

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı**

**DENEYSEL OSTEOPOROZUN SIÇAN
FEMURUNDA OLUŞTURDUĞU
BİYOMEKANİK VE HİSTOMORFOMETRİK
DEĞİŞİKLİKLERE ANJİOTENSİN II TİP I
RESEPTÖR BLOKAJININ ETKİSİ**

Barış Özgür DÖNMEZ

Doktora Tezi

Antalya, 2010

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı**

**DENEYSEL OSTEOPOROZUN SIÇAN
FEMURUNDA OLUŞTURDUĞU
BİYOMEKANİK VE HİSTOMORFOMETRİK
DEĞİŞİKLİKLERE ANJİOTENSİN II TİP I
RESEPTÖR BLOKAJININ ETKİSİ**

Barış Özgür DÖNMEZ

Doktora Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Nurettin OĞUZ**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından (Proje no: 2007.03.0122.006) desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2010

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulu ve Akdeniz Üniversitesi Senato Kararı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 22/06/2000 tarih ve 02/09 sayılı Enstitü Kurul kararı ve 23/05/2003 tarih ve 04/44 sayılı Senato kararı gereğince "Sağlık Bilimleri Enstitülerinde lisansüstü eğitim gören doktora öğrencilerinin tez savunma sınavlarına girebilmeleri için, doktora bilim dalında SCI tarafından taranan dergilerde en az bir yurtdışı yayın yapması gerektiği" ilkesi gereğince yapılan yayınların listesi aşağıdadır.

- 1- **Donmez B.O.**, Ağırđır B.V., Sindel M. Important anatomical landmarks in the lateral nasal wall. Saudi Med J. 2005 Sep;26(9):1403-8

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Doktora Programında
Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. / / 2010

Tez danışmanı : Prof. Dr. Nurettin OĞUZ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Salih Murat AKKIN
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Nilüfer BALCI
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon
Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. L. Bikem SÜZEN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Levent SARIKCIOĞLU
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri
tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim kurulunun / / 2010 tarih ve
..... / sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr.İsmail ÜSTÜNEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

Son yıllarda Renin anjiotensin sisteminin sadece dolaşım sistemi ile ilgili olmadığı başta kemik doku gibi diğer bazı dokular üzerinde de etkili olduğu ortaya koyulmuştur. Özellikle hücre kültürü çalışmalarında kemik dokuda Ang II Tip 1 reseptörlerinin eksprese oldukları bilinmektedir. Çalışmamızda Ang II tip 1 reseptör blokleri olarak Losartan'ın overektomize ratların femurları üzerinde meydana getirdiği biyomekaniksel ve histomorfolojik değişiklikler ortaya koyulması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 120 adet Wistar cinsi yetişkin dişi rat kullanılmıştır. Deney hayvanları her bir grupta 15 adet olmak üzere 8 gruba ayrılmıştır. İlk 5 grup tedavi grubu olarak planlanmıştır. Bu gruplar kontrol (KONT), sham (SHAM), Losartan tedavi (KONT+LOS), overektomi (OVX) ve overektomi tedavi grubudur (OVX+LOS). Son 3 grupta ise Losartan'ın osteoporoz oluşum sürecine etkisi araştırılmıştır ve bu gruplar ise 12 haftalık overektomi grubu (OVX-1), 12 haftalık Losartan tedavi (KONT-1-LOS) ve 12 haftalık overektomi tedavi grubudur (OVX-1-LOS).

Çalışmamızda AT1 reseptör blokleri olarak Losartan kullanılmıştır ve 5 g/kg/gün gavaj yoluyla deneklere verilmiştir. Bütün gruplardan elde edilen femurların kemik mineral yoğunluğu ölçümleri DEXA cihazı ile yapılmıştır ve daha sonra biyomekanik testler ve histomorfometrik analizler için kullanılmıştır. Losartan tedavisi sonrası OVX-LOS grubunun KMY değeri kontrol grubu seviyesine gelmiştir. Çekme testi sonuçlarına göre ise OVX-LOS grubunun tensile strength değerinin arttığı ve tensile strain değerlerinin ise OVX grubuna göre azaldığı görülmüştür. Eğme testlerinde ise OVX-LOS grubunun flexural strength ve flexural modülüs değerleri OVX grubuna göre artmıştır. Histomorfometrik ölçümlere göre ise OVX grubuna ait femurların alveolar alanlarının yüzde oranlarının arttığı öte yandan OVX-LOS grubunda yapılan ölçümlerde bu alanların oranları OVX grubuna göre daha yüksek oranda çıktığı görülmüştür.

Öte yandan OVX-1-LOS ile OVX-1 gruplarının KMY ve yüzde alveolar alan değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunamamıştır. Bu gruplarda yapılan eğme deneylerinde fleksural strength ve fleksural modülüs, çekme deneylerinde tensile strength, stiffness, young modülüs ve EAC değerleri OVX-1 grubunda KONT grubundan istatistiksel olarak daha düşük görülmesine rağmen OVX-1-LOS grubunun bu değerleri OVX-1 grubundan istatistiksel olarak daha yüksektir.

Sonuç olarak Losartan overektomi yapılmış ratların biyomekanik karakterlerini geliştirmekle birlikte, kemik kütlesini artırmış ve trabeküler bağlantıları daha kuvvetli hale getirerek osteoporozun femur üzerindeki ağır etkilerini ortadan kaldırmıştır. Bu sonuçlar ışığında gelecekte AT1 reseptör blokerlerinin osteoporoz tedavisinde etkin bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz

Anahtar kelimeler: Osteoporoz, Biyomekanik, Femur, Anjiotensin, Losartan, KMY

ABSTRACT

Renin angiotensin system (RAS) is operating not only systemically but also locally in several tissues, have been also studied in bone microenvironments. Osteoblasts and osteoclasts are known to express Ang II type I (AT1) receptor in cell cultures, suggesting the existence of local RAS in bone. Our study was designed to investigate the effects of losartan on ovariectomized rats' femur, since the effect of AT1 receptor blocker on biomechanical parameters and histomorphometric alterations of osteoporotic bone has not been studied yet.

In this study, 120 female Wistar rats were used. The animals were divided into eight groups as Control (n=15) (CONT), sham operated (n=15) (SHAM), losartan treated control (n=15) (CONT+LOS), ovariectomized (n=15) (OVX), losartan treated ovariectomized (n=15) (OVX+LOS), ovariectomized (12 weeks) (n=15) (OVX-1), losartan treated control from first day (12 weeks) (n=15) (CONT-1-LOS) and losartan treated ovariectomized from first day of ovariectomized (12 weeks) (n=15) (OVX-1-LOS).

Losartan as AT1 receptor blocker was administered via oral gavage for 8 weeks. Bone mineral density was measured using dual energy X-ray absorptiometry, while tensile and three-point bending tests were performed for evaluation of biomechanical properties of bone. The structural properties were analyzed by scanning electron microscopy and the captured images were quantified using image analysis software. There was a significant decrease in BMD values of OVX group which were reversed by losartan treatment. According to tensile test results; ultimate tensile strength and strain values of OVX+LOS group increased and decreased respectively when compared to that of OVX group. Losartan treatment also caused a significant recovery in flexural strength and modulus parameters regarding respective control values, which means OVX+LOS group had more force tolerance until break than OVX group. Histomorphological results revealed that; the ratio of alveolar cavities of OVX rat femurs was significantly higher than CONT rat femurs and it was significantly decreased after losartan treatment. There was no significant difference between OVX-1-LOS and OVX-1 according to BMD values and the ratio of alveolar cavities. There was a significant increase in all biomechanical parameters (flexural strength, flexural modulus, tensile strength, stiffness, young modulus and EAC) of OVX-1-LOS according to OVX-1 group.

In conclusion, losartan increased strength, mass and trabecular connections of ovariectomized rat femurs. Therefore, it is tempting to speculate that drugs including AT1 receptor blocker may be used for treatment of osteoporosis or reduction of detrimental effects governed by in the future.

Key words: Osteoporosis, Biomechanics, Femur, Angiotensin, Losartan, BMD

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde katkıları olan;

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet SARIKANAT'a, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı Uzmanı Dr. Pınar KOÇ'a, Süleyman Demirel üniversitesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Semir ÖZDEMİR ve Dr. Nazmi YARAŞ'a, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim çalışanları Arife DEMİRTOP ve Hakan ER'e, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi personellerine, Akdeniz Üniversitesi Foto-film Merkezi sorumlusu Necati SAĞIROĞLU'na, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Ve bana her zaman koşulsuz destek veren eşim Melek ve sonradan aramıza katılan kızım Elifnaz'a teşekkür ederim.

Barış Özgür DÖNMEZ
Antalya, 2010

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusunun Genel Özellikleri	3
2.2. Kemik Doku ve Kalsiyum İlişkisi	7
2.3. Kemik Oluşumu ve Rezorbsiyonu	7
2.4. Femur Anatomisi (Femurun işlevsel anatomisi)	8
2.5. Femur Başının Arteriyel Beslenmesi	10
2.6. Osteoporoz ve Kemik Doku İlişkisi	12
2.7. Kemiğin Biyomekanik Özellikleri ve Mineral Yoğunluğunun Kemik Kırılmağına Etkisi	13
2.8. Deneysel Osteoporoz Modeli	15
2.9. Kemik Dokuya Uygulanan Biyomekanik Testler	16
2.10. Renin Anjiotensin Sistemi (RAS)	17
2.11. Anjiotensin Kemik Doku İlişkisi	18
MATERYAL METOT	19
3.1. Deney Grupları	19
3.2. Overektomi ve Losartan Tedavisi	20
3.3. Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçümü	21
3.4. Histomorfometrik Analiz	21
3.4.1. Dekalsifikasyon	21
3.4.2. SEM Takibi	21
3.4.3. Kurutma ve Kaplama	22
3.4.4. Trabeküler Kemikteki Alveolar Alanların Yüzde Hesaplanması	22
3.5. Biyomekanik Testler	23
3.5.1. Femurların Hazırlanması	24
3.5.2. Gömme İşlemi	24
3.5.3. Çekme Testleri (Tensile Test)	24
3.5.4. Eğme Testleri (Three Point Bending)	25
3.5.5. Femurun Kesit Yüzey Alanının Hesaplanması	26
3.5.6. Biyomekanik Verilerin Hesaplanması	26
3.5.6.1. Çekme Testi Verilerinin Hesaplanması	26
3.5.6.2. Eğme Testi Verilerinin Hesaplanması	28
3.5.7. İstatistiksel Analiz	30

BULGULAR	31
4.1. Biyomekanik Bulguları	31
4.1.1. Çekme Testi Bulguları	31
4.1.2. Eğme Testi Bulguları	34
4.2. Histomorfomerik Bulgular	36
4.3. KMY bulguları	38
TARTIŞMA	40
SONUÇ	45
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	52
EKLER	53

Ek-1: Donmez B.O., Ağırđır B.V., Sindel M. Important anatomical landmarks in the lateral nasal wall. Saudi Med J. 2005 Sep;26(9):1403-8

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Dekalsifiye edilmiş bir fibula kemiği	3
2.2. Bir uzun kemiğin genel yapısı	5
2.3. Femur'da bulunan kuvvet çizgilerinin şematik görünümü	6
2.4. Osteoklast, Osteoblast ve Osteosit'lerin görünümü	7
2.5. Uzun kemiğin boyuna kesiti	9
2.6. Uzun kemikte trabeküler yapının gerilme doğrultusunda Yönlenmesi	9
2.7. A. femoralis ve dallarının önden görünümü	10
2.8. A. retinacularis superior ve inferior'un dağılımı	11
2.9. A. circumflexa femoris lateralis ve medialis ile a. retinacularis superior'un caput femoris ve collum femoris bölgesinde görünüşü	11
2.10. Osteoporotik ve normal kemiğin görünümü	13
2.11. Tedavi edilmiş ve edilmemiş iki farklı kemiğin kuvvet-uzama, kırılabilirlik-uzama ve mineralizasyon arasındaki ilişki	15
2.12. A) Çekme deneyi B) çekme deneyi şematik görünümü	16
2.13. A) Eğilme deneyi B) eğme deneyinin şematik görünümü	16
2.14. Sistemik renin-anjiyotensin sisteminin şeması ve olası fizyolojik etki alanları	17
3.1. 60x büyütmedeki SEM görüntülerinden Image J programı ile caput femoris bölgesinin toplam yüzey alanı ve alveolar alanların hesaplanması	23
3.2. Biyomekanik testler için kullanılan germe-kopartma cihazı	23
3.3. Akrilik içene gömülerek çekme deneyine hazırlanmış bir femur	24

3.4.	Akriliğe gömüldükten sonra çekme deneyine alınan bir kemik	25
3.5.	Eğme testi yapılan bir kemik	25
3.6.	Bir femurun yüzey alanının Image J programı ile hesaplanması	26
3.7.	Çekme deneyi sonunda elde edilen örnek grafik	27
3.8.	Eğilme deneyinde kullanılan örnek kuvvet-çökme grafiği, kemik dokunun dairesel kesit alanı ve eğilme deneyinin şematik görünümü	29
4.1.	Overektominin 12. Haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin ratların femurları üzerindeki etkilerinin çekme testi ile gösterilmesi.	33
4.2.	Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin ratların femurları üzerindeki etkilerinin çekme testi ile gösterilmesi	34
4.3.	Overektominin 12. haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin eğme testleri sonucunda hesaplanan flexural strength ve flexural modülüs değerlerine etkisi	35
4.4.	Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin eğme testleri ile hesaplanan flexural strength ve flexural modülüs değerlerine etkisi	35
4.5.	Overektominin 12. haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin SEM görüntüleri sonucunda hesaplanan alveolar alanların yüzde oranına etkisi	36
4.6.	20 haftalık ve 12 haftalık grupların caput femoris bölgesinden 60x büyütmede elde edilen SEM görüntüleri	37
4.7.	Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin SEM görüntüleri sonucunda hesaplanan alveolar yapıların yüzde oranına etkisi	38
4.8.	Overektominin 12. haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin KMY değeri üzerine etkisi	39
4.9.	Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin KMY değeri üzerine etkisi	39

TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
3.1.1. Deney grupları	20
4.1.2. Bütün grupların KMY, çekme ve eğme testlerinden elde edilen değerler ile yüzde alveolar alan değerleri	32

KISALTMALAR DİZİNİ

Ang	Anjiotensin
AT1	Anjiotensin tip 1 reseptörü
RAS	Renin anjiotensin sistemi
EAC	Enerji absorpsion capacity
ACE	Anjiotensin converting enzime
OVX	Overektomi
LOS	Losartan
KMY	Kemik mineral yoğunluğu
SEM	Scanning electron microscopy

GİRİŞ ve AMAÇ

Osteoporoz, bütün dünyada çok yaygın olarak görülen önemli bir sağlık problemidir. Yüzyılımızın eriştiği teknolojik düzey insanların yaşamını uzatıp, yaşam kalitesini artırarak daha az hareketli kolay bir yaşam biçimi sunmuştur. Bu da osteoporozdan ve osteoporozun neden olduğu sekonder hastalıklarda önemli miktarda artışa neden olmuştur. Bunun yanında, osteoporozun hem kendisine hem de en önemli komplikasyonu olan kırıkların tedavisine yönelik olarak yapılan yatırımlar ve iş gücü kaybının maliyeti yüzyılımızda ülkelerin önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır [30, 35, 43, 84, 92].

Menapoz, östrojen konsantrasyonundaki azalma ve bununla birlikte hızlı bir şekilde kemik kütlelerinin azalması ile karakterize bir hastalıktır [4, 17, 31, 33, 73]. Özellikle postmenopozal dönemde ovaryumlardan östrojen salgılanmaz. Östrojen eksikliğine bağlı olarak da kemiklerde kalsiyum ve fosfat birikimi, kemik matriks ve osteoblastik aktivite azalır. Bu değişimler bazı kadınlar da ciddi boyutlarda olup osteoporozla sonuçlanır. Bu olaylar sonucunda meydana gelen postmenopozal dönemde gelişen osteoporoz kemikleri zayıflatarak kırıklara neden olur [6, 23, 30-31, 35, 43, 59, 70, 77, 83]. Özellikle ileri yaşlarda gelişen kalça ve vertebra kırıkları [4, 19].önemli mortalite ve morbilite nedeni olarak karşımıza çıkar.

Renin anjiotensin sistemi (RAS) vasküler tonus, sıvı - elektrolit dengesi ve sempatik sinir sistemini etkileyerek kardivasküler homeostastik önemli rol oynayan enzimatik bir yapıdır [26]. RAS'nin biyolojik etkisi esas olarak anjiyotensin II (Ang II) yoluyla gerçekleşir [67, 89]. Ang II reseptörlerinin sinyal iletim mekanizması iyi bilinmektedir. Ang II'nin bilinen vazokonstriksiyon, aldosteron salımı, sempatik iletimin uyarılması ve hücre büyümesi gibi hemen tüm biyolojik etkileri tip I reseptörü (AT1) aracılığı ile gerçekleştirilir [24, 26-27, 67].

Anjiotensin inhibitörü içeren ilaçlar pek çok hastalığın tedavisinde sistemik bir düzenleyici olarak kullanılmaktadır [44, 54, 67, 72]. Bununla beraber bu ilaçların kemik doku üzerine etkisinin olduğu da ortaya konulmuştur [57, 72].

