Cadir B, Kürkcü M, Oz A, Benlidayi ME.** Effects of vitamin K1 on fluoride-induced bone changes in growing rats: a histomorphometric and radiodensitometric study. *Arch Oral Biol.* **2009**;54(6):512-7.
- 104. Tanaka M, Ejiri S, Nakajima M, Kohno S, Ozawa H.** Changes of Cancellous Bone Mass in Rat Mandibular Condyle Following Ovariectomy. *Bone*, **1999**; 25(3): 339-347.
- 105. Tanaka M, Ejiri S, Nakajima M, Kohno S, Ozawa H.** Region- specific Bone Mass Changes in Rat Mandibular Condyle Following Ovariectomy. *J Dent Res.* **2000**;79(11):1907-13.
- 106. Tanaka M, Toyooka E, Kohno S, Ozawa H, Ejiri S.** Long-term changes in trabecular structure of aged rat alveolar bone after ovariectomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2003**;95(4):495-502.
- 107. An YH, Martin KL.** Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage. 1st Edition. Humana Press Totowa, New Jersey, **2003**: 331-351.
- 108. Hansen A, Obel N, Nielsen H, Pedersen C, Gerstoft J.** Bone mineral density changes in protease inhibitor-sparing vs. nucleoside reverse transcriptase inhibitor-sparing highly active antiretroviral therapy: data from a randomized trial. *HIV Med.* **2010** Aug 15.(Epub ahead of print).
- 109. Yokota H, Tonami H.** Experimental studies on the bone metabolism of male rats chronically exposed to cadmium intoxication using dual-energy X-ray absorptiometry. *Toxicol Ind Health.* **2008**;24(3):161-70.
- 110. Ikeo T, Kamada A, Goda S.** Osteoporosis and Oral Biology. *Clin Calcium.* **2007**; 17(2):150-6.
- 111. Barone LM, Owen TA, Tassinari M.S, Bortell R, Stein GS, Lian JB.** Developmental expression and hormonal regulation of the rat matrix Gla protein (MGP) gene in chondrogenesis and osteogenesis. *J Cell Biochem.* **1991**;6: 351-65.
- 112. Zittermann A.** Effects of vitamin K on calcium and bone metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care.* **2001**;4, 483-7.
- 113. Tanaka M, Ejiri S, Nakajima M, Kohno S, Ozawa H.** The Effect of Aging and Ovariectomy on Mandibular Condyle in Rats. *J Prosthet Dent* **1999**; 79(6): 685-90.
- 114. Ito M, Azuma H, Takagi T, Kamimura T.** Preventive effects of sequential treatment with allendronate and 1 α hydroxyvitamin D3 on bone mass and strength in ovariectomised rats. *Bone.* **2003**;33(1):90-9.
- 115. Eriksen E.F., Colvard D.S., Berg NJ., Graham ML, Mann KG., Spelsberg TC, Riggs BL.** Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science.* **1988**;241, 84–6.
- 116. Miyaura C, Kusano K, Masuzawa T, Chaki O, Onoe Y, Aoyagi M, Sasaki T, Tamura T, Koishihara Y., Ohsugi Y.** Endogenous bone-resorbing factors in estrogen deficiency: cooperative effects of IL-1 and IL-6. *J Bone Miner Res.* **1995**;10: 1365–73.

117. **Fusaro M, Crepaldi G, Maggi S, Galli F, D'Angelo A, Calò L, Giannini S, Miozzo D, Gallieni M.** Vitamin K, bone fractures, and vascular calcifications in chronic kidney disease: an important but poorly studied relationship. *J Endocrinol Invest.* **2010** Nov 16. (Epub ahead of print).
118. **Cranenburg EC, Koos R, Schurgers LJ, Magdeleyns EJ, Schoonbrood TH, Landewé RB, Brandenburg VM, Bekers O, Vermeer C.** Characterisation and potential diagnostic value of circulating matrix Gla protein (MGP) species. *Thromb Haemost.* **2010**;104(4):811-22.
119. **Rennenberg RJ, de Leeuw PW, Kessels AG, Schurgers LJ, Vermeer C, van Engelshoven JM, Kemerink GJ, Kroon AA.** Calcium scores and matrix Gla protein levels: association with vitamin K status. *Eur J Clin Invest.* **2010**;40(4):344-9.
120. **Lian JB, Boivin G, Patterson-Allen P, Grynblas M, Walzer C.** Calcery and calciphylaxis: timed appearance of gamma- karboxyglutamic acid and osteocalcin in mineral deposits. *Calc. Tissue Int.* **1983**;35 (4-5): 555-61
121. **Galli M, Caniggia M.** Osteocalcin. *Minerva Med.* **1984**;3;75 (42): 2489-501.
122. **Kanai T, Takagi T, Masuhiro K, Nakamura M, Iwata M, Saji F.** Serum vitamin K level and bone mineral density in post-menopausal women. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* **1997**; 56 (1): 25-30.
123. **Cheung, AM; Weber, P; Willett, WC; Rockett, H; Booth, SL; Colditz, GA; Hu, H; Vieth, R.** Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): A randomized controlled trial. *PLoS Med.* **2008**; 5(10): 1–12.
124. **Rejnmark L, Vestergaard P, Charles P, Hermann AP, Brot C, Eiken P, Mosekilde L.** No effect of K1 Vitamins intake on bone mineral density and fracture risk in perimenopausal women. *Osteoporos Int.* **2006**;17(8):1122-32.
125. **Stevenson M, Lloyd-Jones M, Papaioannou D.** Vitamin K to prevent fractures in older women: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* **2009**;13(45):iii-xi, 1-134.
126. **Bergmann P, Body JJ, Boonen S, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S, Kaufman J, Reginster JY, Rozenberg S.** Loading and skeletal development and maintenance. *J Osteoporos.* **2010**;20;2011:786752.
127. **Chen Y, Wang S, Bu S, Wang Y, Duan Y, Yang S.** Treadmill training prevents bone loss by inhibition of PPAR γ expression but not promoting of Runx2 expression in ovariectomized rats. *Eur J Appl Physiol.* **2011** (Epub ahead of print)
128. **Ronden JE, Thijssen HHW, Vermeer C.** Tissue distribution of K-vitamins under different nutritional regimens in rat. *Biochimica et Biophysica Acta.* **1998**; 1379: 16-22.

ÖZGEÇMİŞ

08.08.1979' da Antakya'da doğdu. İlköğrenimini 1990'da 5 Temmuz İlkokulu'nda, ortaöğrenimini 1997'de Kırıkhan Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2003'de Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldu. Mezuniyetinden sonra bir süre özel bir klinikte çalıştıktan sonra, 2004 Ekim ayında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Doktora Programına başladı. Kasım 2005'de Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi kadrosuna atandı. Diş Hekimliği Fakültesi'nde görevli olduğu dönemde akademik ve klinik çalışmalarını yürüttü.