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda beta blokörlerinin ve antihipertansif ilaçların özellikle yaşlı insanlarda kırık riskini artırdığı ortaya koyulmuştur [50, 57, 90]. RAS'nin ise sadece sistemik olmadığı aynı zamanda bazı dokularda da lokalize olduğu ortaya koyulmuştur [50, 55, 75]. Öte yandan Wiens ve ark.[90] RAS'nin Ang II üzerinden kemik dokuda zararlı etkiler yarattığını belirlemişlerdir. Bu etkilerin özellikle anjiotensin converting enzim inhibitörlerinin ve anjiotensin reseptör blokörlerinin kemik mineral yoğunluğuna ve kırık riskine etki etmesiyle ortaya çıkarılmıştır [90]. Bunlara ek olarak overektomi yapılmış sıçanların kemik dokularından elde edilen hücre kültürlerinde Ang II'nin kemik hücrelerinin geri emilimini artırdığı ve bunun AT1 reseptörleri üzerinden gerçekleştiği bildirilmiştir

[44, 50, 81]. Anjiotensin indirek olarak kemik iliği kapillerlerine, direk olarak da anjiotensin tip I reseptör üzerinden osteoblastlara etki eder [47, 49, 72]. Anjiotensin II nin ise kalsiyum metabolizmasına zarar verdiği ve sağlıklı bireylerde plazmada kalsiyum iyonu seviyesini azalttığı gösterilmiştir [42, 54, 72].

Bu bilgilere dayanarak anjiotensin inhibitörlerinin osteoporozu düzeltici ve osteoporoz oluşumunu engelleyici etkisinin var olabileceği düşünölmektedir. Menopoza bağlı gelişen osteoporozun modellendiği overektomili ratlarda anjiotensin II tip I reseptör blokörü olarak Losartan'ın postmenoposal dönemde femurda meydana gelen deformasyon üzerinde tedavi edici etkisi olup olmadığını ve osteoporoz oluşum süreci üzerine etkilerini göstermek amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

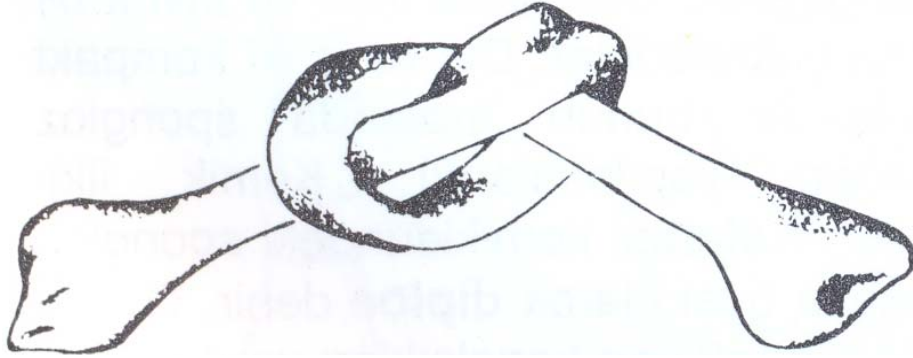
2.1. Kemik Dokusunun Genel Özellikleri

İskeletin ana yapısını oluşturan kemik dokusu, yumuşak yapıları destekler, kafatası ve thorax boşluklarında olduğu gibi, hayati önem taşıyan organları korur ve kan hücrelerini yapan kemik iliğini barındırır. Kemik doku aynı zamanda kalsiyum, fosfat ve diğer iyonlara ait bir depo olarak iş görür ve bu önemli iyonların vücut sıvılarındaki değişimlerini sabit tutabilmek için, kontrollü olarak salıverilmesini ya da tutulmasını sağlar [51, 91].

İnsan vücudunda bulunan kemikler sağlam ve dayanıklı oluşumlardır. Kemiğin dayanıklı olması yapısının sert ve elastiki olmasından kaynaklanmaktadır. Kemik dokusunun hücreler arası maddesinin kesilmeyecek kadar sert bir destek dokusuna sahip olması kemiği organizmanın en sert yapılarından biri haline getirir. Kemiklerin basınç, çekilme ve bükülmelere karşı dayanıklı olmalarını hücreler arasında bulunan kolajen lifler, proteoglikan, glikozaminoglikan ve glikoproteinlerden zengin amorf organik maddeler sağlar. Bunlara ek olarak kalsiyum tuzlarının çökmesi sonucu oluşan sertleşme kemiğin dayanıklı olmasının en önemli nedenlerinden biridir [25].

Kemik dokusunun yaklaşık %30-40'ını organik maddeler oluşturur. Kemik dokuda bulunan organik maddelerin %95'i kolajen liflerden oluşur. Geriye kalan %60-70'ini ise inorganik maddeler oluşturur ki bunlar kalsiyum fosfat (%85), kalsiyum karbonat (%10), magnezyum fosfat (%1,5), kalsiyum florit ve kalsiyum klorit gibi bazı alkali tuzları içerir [5, 22, 25, 41].

Organik maddeler kemiğin elastikiyetini, inorganik tuzlar ise sertliğini sağlar. Kemik düşük konantrasyonlu asit çözeltisine (örn. %10 HCl çözeltisi) bırakıldıktan sonra incelendiğinde, kemiğin şeklinin bozulmadığı ancak yumuşadığı görülür. Asit çözeltisinin etkisi ile kemiğin bükülmesi; kemiğin sertliğini sağlayan inorganik tuzların bu çözeltide erimesi ile açıklanabilir [5, 22, 25, 41] (Şekil 2. 1).



Şekil 2. 1. Dekalsifiye edilmiş bir fibula kemiği [25]

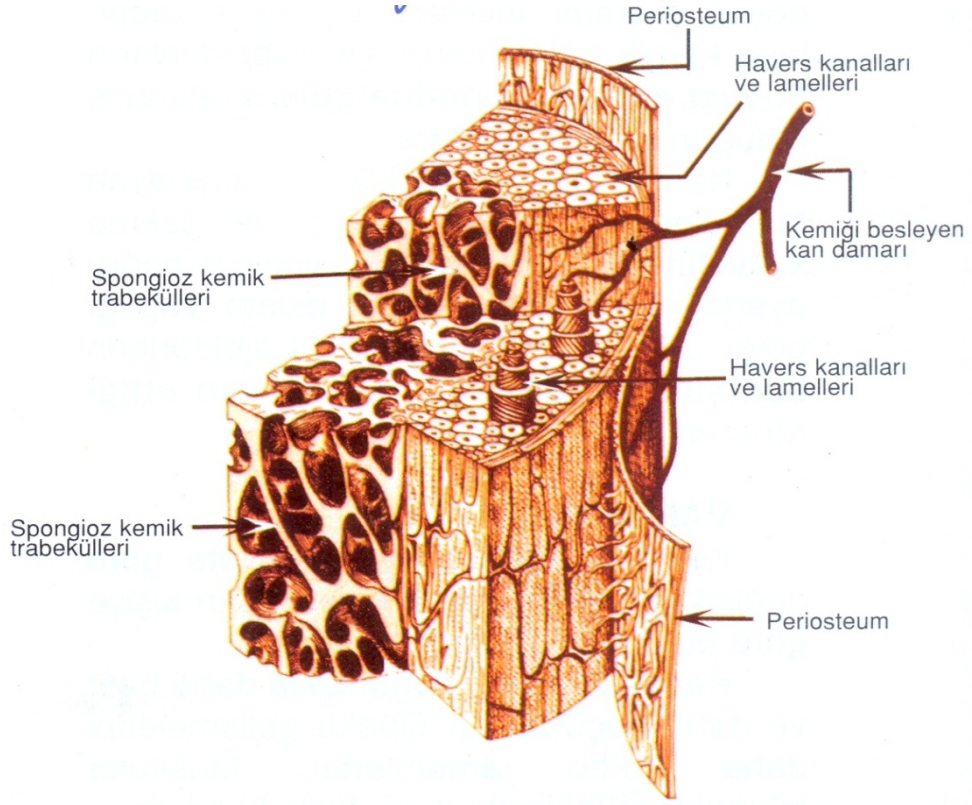
Kemik yakıldığında, kemiğin şeklinin bozulmadığı ancak küçük bir darbe ile ufalandığı görülür. Kemiğin yakılması sonucu ufalanabilmesi, kemiğe esneklik sağlayan organik maddelerin hasarı sonucudur [5, 22, 41].

Kemiğin dış yüzeyi eklem yüzleri hariç, fibrilli ve sert bağ dokusu ile karakterize periosteum denilen zar ile kaplıdır. Periosteum özellikle kas, tendon ve bağların kemiğe tutunduğu yerlerde, altındaki kemik dokusuna çok iyi yapışmıştır. Periosteum yapısındaki Sharpey lifleri olarak adlandırılan kolajen lifler, periosteum'dan kemiğe doğru uzanarak kemiğe sıkıca yapışmış durumdadır. Periosteum aynı zamanda kemiğin beslenmesi ve gerektiğinde yenilenmesini sağlamakla birlikte ligament, tendon ve kasların kemiğe tutunmasını sağlar [25, 41].

Kemiğin içyapısını incelemek için kemikten transvers bir kesit alındığında dıştaki sert yapı *substantia compacta*, iç kısımdaki süngerimsi yapı da *substantia spongiosa* olarak adlandırılır. *Substantia spongiosa*'da kemiğe uygulanan kuvvetin iletimini sağlayan kemik lameller uygun olarak yerleşmiştir [5, 11, 41, 91].

Substantia compacta tabakasının elastisite modülü *substantia spongiosa* tabakasına göre oldukça fazladır. Kemik dokudaki bu yapısal farklılıkları içeren tabakalar, kemiklerin işlevini yerine getirebilmesi açısından oldukça önemlidir. Çünkü kemik ancak böyle bir dizayna sahip olduğu takdirde yoğun baskı altında kalmadan hareket edebilir ve kendisine yüklenen ağırlık ve gerginlik kemik gövdesinden eklemlere aktarılır. Eğer her bölge aynı yapıda olsaydı; kemiklerde esneklik ve sağlamlık gibi özellikler olmazdı [76].

Substantia compacta tabakasına bakıldığında zaman içinde longitudinal ve transvers uzanan pek çok kanalcıklar bulunduğu görülür. Longitudinal kanallarda (Havers kanalları) kemik dokusunun damarları kapillerler halinde görülür. Aralarında az miktarda yağ ve kemik iliği bulunur. Bu kanallar yanlara doğru uzanan çok sayıdaki enine kanallarla (Valkmann) bağlı olup, bu şekilde kemiğin dış yüzeyine ve periosteum'una kadar bağlantı sağlanır. Bu Havers kanal sistemi sadece *substantia compacta*'da bulunur [5]. *Substantia spongiosa*'da ise gözle görülebilen ince kemik bölmelerle ayrılmış boşluklar görülmektedir. Boşlukları sınırlayan trabeküllerin durumları belli bir sisteme göre ayarlanmış olup ve bu yapılanma tamamen kemiğin işlevine uygun olarak düzenlenmiştir [22] (Şekil 2. 2).

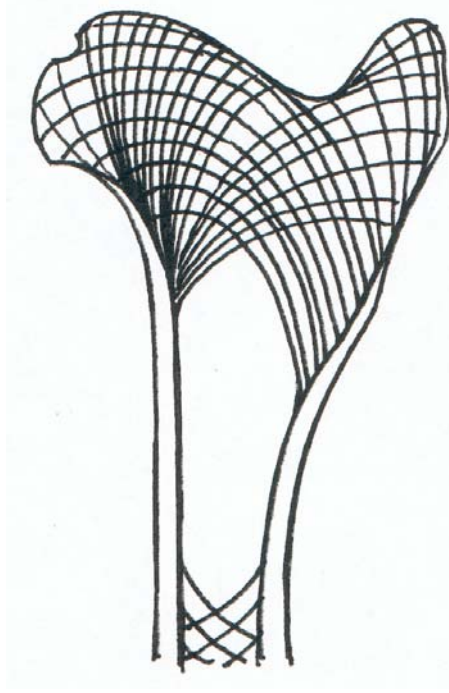


Şekil 2.2. Bir uzun kemiğin genel yapısı [25].

Kemikler başlıca iki kuvvetin etkisi altındadır:

- 1- Ağırlık (yer çekimi)
- 2- Kemiklere yapışan kasların çekme kuvveti

Bu kuvvetlerin etkisi belirli yönleri izleyerek kemikte dağılır. Kuvvetin etkisinde kalan bölgeler en çok zorlanan yerlerdir. Kemik trabekülleri yer çekimi ve kasların çekme kuvvetlerinin bileşkesi yönünde dizilirler. Kuvvetlerin etki yönleri çizgilerle gösterildiğinde ortaya çıkan çizgilere trajektör adı verilir. Substantia spongiosa'da kemik bölmelerin durumları trajeksiyon sistemi ile uygunluk gösterir. [22, 25] (Şekil 2. 3).



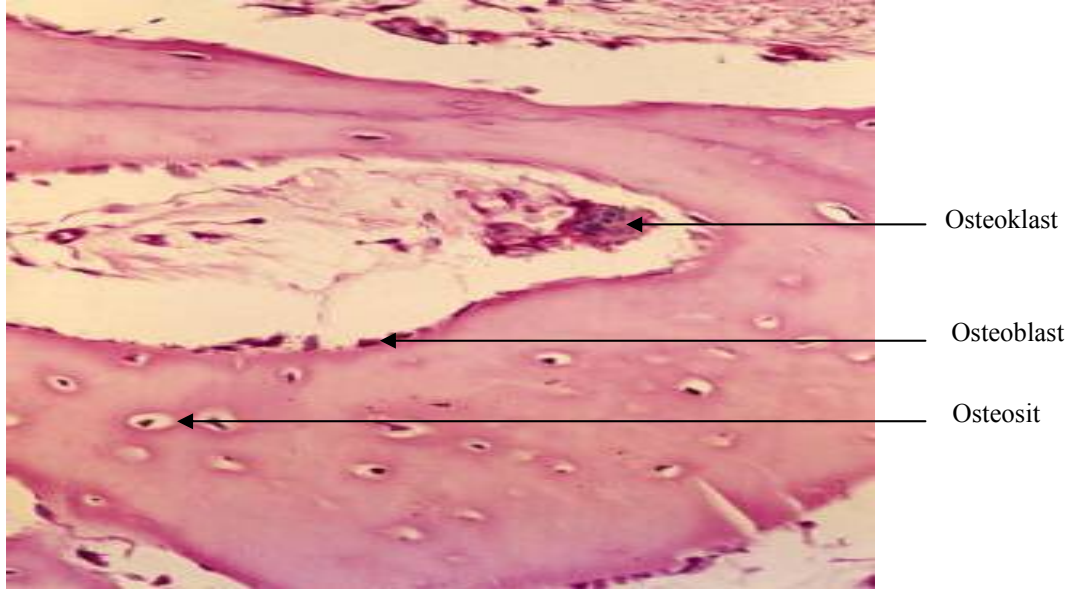
Şekil 2.3. Femur'da bulunan kuvvet çizgilerinin şematik görünümü [63].

Kemik dokusu, hücreler arası kemik matriks ve üç tür hücreden oluşmuştur. Bu hücreler osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlardır.

Osteoblastlar: Osteoblastlar kemik matriksinin organik kısımlarının üretilmesinden sorumludurlar. Osteoblastlar özellikle kemik yüzeylerinde, yan yana, tek katlı epiteli andıracak şekilde dizilirler.

Osteositler: Osteoblastlardan türeyen osteositler matriksin kanalcıkları arasındaki lacuna adı verilen boşluklarda yer alırlar. Her boşluk içinde bir adet osteosit bulunur. İnce silindirik matriks kanalcıkları, osteosit uzantılarını barındırır.

Osteoklastlar: Osteoklastlar çok büyük, dallanmış ve hareket edebilen hücrelerdir. Genişlemiş hücre gövdesinde beş ile elli arasında değişen sayıda çekirdeği vardır. Osteoklastlar kemik iliğinden elde edilen hücrelerin kaynaşması ile ortaya çıkarlar aynı zamanda bölgesel kollajen sindirimini ve kalsiyum tuz kristallerinin eritilerek emilmesini başlatan kollojenaz ve diğer enzimleri salgırlar [51] (Şekil 2. 4).



Şekil 2.4. Osteoklast, Osteoblast ve Osteosit'lerin görünümü [80]

2.2. Kemik Doku ve Kalsiyum İlişkisi

Kemik, kolajen bir kütle içinde yer alan mikroskopik kalsiyum ve fosfat kristallerinden özellikle hidroksiapatit kristallerinden yapılmış özel bir bağ dokusu şeklindedir. Kemikler yüksek kalsiyum ve fosfat içeriği nedeniyle kalsiyum metabolizmasında önemli rol oynarlar. Erişkin bir insanda yaklaşık 1100 gram kalsiyum bulunur ve kalsiyumun %99'u kemiklerde dir. Plazma kalsiyum düzeyi normalde 10 mg/dL kadardır ve kısmen proteinlere bağlı kısmen de difüze olabilecek niteliktedir [32].

Kemiklerdeki kalsiyum iki tiptedir:

- 1-Kolaylıkla yer değiştirebilen depo kalsiyumu
- 2-Sadece çok yavaş yer değiştirebilen daha çok stabil kalsiyum deposu şeklindedir [32].

Kemiklerdeki kalsiyumu etkileyen ve birbiri ile ilişkili iki bağımsız homeostatik sistem vardır. Biri plazma kalsiyum düzeyini düzenleyen sistemdir ve bu sistemin işleyişi içinde her gün ortalama 500 mmol. kalsiyum kemiklerdeki kolaylıkla değişebilen depo içine girer ve çıkar. Diğer sistem ise sürekli olarak kemiklerde rezorpsiyon ve birikimin oluşumu yolu ile kemiğin yeniden şekillenmesi ile ilişkilidir ve bu olay erişkinlerde kemik oluşumunun %95'ini kapsamaktadır [32].

2.3. Kemik Oluşumu ve Rezorbsiyonu

Kemik, canlı bir doku olarak, fiziksel çevre değişimlerine devamlı olarak uyum sağlar. Bireylerin yaşamları boyunca yaşlı kemik yıkıma uğrarken yenilerinin yapımı devam eder. Yıkım ve yapım işlemleri arasındaki uyum süreci yeniden yapılanma (remodeling) olarak anılır. Genel olarak, teorik modellerden ayrı olarak kemik yüzeyi ve içi olmak üzere iki tip yeniden yapılanma süreci ele alınmıştır [37]. Kemik yüzeyi yeniden yapılanma süreci dış yeniden yapılanma, yapılanma

(modelling), kortikal uyum veya makro yapılanma olarak tanımlanır [38]. Kemik yüzeyi yeniden yapılanması, kortikal yüzeylerin yeniden şekillenmesini içeren biyolojik bir süreçtir. Kemik içi yeniden yapılanması ise trabeküler, korteks ve Havers sistemlerinde meydana gelen dokusal düzeyde bir süreçtir. Bir diğer tip yeniden yapılanma süreci ise, Frost [39] tarafından tanımlanmış olan mikro yapılanma sürecidir. Bu süreç, kollajen fibril oryantasyonu gibi, kemik mikro yapısının uyumu ile ilgilidir. Mikro yapılanma, kemik hücre etkileşiminden daha çok fiziko-kimyasal işlemlerle sürdürülen bir süreçtir [76].

Kemik gelişimi ve remodelling direk birbirleriyle bağlantılıdır. Büyüme sırasında sürekli bir yeniden yapılanma sonucu olgun olmayan kemiğin yerini olgun lameler kemik alır. Ancak erişkin iskelette de sürekli bir yeniden yapılanma özellikle spongios kemikte olur. Bu şekilde erişkinde iskeletin yılda ortalama %10'unda yıkım ve yapım gerçekleşir. Yaklaşık 10 yıl içerisinde tüm iskelet bir kez yenilenir [79].

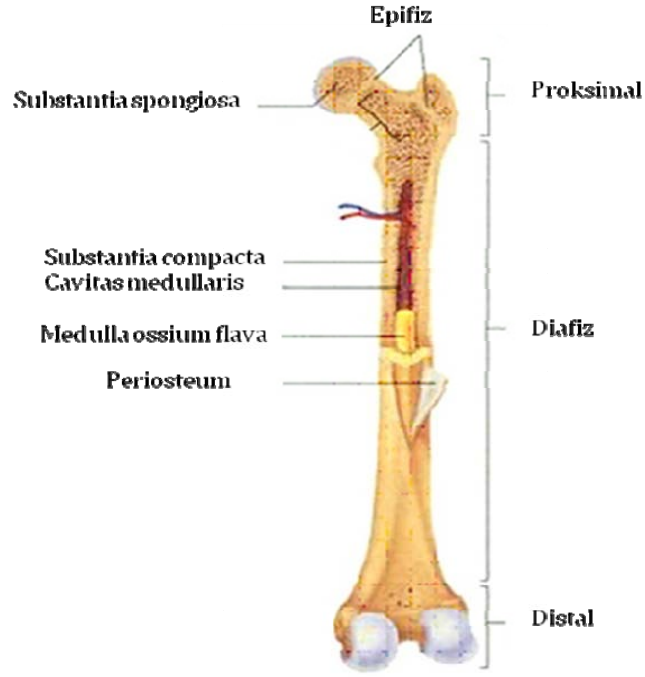
Çocuklarda kalsiyum dönüşüm hızı yıllık %100, erişkinde ise yıllık %18'dir. Kemiğin tekrar şekillenmesi, genellikle kemiği tekrar oluşturan birimler adı verilen hücre grubunun küçük bölgelerde oluşturduğu lokal bir işlemdir. Önce osteoklastlar kemiği absorbe ederler ve daha sonra yine aynı bölgede osteoblastlar yeni kemik dokusu oluştururlar. Bu döngü ortalama 100 gün sürer. Bununla beraber biçim değişimi yani bir bölgede rezorbe olan kemiğin şeklini değiştirerek başka bir bölüme eklenmesi olabilir. Herhangi bir anda, insan iskeletinde ortalama iki milyon şekillendirme üniteleri tarafından kemik kütlesinin ortalama %5'i yeniden oluşturulur. Kemiklerde yenilenme hızı kompakt kemiklerde ortalama yıllık %4, trabeküler kemiklerde ise %20'dir. Kemiğin şekillenmesi kısmen yer çekimi ve diğer faktörlerin iskelet üzerine yaptıkları baskı ve güç ile ilişkilidir. Kısmen de sistemik dolaşımdaki hormonlar ve büyüme faktörleri tarafından düzenlenir [32].

2.4. Femur Anatomisi (Femurun işlevsel anatomisi)

Femur, insan vücudunun en uzun, en kalın ve en sağlam kemiğidir. Femurun uzunluğu tüm vücudun yaklaşık olarak %25'i kadardır. Kalça eklemine katılarak gövdenin alt ekstremiteye bağlantısını sağlar [41].

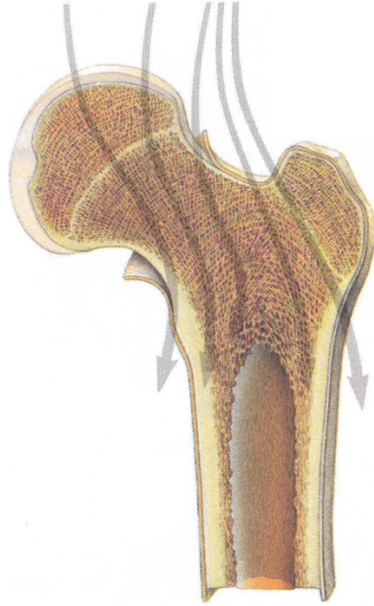
Femur'un ortasında kemik iliğinin yer aldığı boşluk *cavitas medullaris*'dir. Aktif kan yapımının izlendiği çocuk ve gençlerde kemik iliği, kırmızı renkte olup *medulla ossium rubra* olarak adlandırılır. İlerleyen yaşlarda kemik iliğinde yağ dokusu artarak sarı renge dönüşür ve *medulla ossium flava* adını alır. Sarı kemik iliğinde kan hücreleri yapılmaz [5, 22, 25].

Kemik gövdesinin dış kısmında kompakt kemik onun dışında ise *periosteum* tabakası yer alır. *Substantia compacta*'nın altında aralarında anastomozlar yapan kemik trabeküllerinden oluşan *substantia spongiosa* yer alır. Bu trabeküller kemiğin basınç ve burkulma güçlerine dayanıklılığını sağlayacak şekilde düzenlenmiştir. Femur'un uç kısımlarındaki eklem yüzleri ise hyalin kıkırdakla çevrilmiştir [5, 41, 91] (Şekil 2. 5).



Şekil 2. 5. Uzun kemiğin boyuna kesiti [80]

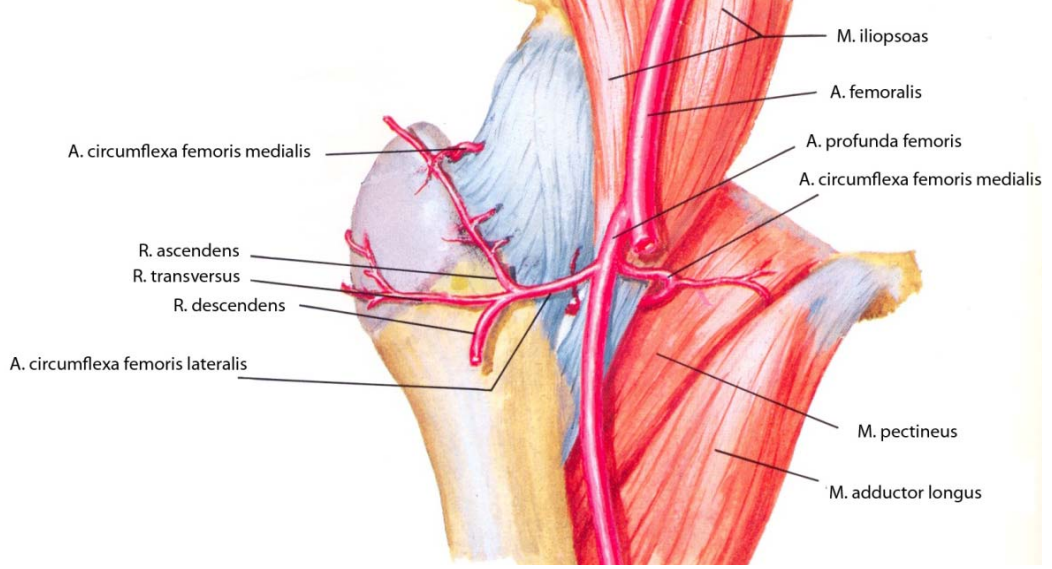
Substantia spongiosa üç boyutlu kafes yapı olarak düzenlenmiştir ve genellikle trabekül olarak adlandırılan düzenli şekildeki kolonlardan oluşur. Trabeküller, hidroksiapatite oranla daha fazla kolajen liflerden ve sık çapraz bağlardan oluşur. Trabeküller arasındaki boşluklarda kemik iliği ve kan damarları için yollar mevcuttur. Uzun kemikteki substantia spongiosa'nın trabeküler yapısının yönlenmesi asal gerilme doğrultusuna göre olmaktadır [76]. (Şekil 2. 6)



Şekil 2. 6. Uzun kemikte trabeküler yapının gerilme doğrultusunda yönlenmesi [80]

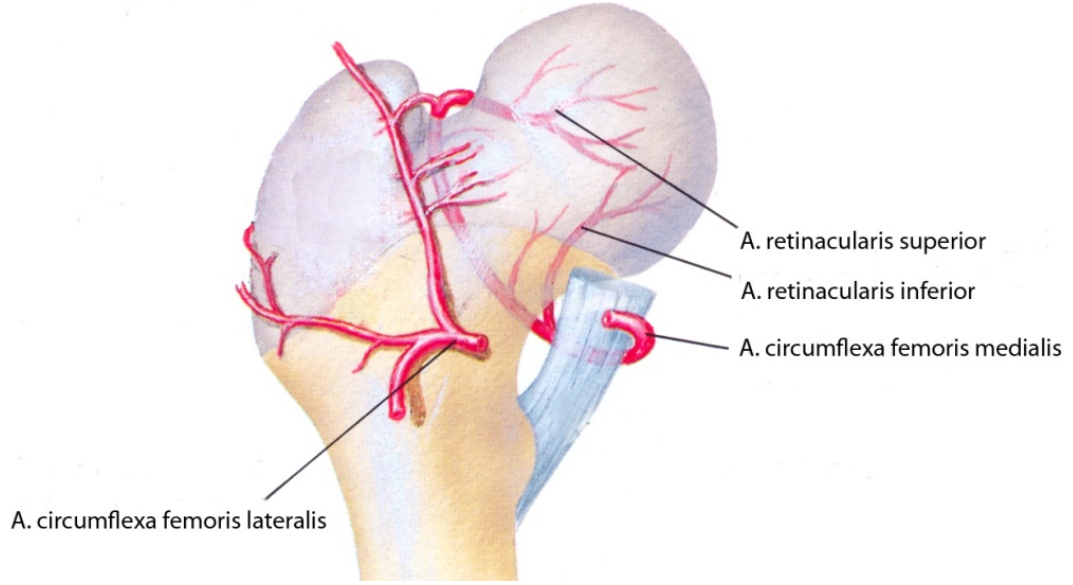
2.5.Femur Başının Arteriyel Beslenmesi

Alt ekstremitiyi besleyen ana arter a. femoralis'dir. A. iliaca externa'nın lig. inguinale'nin altından geçerek a. femoralis adını alır. A. femoralis'in dalları içinde en kalın olanı a. profunda femoris'dir. A. profunda femoris lig. inguinale'nin 3-5 cm. kadar aşağısından a. femoralis'den çıkar. A. profunda femoris önce a. femoralis'in lateraline daha sonra medialine doğru uzanarak a. femoralis ve v. femoralis'in arkasından geçer [5, 22, 25, 41]. (Şekil 2. 7)



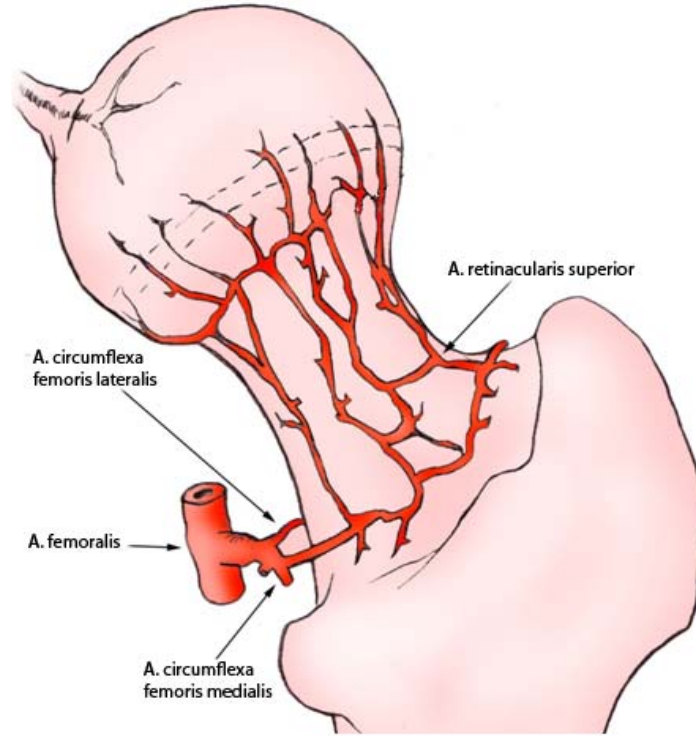
Şekil 2. 7. A. femoralis ve dallarının önden görünüşü [62].

A. profunda femoris'in üç dalı vardır. Bu dallar a. circumflexa femoris medialis, a. circumflexa femoris lateralis ve aa. perforantes'dir. Caput femoris'in beslenmesi açısından en önemli dal a.circumflexa femoris medialis'dir. Bu dal a. profunda femoris'in başlangıç yerinin biraz altından ve iç yanından ayrılır. Femur'un iç tarafına ve arkaya doğru uzanır. Bu bölgede r. descendens, r. ascendens ve r. transversus dallarına ayrılır. Dalları bölgedeki adduktor kasları, m. obturatorius externus'u ve kalça ekleminin yağ dokusunu besler [22, 25, 41] (Şekil 2. 8).



Şekil 2. 8. A. retinacularis superior ve inferior'un dağılımı [62].

A. circumflexa femoris medialis ve a. circumflexa femoris lateralis art. coxae'nın kapsülü etrafında bir halka oluşturarak ağızlaşırlar. Bu halkadan çıkan bazı dallar trochanter major ve minor'ü besler. Bazı dallar ise eklem kapsülü içine girerek a. retinacularis adını alır ve bu arterden ayrılan küçük dallar caput femoris'i besler. [66] (şekil 2. 9)



Şekil 2. 9. A. circumflexa femoris lateralis ve medialis ile a. retinacularis superior'un caput femoris ve collum femoris bölgesinde görünümü [1]

2.6. Osteoporoz ve Kemik Doku İlişkisi

Osteoporoz kemik kütlesinde azalma ve kemik dokusunun yapısının bozulması sonucu kemik kırılabilirliğinin artması ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır [4, 17, 28, 30, 46, 48, 59, 64, 77]. Osteoporoz her kemikte görülebilir ama özellikle vertebra, femur boynu ve radius distal ucunda kırıklarla sonuçlanır. Kırıklar ileri yaşlarda özellikle kadınlarda önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Kadınlarda en çok kalça kırıkları görülmektedir ve ileri yaşlarda görülen bu kırıklar bakıma ihtiyaç duyulacak kadar önemli bir sorun haline gelmektedir [12, 18, 30, 84].

Osteoporoz hastalığı iki gruba ayrılabilir.

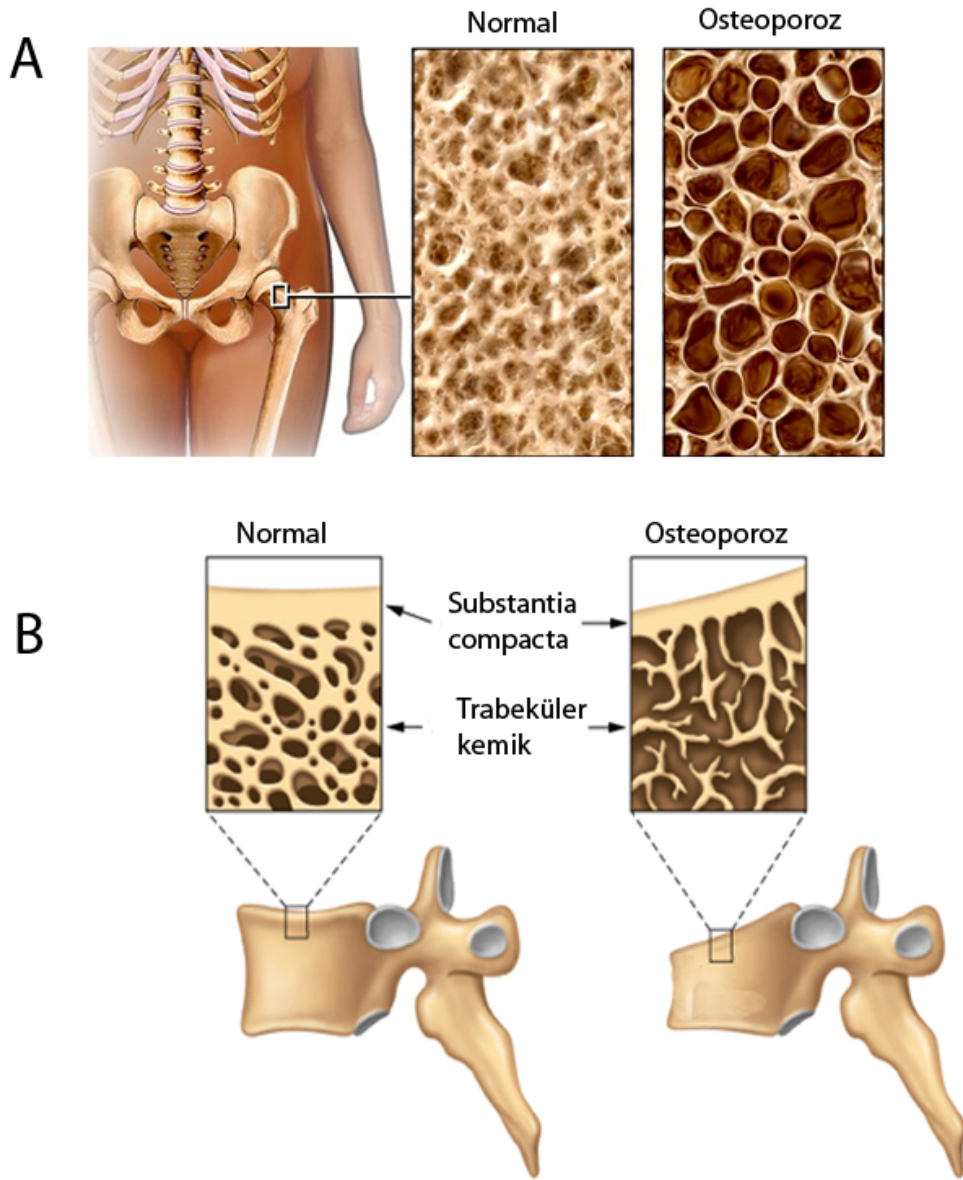
1-Primer osteoporoz

2-Sekonder osteoporozdur [17].

Primer osteoporoz tip I ve tip II olmak üzere iki büyük grup halinde incelenir. Tip I osteoporoz genellikle postmenopozal dönemde ortaya çıkar. Tip II osteoporoz ise senil osteoporoz olarak bilinir ve yaşa bağlı olarak ortaya çıkar [40, 92].

Sekonder osteoporoz ise endokrin nedenler, malign hastalıklar, kolajen sentezindeki kusurlar, karaciğer, böbrek hastalıkları, romatolojik hastalıklar ve bazı ilaçlar sonucu gelişir [92].

Menapoz, östrojen konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak hızlı bir şekilde kemik kütlesinin azalması ile karakterize bir dönemdir [4, 17, 31, 33, 73]. Özellikle postmenopozal dönemde ovaryumlardan östrojen salgılanmaz. Östrojen eksikliğine bağlı olarak da kemiklerde osteoblastik aktivite, kemik matriks, kemiklerde kalsiyum ve fosfat birikimi azalır, osteoklastik aktivite artar. Bu değişimler bazı kadınlarda ciddi boyutlardadır ve osteoporozla sonuçlanır. Bütün bu olaylar sonucunda meydana gelen ve postmenopozal dönemde gelişen osteoporoz kemikleri zayıflatarak kırıklara ve özellikle de kalça ve vertebra kırıklarına yol açar [4, 6, 19, 23, 30-31, 35, 43, 59, 70, 77, 83] (Şekil 2. 10).



Şekil 2. 10. Osteoporotik ve normal kemiğin görünümü. A) Femur başından alınan bir kesitlerde osteoporotik ve normal kemik arasındaki fark [2] B) Lumbal vertebralardan alınan kesitlerde normal ve osteoporotik kemik farkı [3]

2.7. Kemiğin Biyomekanik Özellikleri ve Mineral Yoğunluğunun Kemik Kırılma Etkisi

Kemik kırılma ve kemiğin kalitesi son yıllarda üzerinde çok fazla durulan bir konudur. Kırılma kabaca kemiğin kırılabilme ihtimalini ifade eden bir kavramdır. Kemik kırılma durumunda kemik kütlesinin yanı sıra diğer pek çok faktörün de önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bir kemiğin kırılma şu faktörlere bağlıdır.

- 1- Kemiğin kütlesi ve mineral içeriği
- 2- Kemik mineral yoğunluğu

- 3- Kemiğin biyomekanik özellikleri ve kemiğin mimarisi
- 4- Kemiğin çapı ve şekli
- 5- Genetik yapı

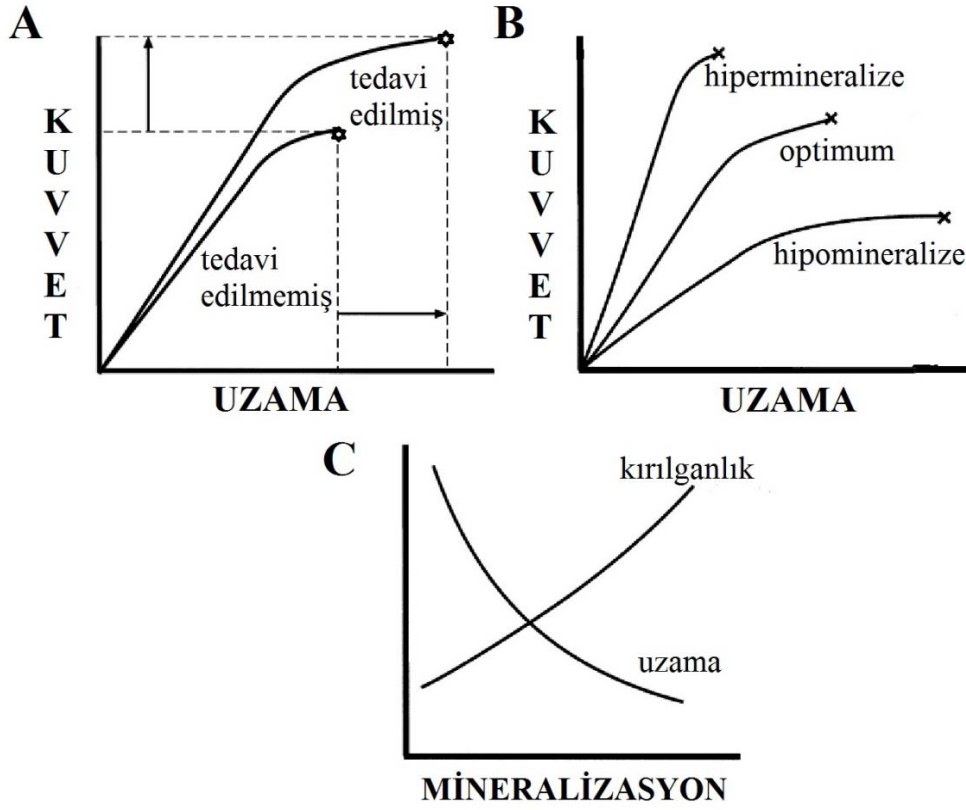
Biyomekanik özellikler ve bunlarla ilgili yapılan testler bir kemiğin nasıl kırılabilirdiği ve ne kadar kuvvete dayandığı konusunda bilgi verir. Aynı zamanda osteoporozlu bir kemikte ne tür yapısal değişikliklerin kırılmayı kolaylaştırdığı, hangi tedavi şekillerinin nasıl etki ettiği, hangi tarzda ve kombinasyonda tedavi verilmesi gerektiği konusunda bilgi vermesi açısından önemlidir [16].

Biyomekanik penceresinden bakıldığında strength (dayanım), strain (birim şekil değiştirme), young modülüs (elastisite modülü), energy absorpsion capacity (EAC - birim şekil değiştirme enerji yoğunluğu), stiffness (rijitlik modülü ya da katılık modülü) gibi mekanik kavramlar kemik kırılabilirliğinin ortaya koyulması açısından önemlidir.

Bir kemiğin kırılabilirliği hem biyomekanik karakterleri hem de kemik dokunun mineral özellikleri ile ilişkilidir. Bu iki önemli parametrenin bileşkesi normal bir kemikteki kırılabilirliği tayin eder. Kemiğin biyomekanik özellikleri kemik dokudaki kırılabilirliğin boyutu ile ilgili bilgiler vermesinin yanı sıra kemik dokudaki yapısal değişikliklere de ışık tutar. Kemik dokunun kırılabilirliğini azaltmak ve kemiği daha dayanıklı hale getirmek için kemiğin ekstrinsik ve intrinsik biyomekanik karakterleri göz önünde bulundurulmalıdır. Kemiğin ekstrinsik biyomekanik karakterleri kırılma kuvveti, kuvvet karşısında uzama ve enerji absorblama kapasitesidir. İntrinsik biyomekanik özellikler ise strength, strain ve young modülüs'dür. Bir kemiğin dayanıklılığını artırmak ve kırılabilirliğini azaltmak için ekstrinsik karakterler artırılırken intrinsik karakterlerin de bozulmaması gerekmektedir [16, 85, 88].

Kemik dokunun kırılabilirliğini azaltmak için dikkat edilmesi gereken bir başka nokta ise kemik dokunun mineral yoğunluğudur. Mineral yoğunluğu yüksek bir kemik, kuvvetli fakat bir o kadar da serttir. Kemik dokunun sahip olduğu bu sertlik, yük taşıma esnasında dıştan gelen mekanik enerjiyi kemiğin absorbe edememesine neden olur. Bundan dolayı da mineral yoğunluğu fazla olan bir kemik daha kırılmandır. İdeal bir ilaç tedavisinde kemiğin dayanabildiği kuvvet miktarı artarken aynı zamanda kuvvet karşısındaki uzama miktarının da artması gerekmektedir (şekil 2. 11A).

Diğer taraftan mineralizasyonu artmış bir kemiğin yapısal rijiditesi artmakla birlikte daha kırılabilir hale gelebilir. Uygun mineralize olmuş bir kemik sertlik ve kırılabilirlik açısından en iyi kombinasyonu oluşturur oysa yetersiz mineralize olmuş bir kemik çok zayıf olmaya meyillidir. Öte yandan tedavide hipermineralizasyon istenen bir durum değildir ve hipermineralize olmuş bir kemiğin kırılabilirliği fazladır (şekil 2. 11B ve 2. 11 C) [16].



Şekil 2. 11. Tedavi edilmiş ve edilmemiş iki farklı kemiğin kuvvet-uzama, kırılgnlık-uzama ve mineralizasyon arasındaki ilişki. A) Tedavi edilmiş ve tedavi edilmemiş iki farklı kemiğin kuvvet uzama grafiği görülmektedir. B) Kuvvet-uzama ile kemik dokunun mineralizasyonu arasındaki ilişki. C) Mineralizasyon ile kırılgnlık ve uzama arasındaki ilişki [85].

2.8. Deneysel Osteoporoz Modeli

Overektomiden hemen sonra gözlemlenen kemik yapım ve yıkımındaki biyokimyasal ve histomorfolojik olaylar postmenopozal dönemde görülen kemik kütlelerinin azalması ile benzerlik gösterir. Bu nedenle deneysel olarak menopoz oluşturmak için overektomi literatürde çok sık kullanılan bir yöntemdir [7, 15, 17, 30-31, 35, 45, 58, 68, 74, 77].

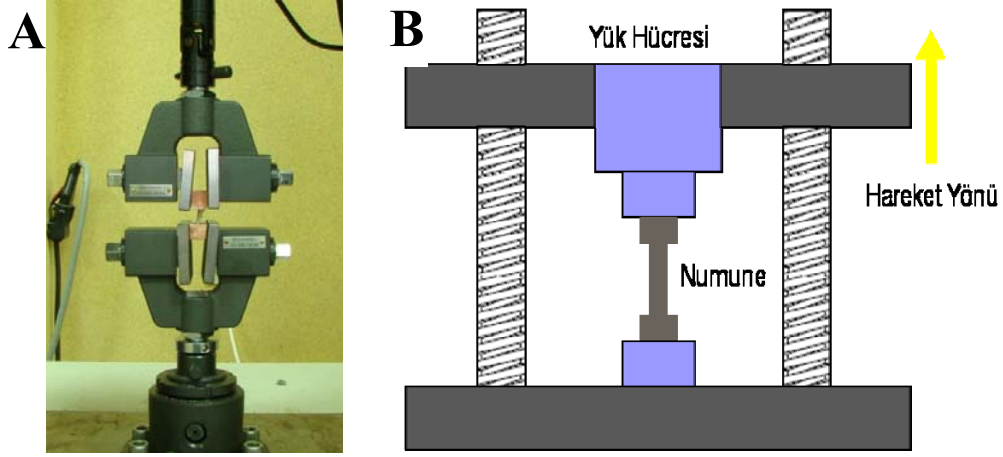
Ratlarda overektomi yapıldıktan sonra ilk sekiz haftanın sonunda kemik yapımı kademeli olarak azalır [31]. Overektomiye bağlı olarak gelişen osteoporozda kemik dokunun histolojik yapısında görülen en büyük değişim trabeküllerin zayıflaması ve alveolar alanların genişlemesidir [8, 28, 58, 61, 69, 74].

Overektominin etkileri kemik yoğunluğu ve kemik biyomekaniği açılarından da incelenmiştir. Overektomi yapılmış ratlarda kemik mineral yoğunluğunun azaldığıöte yandan kuvvete dayanıklılığı, kemiğin sertliği, bir kuvvete maruz kaldığında absorbe ettiği kuvvet miktarı, elastikiyet katsayısı ve uygulanan kuvvet karşısında gerginliği gibi önemli biyomekaniksel parametrelerinde istatistiksel olarak azalma olduğu gösterilmiştir [7, 17, 35, 45, 68, 71].

2.9. Kemik Dokuya Uygulanan Biyomekanik Testler

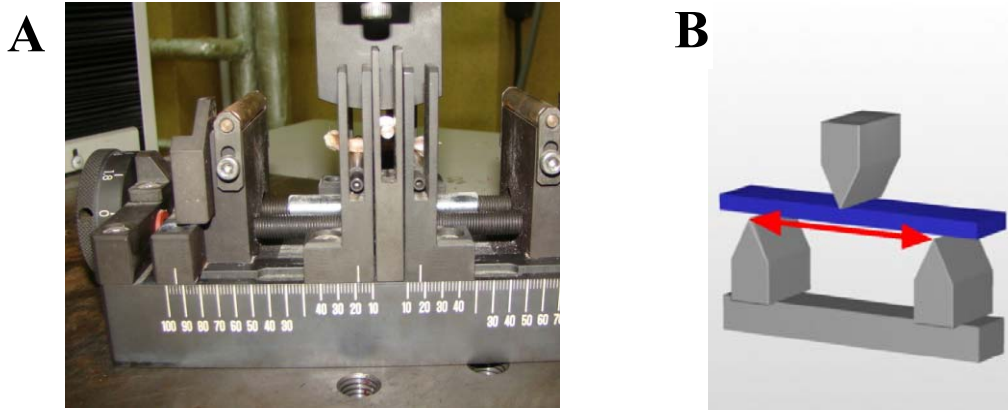
Osteoporoz gibi kemik dokusunun bozulduğu durumlarda bu değişiklikleri göstermek için biyomekanik testler literatürde oldukça sık kullanılmaktadır.

Bunlardan en sık kullanılanları çekme (tensile) ve eğme (three-point-bending) testlerdir [7, 10, 17, 36, 45, 65, 82]. Çekme deneyi, kemiğin statik yük altındaki mekanik özelliklerini belirlemek amacıyla uygulanan, mühendislik açısından çok önemli bir mekanik deneydir. Şekil 2. 12’de kemiğe uygulanan çekme deneyi ve çekme deneyinin şematik şekli verilmiştir.



Şekil 2. 12. A) Çekme deneyi B) çekme deneyi şematik görünümü

Eğme (üç nokta eğme) deneyi, kemiğin statik yük altındaki eğme davranışını tespit etmekte kullanılan deneylerden biridir. Şekil 2. 13’de kemiğe uygulanan eğme deneyi ve eğme deneyinin şematik şekli verilmiştir. Deney boyunca, kuvvet (F) artırılırken, kemiğin tam ortasında oluşan çökme değeri (deflection) ölçülür. Bu iki farklı mekanik deneyden elde edilen grafikler ise kemik dokunun mekanik özelliklerini ortaya koyan parametrelerin hesaplanması için kullanılır.



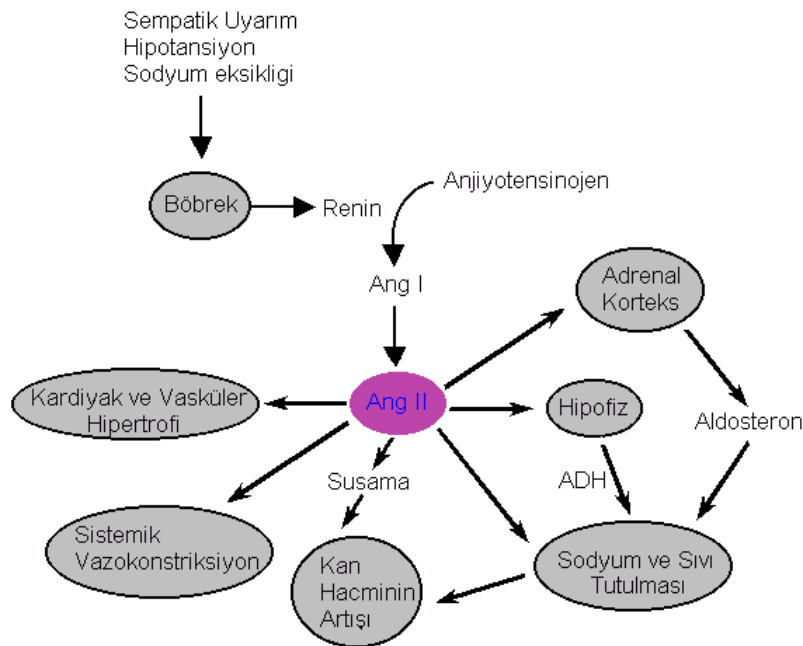
Şekil 2. 13. A) Eğme deneyi B) eğme deneyinin şematik görünümü

2.10. Renin Anjiotensin Sistemi (RAS)

Renin ilk olarak 1898 yılında Finlandiyalı fizyolog Tigerstedt ve öğrencisi Bergman tarafından bulunmuştur. Tigerstedt ve Bergman tavşan böbrek ekstresinde buldukları bu maddeyi enjekte ettiklerinde kan basıncının arttığını görmüşlerdir. Bu şekilde renin anjiotensin sistemi ile hipertansiyon arasındaki ilişki kurulmuştur. 1934 yılında ise Goldbaltt ve ark. renal iskemide çığır açan çalışmada böbreklerden salgılanan aktif bir maddenin varlığına tekrar dikkat çekmiştir. 1950’li yıllarda ise bu sistemin anlaşılmasında anjiotensin II’nin moleküler yapısının ortaya koyulması en

önemli adımlardan biridir. RAS'a ilk klinik müdahale 1970 ve 1980'li yıllarda geliştirilen ACE inhibitörleri ile yapılmıştır. Bunu takip eden 1990'lı yıllarda ise anjiyotensin reseptör blokerleri bulunmuştur [52].

RAS vasküler tonus, sıvı - elektrolit dengesi ve sempatik sinir sistemini etkileyerek kardivasküler homeostasiste önemli rol oynayan enzimatik bir yapıdır [26]. RAS'ın biyolojik etkisi esas olarak yüksek derecede aktif bir oktapeptid olan anjiyotensin II (Ang II) yoluyla gerçekleşir. Renin RAS sisteminin birincil elemanı olup, jukstaglomeruler hücrelerden sentezlenip kana salınan bir proteindir. Bu protein, küçük bir polipeptid olan Anjiyotensin I (Ang I)'in büyük bir plazma proteini olan anjiyotensinojen'den ayrılmasını sağlayan enzimatik etkiyi yapar. Ang I daha ileri ayrışmalara uğrayarak Ang II'yi oluşturur. Bu dönüşüm ise anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) olarak bilinen enzimle gerçekleşir [67, 89]. Buna ek olarak, Ang II kinaz, katepsin G, kimostatin-duyarlı Ang II-yapıcı enzim (CAGE), doku plazminojen aktivatörü ve tonin gibi non-ACE ve non-renin enzimlerle üretilmektedir [26, 67]. Sistemik renin-anjiyotensin sistemine ilişkin genelleştirilmiş bir blok diyagram şekil 2. 14'de görülmektedir. Ancak son yıllarda RAS sisteminin elemanlarının (renin, anjiyotensinojen, Ang I, Ang II ve ACE) dokulardaki varlığının aydınlatılması, lokal RAS'ın kalpte ve diğer organlarda yer aldığı düşüncesini güçlendirmiştir [24, 26, 67].



Şekil 2. 14. Sistemik renin-anjiyotensin sisteminin şeması ve olası fizyolojik etki alanları. Ang I, anjiyotensin I; Ang II, anjiyotensin II; ADH, antidiüretik hormon [67]

Ang II'nin kardiyak dokudaki etkisi AT1 ve AT2 gibi iki tip reseptörün aktivasyonuna bağlıdır. AT1 reseptörünün iki alt tipi vardır. Bunlar AT1A ve AT1B'dir. AT1A reseptörlerinin kardiyomiyositlerde in vivo kan basıncı düzenleyicisi ve etkin büyüme stimülatörleri olmalarına karşın, AT1B reseptörleri AT1A'nın yokluğunda vasküler tonusun kontrolünde yer alır [24, 67]. AT1 reseptörleri esas olarak beyin, adrenal bezler, kalp, damar sistemi ve böbrekte yer almaktadır. AT2 reseptörleri ise çoğunlukla fetal dönemde eksprese olmaktadır.

Ancak, doğum sonrasında hızla azalmaktadırlar. Temel olarak; beyin, kalp, adrenal medulla, böbrek ve üreme dokularında bulunmaktadırlar [24, 26-27, 67].

Ang II reseptörlerinin sinyal iletim mekanizması iyi bilinmektedir. Ang II'nin bilinen vazokonstriksiyon, aldosteron salımı, sempatik iletimin uyarılması ve hücre büyümesi gibi hemen tüm biyolojik etkileri AT1 reseptörü aracılığı ile gerçekleştirilir. AT2 reseptörünün ise fonksiyonel rolü tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, anti-proliferasyon, apoptozis, farklılaşma ve vazodilatasyonda rolü olabileceği düşünülmektedir [24, 26-27, 67].

2.11. Anjiotensin Kemik Doku İlişkisi

Anjiotensin inhibitörü içeren ilaçlar pek çok hastalığın tedavisinde sistemik bir düzenleyici olarak kullanılır [44, 54, 67, 72], bununla beraber bu ilaçların kemik doku üzerine etkisinin olduğu da ortaya konulmuştur [72]. Rejnmark ve ark. [72] yapmış oldukları çalışmada ACE inhibitörü içeren ilaçları kardiyovasküler hastalıkların tedavisi için kullanmışlar ve vücudun herhangi bir bölgesindeki kırık riskini %7, kalça bölgesindeki bir kırık riskini ise %14 oranında azalttığını ortaya koymuşlardır. Buna ek olarak Lynn ve ark [57] da benzer sonuçları bildirmişlerdir. Ayrıca literatürde Ang II'nin kemik dokuya olan etkisini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Anjiotensin indirek olarak kemik iliği kapillerlerine, direk olarak da AT1 üzerinden osteoblastlara etki eder [47, 49, 72]. Ang II nin ise kalsiyum metabolizmasına zarar verdiği ve sağlıklı bireylerde plazmada kalsiyum iyonu seviyesini azalttığı gösterilmiştir [42, 54, 72].

HİPOTEZ:

Anjiotensin inhibitörü içeren ilaçlarla tedavi edilen hastalarda kırık riskinin önemli oranda azaldığı bilinmektedir. Bu bilgiler ışığında anjiotensin inhibitörlerinin osteoporotik oluşumu düzeltici etkisi var mıdır?

AMAÇ:

Menopoza bağlı gelişen osteoporozun modellendiği overektomili (OVX) ratlarda AT1 inhibitörünün femur biyomekaniği ve histomorfolojik özelliklerinde yaptığı değişiklikleri belirleyerek, AT1 inhibitörünün osteoporoz sürecine etkisini göstermektir.

MATERYAL METOT

3.1. Deney Grupları

Bütün gruplarda 200-250 g ağırlığında 12 haftalık *Rattus norvegicus* türü Wistar dişi sıçan kullanılmıştır. Her bir grupta 15 adet dişi sıçan olmak üzere toplam 120 adet hayvan bulunmaktadır. Tüm denekler 12 saat gece, 12 saat gündüz siklusunda ve her kafeste 4 denek olacak şekilde sınırsız yem ve su ile beslenmişlerdir. Denekler üzerinde yapılan tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Bakım ve Kullanım Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve onaylanmıştır.

Çalışmamızda AT1 inhibitörü olarak Losartan (5g/kg/gün) verilmiştir. Deney ve kontrol grupları iki büyük gruba ayrılmıştır. Bunlardan birincisi 20 haftalık tedavi amaçlı alt gruplardır (grup 1, 2, 3, 4, 5). Bu gruplarda overektomi yapıldıktan sonra 12 haftalık sürede oluşan osteoporozu takiben 8 haftalık Losartan tedavisinin kemik doku üzerindeki etkisi araştırılmıştır. İkincisi ise overektomi sonrası hemen 12 hafta boyunca Losartan tedavisi verilen gruplardır (grup 6, 7, 8). Burada Losartan'ın osteoporoz oluşma süresine etkisi araştırılmıştır. Gruplara yapılan işlemler aşağıda ayrıntılı olarak tablo3.1.1'de verilmiştir.

- **Grup 1** (Kontrol grubu = KONT): Bu grupta sağlıklı sıçanlar bulunmaktadır.
- **Grup 2** (SHAM grubu = SHAM): Bu gruptaki hayvanlara cerrahi operasyon için gerekli bütün aşamalar yapıp ovaryumlar alınmadan operasyon bölgesi kapatılıp dikilmiştir. Bu grupta bulunan sıçanlara 12. haftadan sonra 8 hafta boyunca (5g/kg/gün) su verilmiştir.
- **Grup 3** (Kontrol + Losartan grubu = KONT + LOS): Bu grupta bulunan sıçanlar 12. Haftadan itibaren 8 hafta boyunca AT1 inhibitörü olarak (5g/kg/gün) Losartan verilmiştir.
- **Grup 4** (Overektomi grubu = OVX): Bu grupta bulunan sıçanlara overektomi yapılmış, bunu takiben 12. haftanın sonunda 8 hafta boyunca (5g/kg/gün) su verilmiştir.
- **Grup 5** (Overektomi + Losartan grubu = OVX - LOS): Bu grupta bulunan sıçanlara overektomi yapılmış, bunu takiben 12. haftanın sonunda 8 hafta boyunca (5g/kg/gün) Losartan verilmiştir.
- **Grup 6** (KONT-1-LOS): Bu grupta bulunan sağlıklı sıçanlara 12 hafta boyunca (5g/kg/gün) Losartan verilmiştir.
- **Grup 7** (OVX-1) : Bu grupta bulunan overektomili sıçanlara overiektominin ilk gününden itibaren (5g/kg/gün) su verilmiştir.
- **Grup 8** (Overektominin birinci gününden itibaren Losartan = OVX-1-LOS): Bu gruptaki sıçanlara overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta boyunca (5g/kg/gün) Losartan verilmiştir.

Tablo 3.1. 1. Deney grupları

Grup no (n=15)	Kısaltma	Operasyon	Madde	Osteoporoz Süresi (hafta)	Tedavi Süresi (hafta)
1	KONT	(-)	su	12	8
2	SHAM	SHAM	su	12	8
3	KONT-LOS	(-)	Losartan	12	8
4	OVX	Overektomi	su	12	8
5	OVX-LOS	Overektomi	Losartan	12	8
6	KONT-1-LOS	(-)	Losartan	12	(12)
7	OVX-1	Overektomi	su	12	(12)
8	OVX-1-LOS	Overektomi	Losartan	12	(12)

3.2. Overektomi ve Losartan Tedavisi

Overektomi için 60 adet Wistar cinsi yetişkin dişi sıçan kullanılmıştır (grup 4, 5, 7 ve 8). Bütün cerrahi girişimler ve postoperatif bakım Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde yapılmıştır. Hayvanlar her kafeste üç adet olacak şekilde kafeslenmiş ve deney süresince normal yem ve musluk suyu verilmiştir. Anestezik madde olarak ketamin (50 mg/kg) ve xylazine (10 mg/kg) kullanılmıştır. Anesteziden sonra hayvanların karın bölgeleri traşlanıp, ventral insizyon yapılarak uterus bağlanmış, ovaryumlar bilateral olarak koterle alınmıştır (grup 4, 5, 7 ve 8). 12 haftalık sürenin sonunda grup 3 ve 5 deki hayvanlara 8 hafta boyunca 5 g/kg/gün AT1 inhibitörü olarak Losartan diğer üç gruba ise (grup 1, 2 ve 4) 5 g/kg/gün musluk suyu gavaj ile verilmiştir. Aynı cerrahi işlemler SHAM grubu için de yapılmış fakat SHAM grubuna ait bu hayvanların ovaryumları alınmadan girişim yapılan bölgedeki kesi dikilmiş ve bu gruba (grup 2) ait hayvanlara da 12. haftadan sonraki 8 haftalık sürede 5 g/kg/gün musluk suyu verilmiştir.

12 haftalık gruplarda ise Grup 7 için overektomi yapıldıktan sonra 12 hafta boyunca 5 g/kg/gün musluk suyu verilmiştir. Grup 8 için overektomi yapıldıktan sonra ilk günden itibaren 12 hafta boyunca 5 g/kg/gün Losartan verilmiştir. Grup 6'ya ait olan sağlıklı hayvanlara ise 12 hafta boyunca 5 g/kg/gün Losartan verilmiştir. Grup 1, 2, 3, 4, 5'e ait hayvanlar 20 haftalık sürenin sonunda, grup 6, 7 ve 8'e ait hayvanlar ise 12 haftalık sürenin sonunda urethane (2 g/kg) anestezisi altında uyutularak femurları biyomekanik, histomorfolojik testler ve kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçümleri için kullanılmıştır.

Femurların etrafındaki bütün yumuşak doku ve kaslar temizlendikten, bir bezle sarılıp izotonik ile ıslatıldıktan sonra test yapılana kadar -20 °C bekletilmiştir [7]. Her bir gruptan 30 adet femur elde edilmiştir. Elde edilen femurlar 3 gruba

ayrılmıştır. Çekme testleri için 12 adet, eğme testleri için 11 adet ve histomorfometrik testler için 7 adet femur kullanılmıştır.

3.3. Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçümü

Bütün deney ve kontrol gruplarında yer alan sıçanların femurlarından DEXA cihazı ile (Norland XR 46, Norland, ABD) kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçümü yapılmıştır [9, 21, 46, 53]. Her bir gruba ait femurlar düz bir zemine tek sıra halinde dizilerek ölçüm yapılmıştır. Cihazda bulunan özel program ile (Small animal software) total femoral shaft bölgelerine ait KMY değerleri belirlenmiş olup deney gruplarında bulunan ratlardan elde edilen değerler sağlıklı kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak, osteoporoz derecesi belirlenmiştir. KMY ölçümü testleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

3.4.Histomorfometrik Analiz

Histomorfometrik analiz için Scanning Electron Microscopy (SEM) yöntemi kullanılmıştır. Her bir gruptan elde edilen 7 adet femurun SEM görüntüleri histomorfometrik analiz için kullanılmıştır.

3.4.1. Dekalsifikasyon

Femurların etrafındaki yumuşak dokular disseke edilerek temizlendikten sonra femurlar dekalsifikasyon işlemine tabi tutulmuşlardır. Dekalsifikasyon prosedürü aşağıda maddeler halinde verilmiştir

- 1- %10 formalin çözeltisinde 1 hafta fiksasyon.
- 2- Gruplar halinde ince bir beze sarılmış femurların akan suda 1 gün yıkanması.
- 3- 3 gün boyunca %25 formik asit çözeltisinde bekletme
- 4- Beze sarılarak 1 gün akarsuda yıkama.
- 5- 0,35 M sodyum sülfat çözeltisinde 3 gün bekletme
- 6- 1 gün boyunca akarsuda yıkama
- 7- 1'er gün boyunca %70, %80, %90 ve %100'lük alkol serilerinden geçirme.

Dekalsifiye femurlar mikroskop altında frontal olarak jilette ikiye ayrılmıştır. İkiye ayrılan femurlar ultrasonik temizleyicide (Bandelin Sonorex RK156, Berlin, Almanya) %1'lik Tritron-X-100 solüsyonunda oda sıcaklığında 20 dakika temizlenmiştir. Distile suda yıkandıktan sonra tüm gruplara ait femurlar SEM takibine alınmıştır.

3.4.2. SEM Takibi

Sem takip prosedürü aşağıdaki sıraya göre yapılmıştır.

- 1- 0,1 M Sorenson fosfat tamponunda hazırlanmış %2,5'lük gluteraldehit ile + 4 °C'de iki saat fiksasyon.
- 2- 0,1 M Sorenson fosfat tamponunda yıkama.
- 3- 0,1 M Sorenson fosfat tamponunda hazırlanmış %1'lik osmiyum tetraoksit ile oda ısısında iki saat fiksasyon
- 4- Artan etil alkol serilerinden (%40, %50, %70, %80, %90, %95 ve %100'lük etil alkol) geçirme (30'ar dakika).

- 5- 3/1 oranında mutlak alkol-N-amil asetat solüsyonunda bekletme (30 dakika).
- 6- 1/1 oranında mutlak alkol-N-amil asetat solüsyonunda bekletme (30 dakika).
- 7- 1/3 oranında mutlak alkol-N-amil asetat solüsyonunda bekletme (30 dakika).
- 8- Saf amil asetat solüsyonunda kritik nokta kurutmasına kadar +4 °C'de bekletme [58].

3.4.3. Kurutma ve Kaplama

SEM takibi sonrası tüm femurlar gruplar halinde saf amil asetat solüsyonundan çıkarılarak cam bir kap içinde temiz ve kuru bir ortamda oda ısısında kurutulmaya bırakılmıştır. 4 saat süren kurutma işleminden sonra dokular kaplamaya alınmıştır. Kaplama prosedürü aşağıda verilmiştir.

- 1- Tüm örneklerin gruplar halinde bir lam üzerine dizilerek kaplama cihazına (Polaron SC7620 Sputter Coater, İngiltere) koyulması.
- 2- 2 saat vakumlama
- 3- Yeterli vakuma ulaşıldıktan sonra altın-palladyumla 120 saniye kaplama
- 4- Staplar üzerine çift taraflı iletken karbon bant yapıştırma
- 5- Örneklerin bant üzerine yapıştırılması
- 6- Her örneğe iki noktadan iletken gümüş boya sürülmesi
- 7- Mikroskop altında inceleme

3.4.4. Trabeküler Kemikteki Alveolar Alanların Yüzde Hesaplanması

Her bir femur kesiti SEM (Zeiss, Leo 1430 SE, Oberkochen, Almanya) ile fotoğraflandırılmıştır. 60x büyütmedeki caput femoris bölgesinden elde edilen SEM görüntülerinden trabeküler kemikteki alveolar alanların yüzde hesaplanması için Image J programı (Image J Software, U. S. National Institutes of Health, 2008, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılmıştır. Her bir femur kesitinin femur başını içine alacak şekilde femur boynuna kadar olan bölümünün toplam yüzey alanı mm² olarak hesaplanmıştır. Daha sonra her bir bölgede trabeküller arasında bulunan alveolar alanların toplam yüzey alanı da mm² olarak hesaplanmıştır (şekil 3. 1). En son olarak da elde edilen yüzey alanlarından her bir femurun alveolar alanları yüzde olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3. 1. 60x büyütmedeki SEM görüntülerinden Image J programı ile caput femoris bölgesinin toplam yüzey alanı ve alveolar alanların hesaplanması

3.5. Biyomekanik Testler

Bütün biyomekanik testler Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü Biyomekanik Laboratuvarında yapılmıştır. Biyomekanik testler için bilgisayar kontrollü bir germe-kopartma cihazı (Shimadzu Autograph AG-G series, Shimadzu Co, Kyoto, Japonya) kullanılmıştır (şekil 3. 2).



Şekil 3. 2. Biyomekanik testler için kullanılan germe-kopartma cihazı (Shimadzu Autograph AG-G series, Shimadzu Co, Kyoto, Japonya).

3.5.1. Femurların Hazırlanması

Deney ve kontrol gruplarına ait sıçanlardan çıkartılan femurlar, etrafındaki kas ve bağ dokularından etrafında hiçbir doku kalmayacak şekilde disseke edildi. Daha sonra serum fizyolojik çözeltisi ile yıkayıp sonra gazlı beze sarılarak deneye alınana kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de bekletilmiştir. Bütün femurlar bu şekilde çıkartıldıktan sonra biyomekanik testlere başlanmıştır.

3.5.2. Gömme İşlemi

Çekme testleri için femurlar akriliğe gömülmüştür. Toz ve likit akrilik 10/4 oranında karıştırılarak 1,1x1,1x1,1 cm. ebatlarında plastik kutucuklara doldurulmuştur. Femurun proksimal ve distal uçları içinde akrilik karışımı olan farklı iki kutucuğa yerleştirildi (şekil 3.3). Dokular çekme testleri için bu şekilde hazırlandıktan sonra serum fizyolojik solüsyonu ile ıslatılmış gazlı bez ile sarılıp $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 24 saat bekletilip akriliğin donması sağlanmıştır.

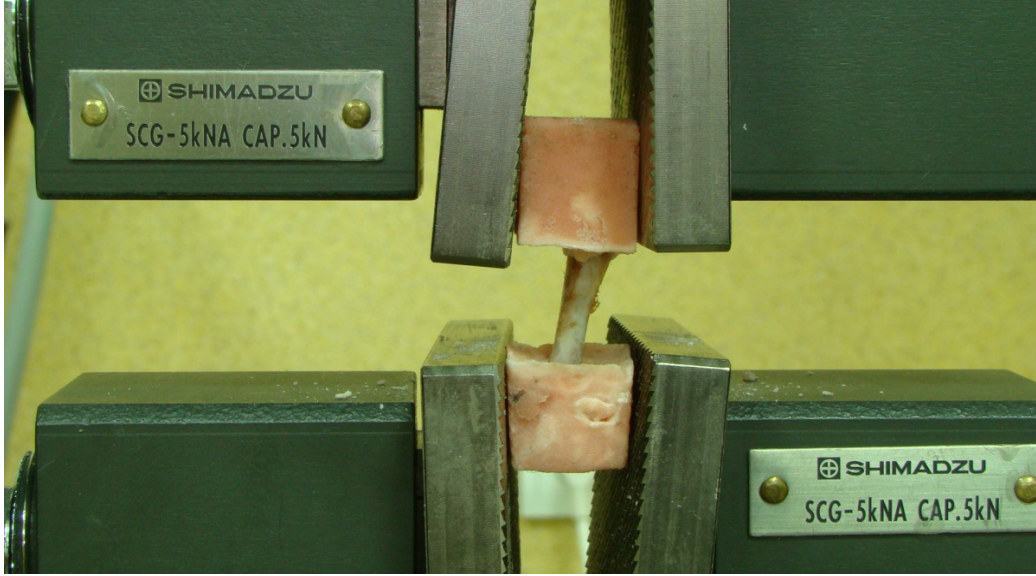


Şekil 3.3. Akrilik içene gömülerek çekme deneyine hazırlanmış bir femur

3.5.3. Çekme Testleri (Tensile Test)

24 saat sonra laboratuvara alınan dokuların laboratuvar ısısına gelmesi sağlandıktan sonra plastik kutucuklar çıkarılarak cihaza koyulan kemikler dikey düzlemde distalden proksimale doğru çekilmiş ve kemik kırılana kadar çekme işlemine devam edilmiştir (çekme hızı 2 mm/dak) (şekil 3.4). Femurların işlem

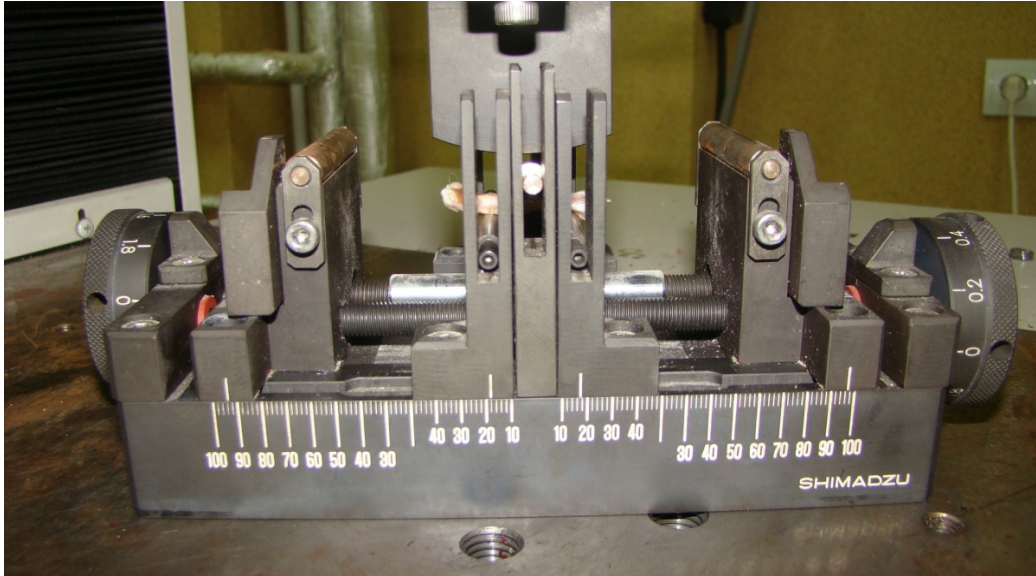
yapılırken kurumalarını engellemek için doku üzerine serum fizyolojik solüsyonu püskürtülmüştür.



Şekil 3.4. Akriliğe gömüldükten sonra çekme deneyine alınan bir kemik

3.5.4. Eğme Testleri (Three Point Bending)

Femurlar eğme aparatı altına yatay olarak iki mesnet arasındaki mesafe 2,6 cm olacak şekilde yerleştirildi. Eğme hızı 2 mm/dak olacak şekilde kemik kırılana kadar kuvvet uygulanmıştır (şekil 3.5).

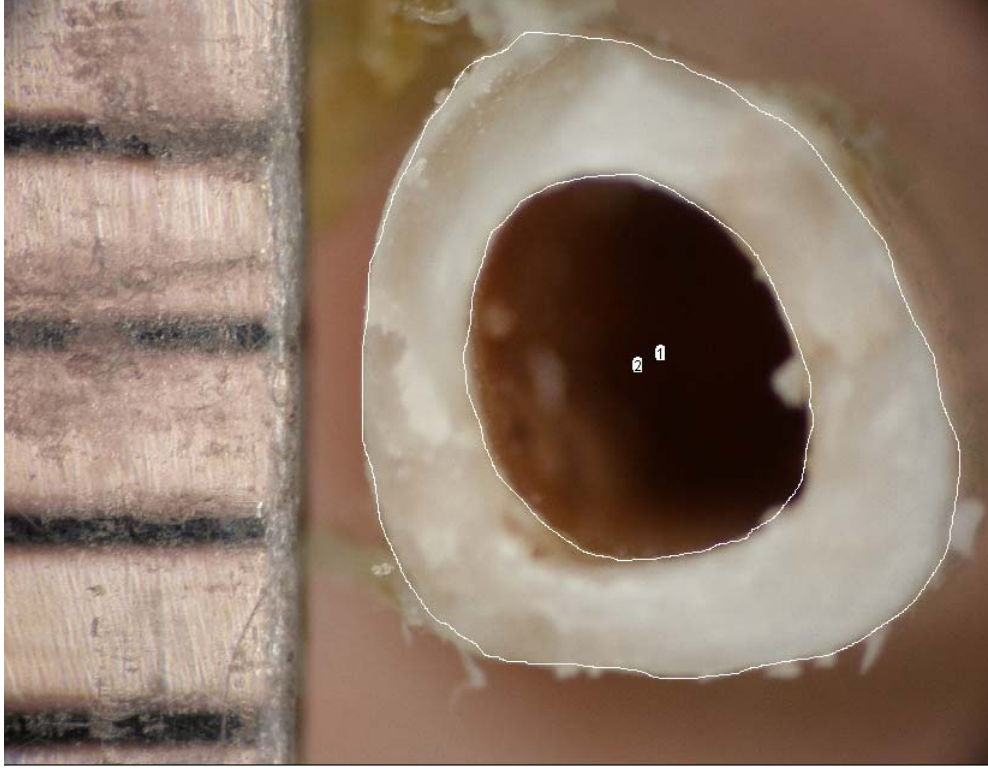


Şekil 3.5. Eğme testi yapılan bir kemik

3.5.5. Femurun Kesit Yüzey Alanının Hesaplanması

Çekme ve eğme testleri yapıldıktan sonra kırılan femurların gövdelerinin en ince olduğu bölge elektrikli bir rotor yardımıyla transvers olarak kesildikten sonra

mikroskop altında fotoğraflandırılmıştır(şekil 3.6). Her bir femur için elde edilen fotoğraflar yüzey alanı hesaplanması için kullanılmıştır. Elde edilen görüntülerden bilgisayar ortamında Image J programıyla kemik dokunun dış çapı, iç çapı (mm cinsinden) ve toplam yüzey alanı (mm² cinsinden) hesaplanmıştır Her bir femur için elde edilen bu değerler diğer biyomekaniksel dataların hesaplanmasında kullanılmıştır.

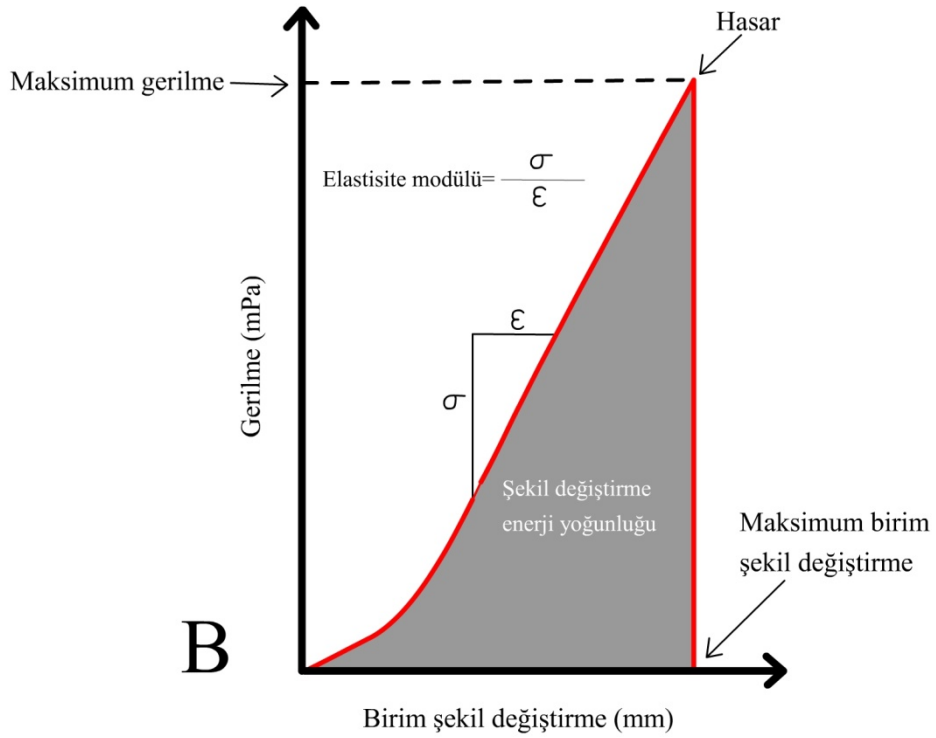
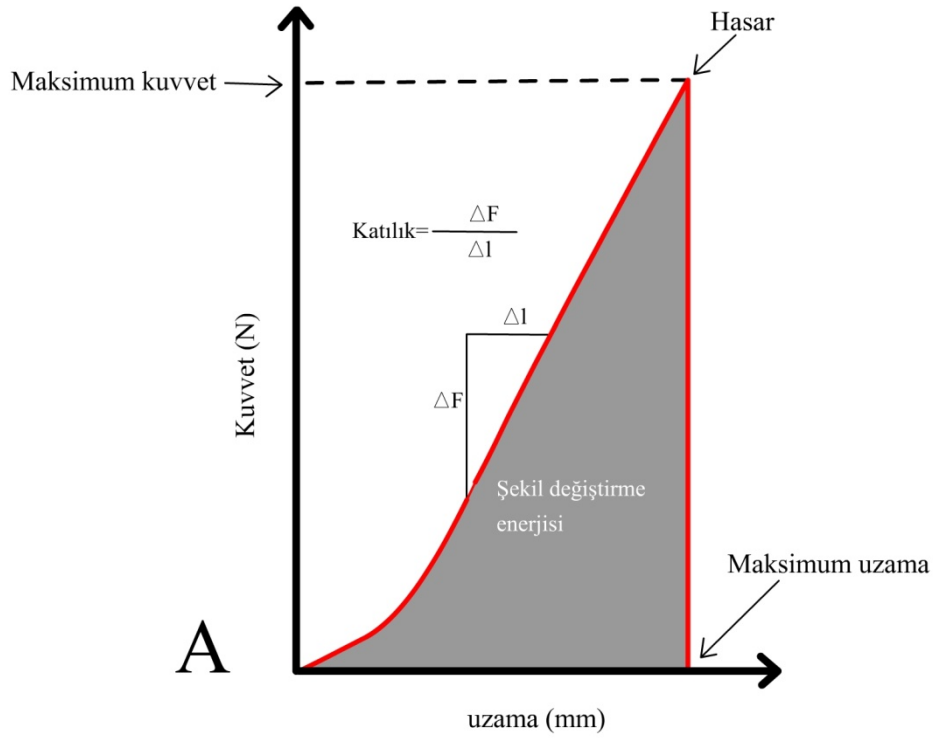


Şekil 3.6. Bir femurun yüzey alanının Image J programı ile hesaplanması

3.5.6. Biyomekanik Verilerin Hesaplanması

3.5.6.1. Çekme Testi Verilerinin Hesaplanması

Çekme testi, femurun mekanik özelliklerini belirlemek amacıyla, genellikle kemiğin kopuncaya kadar gerilmesini kapsar. Çekme testi sonucunda elde edilen örnek gerilme birim şekil değiştirme ve yük-uzama grafikleri ise şekil 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Çekme deneyi sonunda elde edilen örnek grafik. A) Kuvvet – uzama grafiği, B) Gerilme – birim değiştirme grafiği

Çekme dayanımı (tensile strength) (σ): Femurun kopmadan dayanabileceği ve diyagramdaki en yüksek gerilme değeridir.

$$\sigma = F/A$$

formülüyle hesaplanır ve birimi Mpa'dır. Burada F femura uygulanan kuvvet, A ise femurun kesit yüzey alanı olarak ifade edilmiştir.

Elastisite Modülü (Young's modülü) (E): Femurun şekil değişikliğinin lineer elastik bölgede kalmak koşuluyla gerilme (σ) -şekil değiştirme (ε) arasındaki ilişkiyi açıklayan büyüklüktür ve

$$E = \sigma / \varepsilon$$

olarak hesaplanır. Birimi Mpa'dır.

Birim şekil değiştirme (strain) (%): Çekme testinde femurun, uygulanan kuvvet karşısında kırılma anındaki son ölçü uzunluğu ile ilk ölçü uzunluğunun farkının ilk ölçü uzunluğuna oranının yüzde olarak ifadesidir ve

$$\varepsilon (\%) = (L - L_0) / L_0$$

olarak gösterilir. Burada, L femurun son boyu, L_0 ise femurun ilk boyudur.

Birim şekil değiştirme enerji yoğunluğu (energy absorpsiyon capacity – EAC-tokluk): Mekanikteki temel kavramlardan biri olup, bir kemiğin plastik şekil değiştirme esnasında enerji absorbe etme özelliğine tokluk denilir. Tokluk kemiği koparmak için harcanan enerjinin bir ölçüsü olup, gerilme-birim şekil değiştirme eğrisinin altında kalan alandan hesaplanır (şekil 3.7. B) ve birimi mJ'dür.

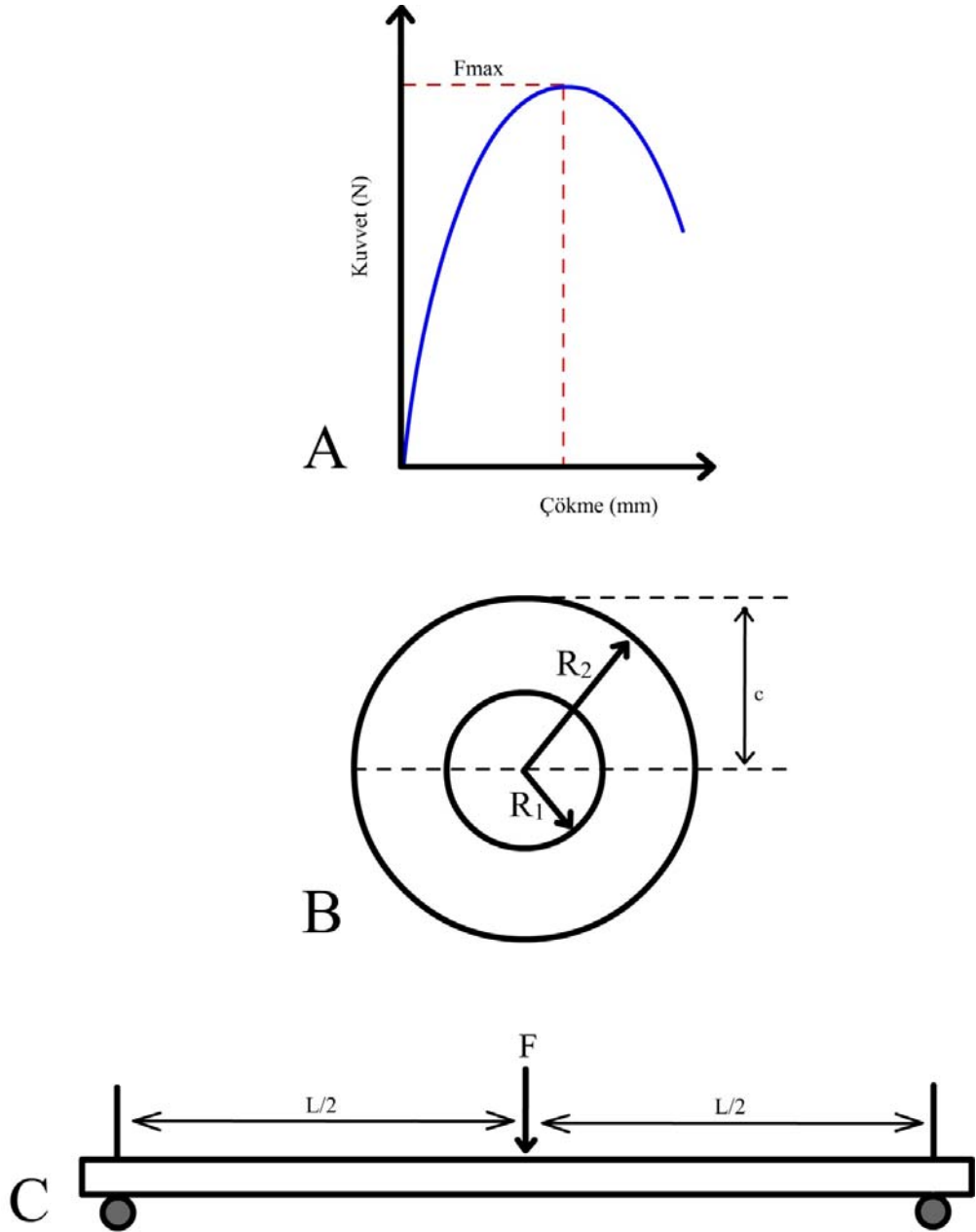
Rijitlik Modülü (Katılık modülü-stifness) (K): Yük ve deformasyon arasındaki ilişkiyi belirleyen bir modül ölçümüdür ve

$$K = \Delta F / \Delta L$$

formülü ile hesaplanır (şekil 3.7. A). Birimi N/mm'dir [78].

3.5.6.2. Eğme Testi Verilerinin Hesaplanması

Eğme deneyi boyunca, kuvvet (F) arttırılırken, kemiğin tam ortasında oluşan çökme değeri (deflection) ölçülür. Ölçülen değerler sonucu kuvvete karşılık gelen çökme grafiği elde edilir. Eğme deneyi sonucunda elde edilen kuvvet-çökme grafiği Şekil 3.8. A'da verilmiştir.



Şekil 3.8. Eğme deneyinde kullanılan örnek kuvvet-çökme grafiği, kemik dokunun dairesel kesit alanı ve eğme deneyinin şematik görünümü. A) Eğme deneyi sonucunda elde edilen kuvvet- çökme grafiği. F_{max} , eğme deneyinde kemiğin kırıldığı andaki maksimum kuvvet. B)Dairesel kesit alanı, iç ve dış yarı çaplar. R_1 , iç yarıçap, R_2 kemiğin tamamının yarıçapı, C nötral eksen kesitin en uç noktasının orta eksen mesafesi, C) Eğme deneyinin şematik görünümü. F (eğme testinde kemiğe uygulanan kuvvet), $L/2$ (kemiğin toplam boyunun yarısı)

Mukavemet bilgileri kullanarak, üç noktalı eğme deneyi için gerekli hesaplamalar elde edilir. Buna göre, maksimum kuvvette kemikte oluşan maksimum eğme momenti

$$M_{maks} = F_{maks}L/4$$

denkleminde hesaplanır. Burada, L iki mesnet arası mesafedir (Şekil 3.8. C).

Eğme dayanımı ise;

$$\sigma_{\text{maks}} = M_{\text{maks}} C / I$$

olarak hesaplanır. Burada, C nötral eksen den kesitin en uç noktasının orta eksen den mesafesi (mm) (Şekil 3.8. B), I ise kesitin atalet momenti (mm⁴) olarak belirtilmiştir. Şekil 3.8.B'de kesit şekli verilen dairesel bir kesitin atalet momenti ise;

$$I = \pi(R_2^4 - R_1^4) / 4$$

olarak hesaplanır. R₁ ve R₂ sırasıyla iç ve dış yarıçaplardır [78].

3.5.7. İstatistiksel Analiz

KMY ve biyomekaniksel bulguların istatistiksel analizi için ANOVA test ve posthoc test olarak ise Bonferroni test kullanılmıştır. Histomorfometri sonuçları için ise Kruskal-Wallis test ve posthoc test olarak ise Dunn test kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler için *p* değeri olarak 0.05 belirlenmiştir.

BULGULAR

Deneyleyler ortalama 200-250 g. ağırlıklarındaki yetişkin (12 haftalık) dişi sıçanlar ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen tüm bulgular Tablo 2 de verilmiştir.

4.1. Biyomekanik Bulguları

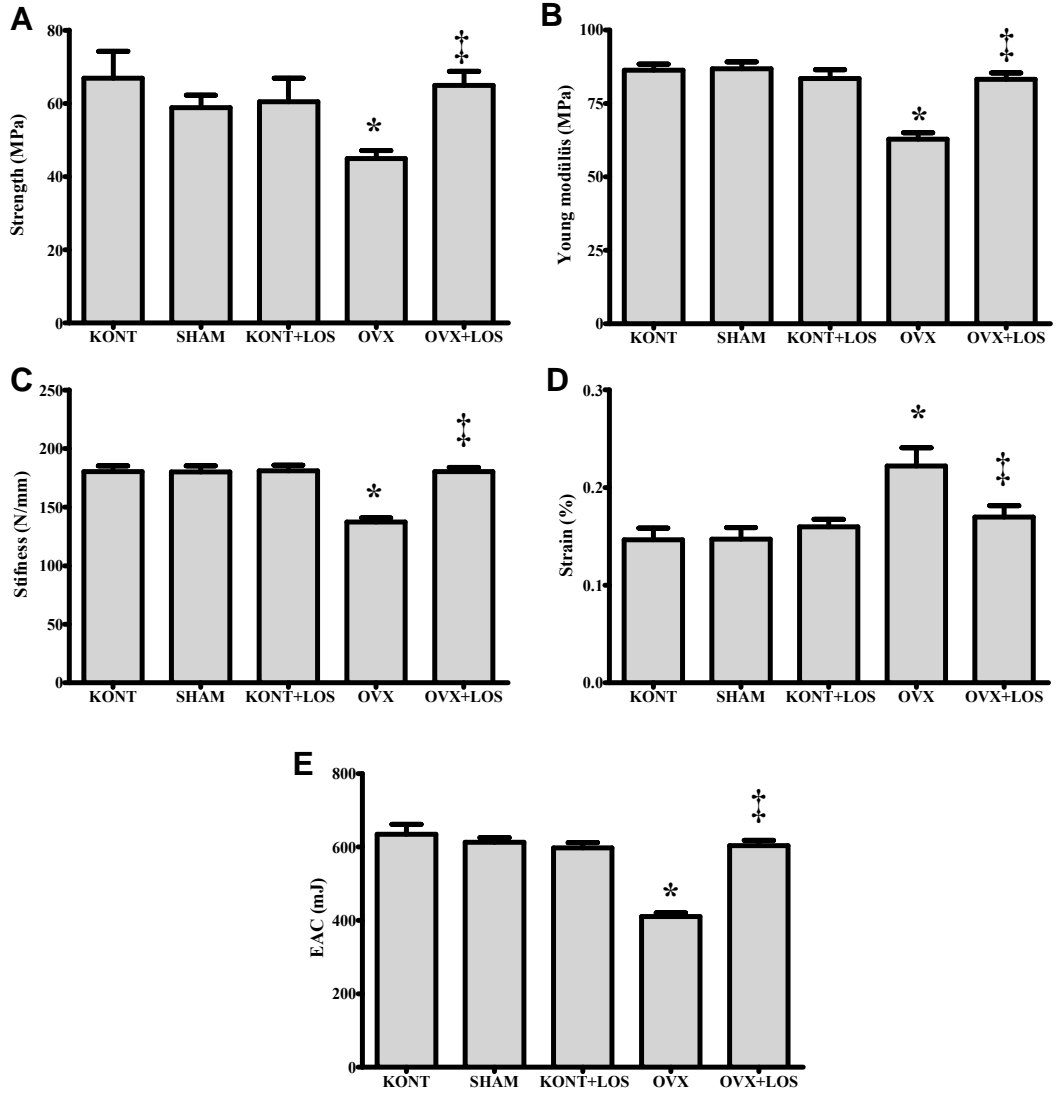
4.1.1. Çekme Testi Bulguları

20 haftalık tedavi gruplarının tensile strength, strain, stiffness, young modülüs ve EAC değerleri şekil 4.1’de verilmiştir. Bu gruplardan elde edilen parametrelere göre Losartan’ın tedavi edici etkisi çok net şekilde görülmüştür. Bulgularımıza göre overektomiye bağlı gelişen osteoporozdan dolayı OVX grubunun tensile strength değerinin KONT grubundan daha düşük olduğu görülürken strain değeri ise daha istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.005$). Öte yandan Losartan verilen OVX-LOS grubunun tensile strength değeri OVX grubundan daha yüksek iken strain değeri anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0.005$). Bu bulgu Losartan’ın tedavi edici etkisinin en önemli göstergesidir. Stiffness değerlerine baktığımız zaman OVX grubunun bu değeri KONT grubundan daha düşüktür fakat OVX-LOS grubunun bu değeri OVX grubundan istatistiksel olarak daha yüksektir ($p<0.005$).

Öte yandan osteoporozun etkilerinin görüldüğü OVX grubunun young modülüs’ü ve EAC değerleri KONT grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkarken ($p<0.005$) OVX-LOS grubunun bu değerleri OVX grubundan anlamlı olarak daha yüksektir ve OVX-LOS grubunun Losartan’ın etkilerinden dolayı daha yüksek enerji absorblama kapasitesine sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 4.1.2. Bütün grupların KMY, çekme ve eğme testlerinden elde edilen değerler ile yüzde alveolar alan değerleri (ortalama ± standart hata). * p< 0.005 KONT grubuna karşı ve ‡ p< 0.005 OVX grubuna karşı ve # p< 0.005 OVX-1 grubuna karşı.

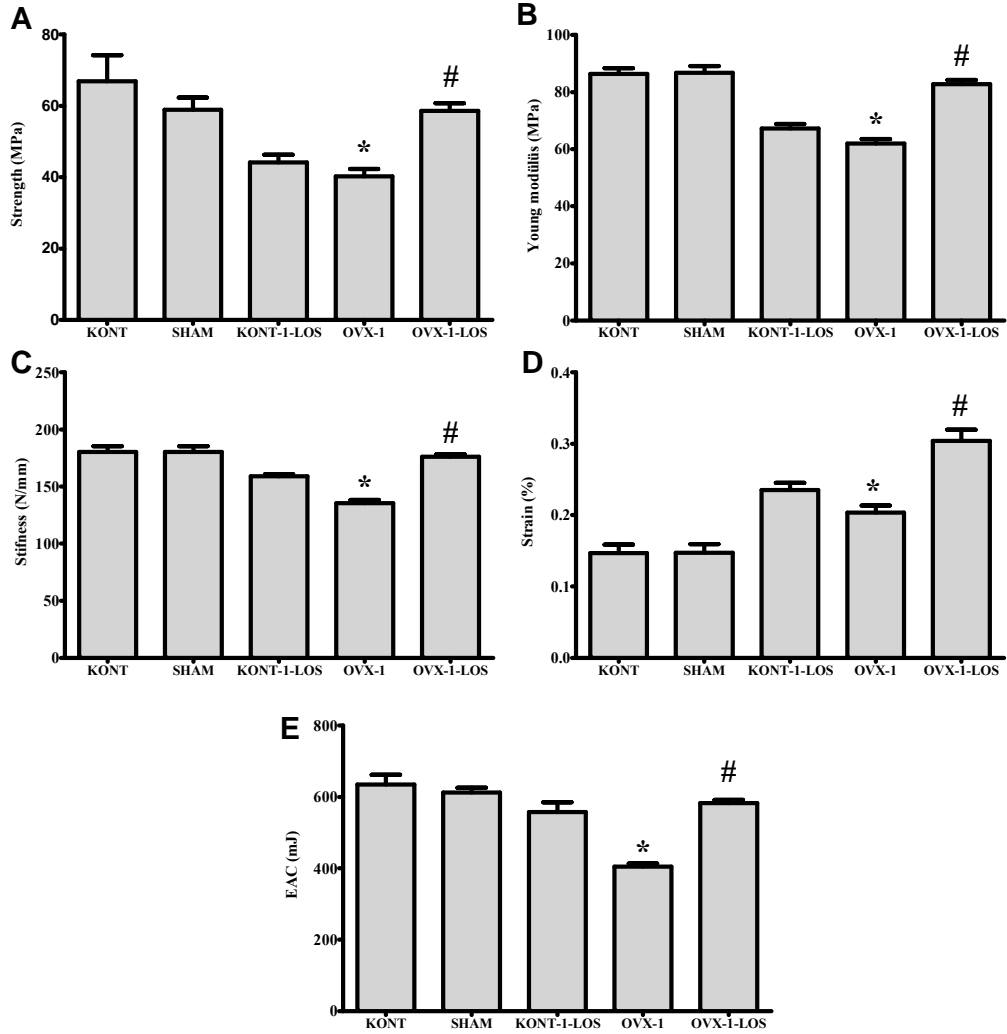
	KONT	SHAM	KONT-LOS	OVX	OVX-LOS	KONT(1)+LOS	OVX(1)	OVX(1)+LOS
KMY (g/cm²)	0.1331±0.0012	0.1301±0.0023	0.1266±0.0019	0.1150±0.0008 *	0.1215±0.0011 ‡	0,1239± 0,0011	0,1186±0,0013*	0,1192±0,0016
Çekme Testi								
Strength (MPa)	64.45±6.89	58.89±3.15	60.45±5.26	48.12±3.82 *	64.90±3.84 ‡	44,20±2,16	40,25±2,07*	58,58±2,19#
Strain (%)	0.15±0.01	0.15±0.01	0.16±0.01	0.22±0.02 *	0.17±0.01 ‡	0,23±0,01	0,20±0,01*	0,30±0,016#
E.A.C.(mJ)	634.71±27.43	612.72±12.92	597.49±11.76	410.64±9.57 *	604.19±14.11 ‡	557,40±27,44	404,40±9,10*	583,00±8,95#
Young modülüs (MPa)	86.34±2.07	86.77±2.37	83.45±2.50	62.86±2.16 *	83.22±2.09 ‡	67,22±1,54	61,94±1,56*	82,70±1,53#
Stifness (N/mm)	180.38±5.05	180.19±5.20	181.11±3.89	137.49±3.33 *	180.44±3.33 ‡	158,90±1,99	135,40±2,69*	176,10±2,05#
Eğme testi								
Fleksural strength (MPa)	218.64±5.27	207.45±3.34	201.80±4.50	168.12±3.38 *	205.95±5.69 ‡	204,20±4,32	191,50±4,31*	220,00±4,31#
Fleksural modülüs (GPa)	9.71±0.46	10.26±0.48	9.46±0.45	6.33±0.25 *	10.50±0.45 ‡	7,70±0,23	6,40±0,19*	10,94±0,49#
SEM								
% alveolar alan	9.20±0.28	10.80±0.36	11.19±0.33	16.48±0.78 *	10.73±0.34 ‡	11,20±0,61	17,12±0,52*	12,86±1,19#



Şekil 4.1 Overektominin 12. Haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin ratların femurları üzerindeki etkilerinin çekme testi ile gösterilmesi. Overektominin, çekme testleri sonucunda hesaplanan strength (A), Young modülüs (B), stiffness (C) ve EAC (E) değerlerini düşürürken strain (D) değerini artırdığı öte yandan Losartanın strain dışındaki tüm biyomekaniksel parametreleri artırdığı görülmektedir. * $p < 0.005$ KONT grubuna karşı ve † $p < 0.005$ OVX grubuna karşı.

12 haftalık grupların çekme testi sonuçları şekil 4.2’de verilmiştir. Bu gruplarda ise overektominin ilk gününden itibaren Losartan verilen OVX-1-LOS grubunun tensile strength değeri OVX-1 grubundan istatistiksel olarak daha yüksek görülürken, OVX-1 grubunun çekme dayanımı KONT grubundan anlamlı olarak daha düşük gözlemlenmiştir ($p < 0.005$). Bir diğer parametre olan strain değerlerine bakılınca OVX-1 grubunun strain değeri KONT grubundan yüksek iken, OVX-1-LOS grubunun strain değeri ise OVX-1 grubundan istatistiksel olarak daha yüksektir ($p < 0.005$). Osteoporozun yaratmış olduğu deformasyonlardan dolayı OVX-1 grubunun stiffness, young modülüs ve EAC değerleri KONT grubundan daha düşük görülürken Losartan tedavisi verilen OVX-1-LOS grubunun bu değerleri OVX-1 grubundan istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.005$). Bu sonuçlara

göre 12 haftalık gruplarda Losartan'ın strain dışındaki tüm parametreleri düzelttiği görülmüştür. Osteoporozla ilgili gelişen deformasyon sonucu kemiğin kuvvet karşısında uzama miktarı artmasına rağmen Losartan'ın strain değerini düşürmediği görülmüştür.

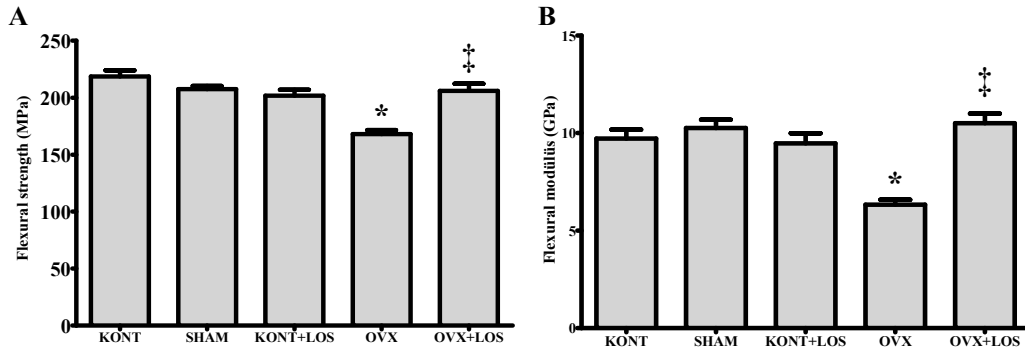


Şekil 4.2. Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin ratların femurları üzerindeki etkilerinin çekme testi ile gösterilmesi. 12 haftalık osteoporoz süresi sonunda yapılan çekme testinden elde edilen parametrelerde OVX grubunda strength (A), Young modülüs (B), stiffness (C), strain (D) ve EAC (E) değerlerinin azaldığı, öte yandan Losartan'ın tüm biyomekaniksel parametreleri artırdığı görülmektedir. * $p < 0.005$ KONT grubuna karşı ve # $p < 0.005$ OVX-1 grubuna karşı.

4.1.2. Eğme Testi Bulguları

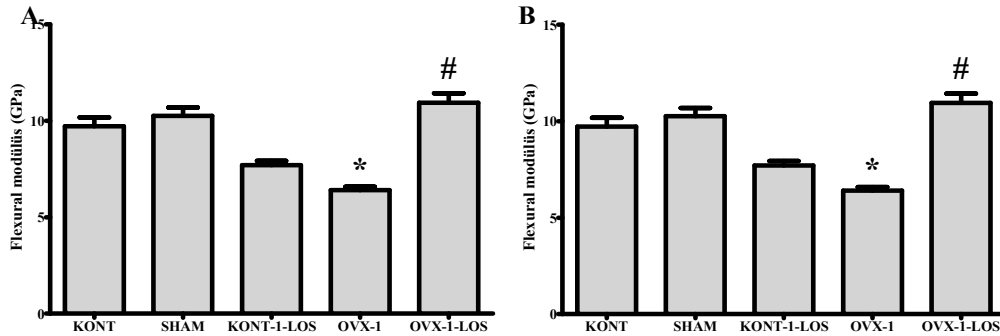
20 haftalık grupların fleksural strength ve fleksural modülüs değerleri şekil 4.3'de verilmiştir. Eğme testinden elde edilen bu bulgulara göre OVX grubunun eğme dayanım ve eğme modülü değerleri KONT grubundan istatistiksel olarak daha düşüktür ($p < 0.005$). Fakat Losartan'ın tedavi edici etkileri OVX-LOS grubunun bu değerlerini anlamlı olarak OVX grubundan istatistiksel olarak daha yüksek hale

getirmiştir ($p<0.005$). Bu değerler ışığında eğme testlerinde Losartan verilen grubun kuvvet karşısındaki dayanım gücü artmıştır.



Şekil 4.3. Overektominin 12. haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin eğme testleri sonucunda hesaplanan fleksural strength ve fleksural modülüs değerlerine etkisi. OVX grubunun fleksural strength (A) ve fleksural modülüs (B) değerleri KONT grubundan daha düşüktür. 8 hafta süren Losartan tedavisi OVX-LOS grubunun bu değerlerini KONT grubu seviyesine getirmiştir. * $p<0.005$ KONT grubuna karşı ve † $p<0.005$ OVX grubuna karşı.

12 haftalık gruplarda ise OVX-1-LOS grubunun fleksural strength ve fleksural modülüs değerleri OVX-1 grubundan anlamlı olarak daha yüksek görülürken ($p<0.005$) OVX-1 grubunun bu değerleri KONT-1 grubundan daha düşük belirlenmiştir ($p<0.005$) (şekil 4.4). 12 haftalık gruplarda yapılan eğme testlerinde de Losartan osteoporotik gruplarda kemiğin kuvvet karşısındaki dayanım gücü artırmıştır.

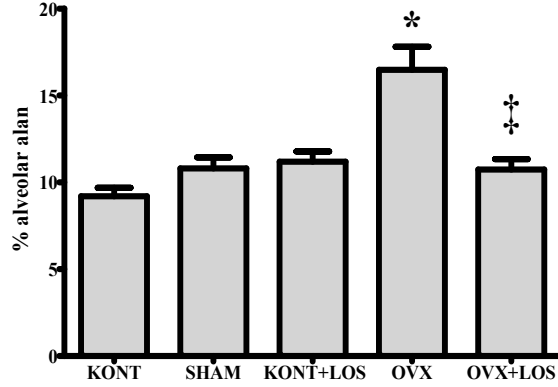


Şekil 4.4. Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin eğme testleri ile hesaplanan fleksural strength ve fleksural modülüs değerlerine etkisi. OVX-1 grubunun fleksural strength (A) ve fleksural modülüs (B) değerleri KONT grubundan daha düşüktür. 12 hafta süren Losartan tedavisi OVX-1-LOS grubunun bu değerlerini artırmıştır. * $p<0.005$ KONT grubuna karşı ve # $p<0.005$ OVX-1 grubuna karşı.

4.2. Histomorfomerik Bulgular

20 haftalık gruplar için trabeküler kemikte bulunan alveolar alanların yüzde oranı şekil 4.5'de verilmiştir. Bu bulgulara göre OVX grubunda osteoporozdan dolayı trabeküller zayıflamış bunun sonucunda ise bu grubun alveolar yüzde alanlarının oranı KONT grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek çıkmıştır

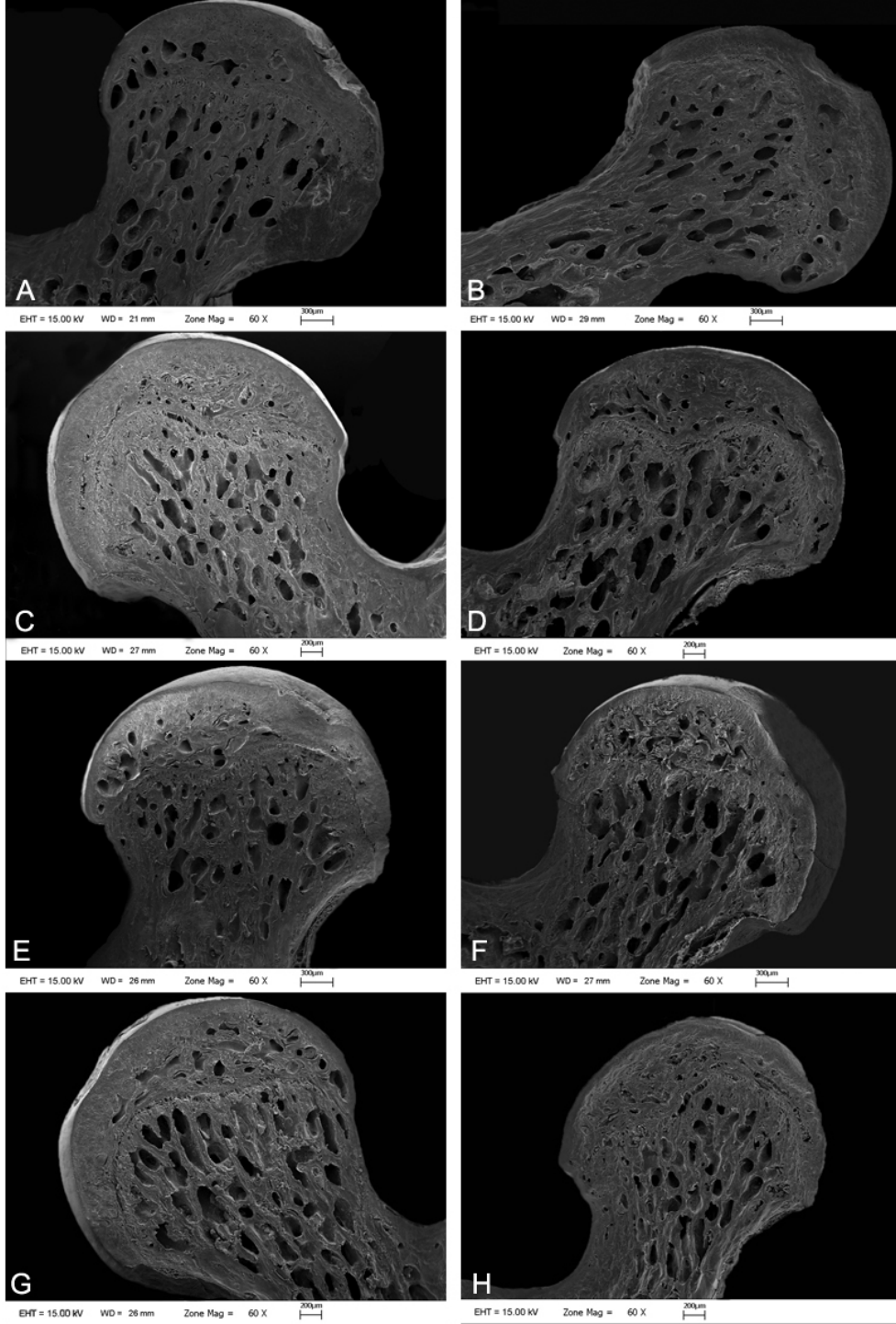
($p < 0.005$). Losartan tedavisi uygulanan grupta ise osteoporozun yaratmış olduğu deformiteler ortadan kalktığı için trabeküller güçlenmiş ve bu gruptaki alveolar alanların yüzde oranı OVX grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük çıkmıştır ($p < 0.005$).



Şekil 4.5 Overektominin 12. haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin SEM görüntüleri sonucunda hesaplanan alveolar alanların yüzde oranına etkisi. OVX grubunda trabeküller zayıflamış bunun sonucunda ise bu grubun alveolar yüzde alan oranı KONT grubuna göre daha yüksek çıkmıştır öte yandan Losartan verilen grupta (OVX-LOS) ise alveolar alanların yüzde oranı OVX grubuna göre daha düşük çıkmıştır. * $p < 0.005$ KONT grubuna karşı ve ‡ $p < 0.005$ OVX grubuna karşı.

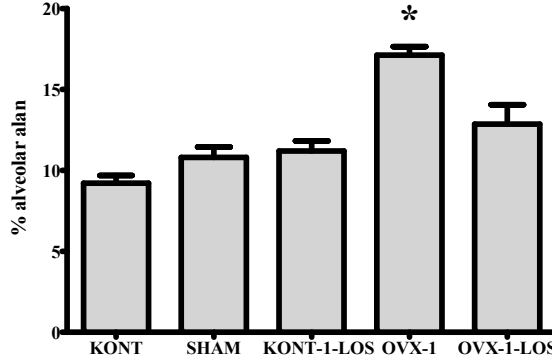
Elde edilen SEM görüntülerine göre OVX grubunda KONT grubuna göre trabeküller azalmış ve zayıflamış, total alveolar alanlar ise artmıştır. OVX-LOS grubunda ise trabeküler bağlantılar OVX grubuna göre daha güçlenmiş ve artmış iken alveolar alanlar ise azalmıştır. KONT-LOS grubundan elde edilen SEM görüntülerinde ise trabeküler yapıların ve alveolar alanların KONT grubuna benzediği görülmektedir..

12 haftalık gruplardan elde edilen SEM görüntülerine bakıldığı zaman OVX-1 grubunda osteoporozdan dolayı trabeküllerin zayıfladığı bundan dolayı ise alveolar alanların oranlarının anlamlı oranda arttığı görülmüştür. OVX-1-LOS grubunda ise trabeküllerin OVX-1 grubuna göre daha da güçlenmiştir fakat OVX-1-LOS grubu ile OVX-1 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.005$). Tüm grupların SEM görüntüleri şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. 20 haftalık ve 12 haftalık grupların caput femoris bölgesinden 60x büyütmede elde edilen SEM görüntüleri. KONT grubu (A), SHAM grubu (B), KONT-LOS grubu (C), OVX grubu (D), OVX-LOS grubu (E), KONT-1-LOS grubu (F), OVX-1 grubu (G) ve OVX-1-LOS grubu (H). 20 haftalık gruplarda KONT, SHAM ve KONT-LOS gruplarında trabeküler yapılar benzerlik gösterirken OVX grubunda trabeküllerin azalmasından dolayı alveolar yapılar oldukça genişlemiştir. Losartan verilen OVX-LOS grubunda ise trabeküller güçlenmiş ve alveolar alanlar azalmıştır. 12 haftalık gruplarda ise OVX-1 grubunda trabeküllerin azaldığı görülürken OVX-1-LOS grubunda ise trabeküllerde belirgin bir artış görülmektedir.

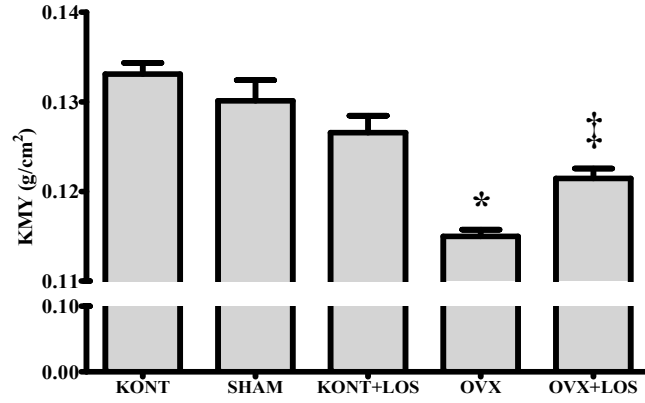
12 haftalık gruplarda alveolar alanların yüzde oranı tüm gruplar için şekil 4.7’de verilmiştir. Overektomiye bağlı gelişen osteoporozdan dolayı OVX-1 grubunun yüzde alveolar alan değeri KONT grubundan anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0.005$). Overektominin birinci gününden itibaren Losartan tedavisi verilen OVX-1-LOS grubunun yüzde alveolar alan değerinin OVX-1 grubundan daha düşük olarak hesaplanmasına rağmen bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir tesbit edilmemiştir ($p>0.005$).



Şekil 4.7. Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin SEM görüntüleri sonucunda hesaplanan alveolar alanların yüzde oranına etkisi. OVX-1 grubunda alveolar alanların yüzde oranı KONT grubuna göre artmış öte yandan Losartan verilen grupta (OVX-1-LOS) ise alveolar alanların yüzde oranı ile OVX grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. * $p<0.005$ KONT grubuna karşı ve # $p>0.005$ OVX-1 grubuna karşı.

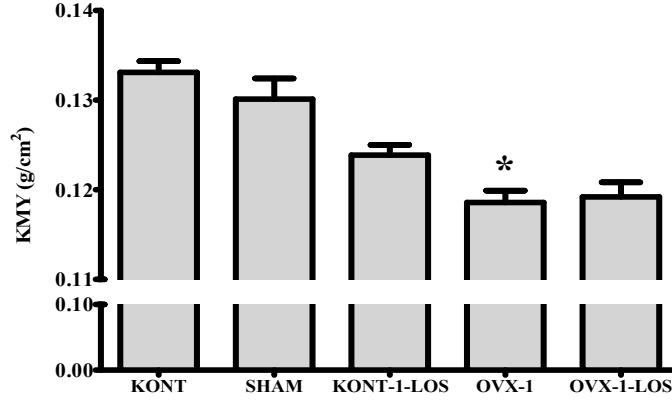
4.3. KMY bulguları

20 haftalık gruplardan elde edilen KMY ölçümlerine göre osteoporozdan dolayı OVX grubunun KMY değeri KONT grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,005$). Losartan tedavisi uygulanan OVX+LOS grubunun KMY değeri OVX grubundan istatistiksel olarak daha yüksektir ($p<0,005$)(şekil 4.8). Elde ettiğimiz KMY sonuçlarına göre OVX grubunda osteoporozla bağlı olarak gelişen kemik kaybı net bir şekilde gözlemlenirken ilaç tedavisi uyguladığımız OVX+LOS grubunda mineralizasyonun arttığı ve kemik kütlesinin geliştiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.8. Overektominin 12. haftasından itibaren 8 hafta süren Losartan tedavisinin KMY değeri üzerine etkisi. OVX grubunun KMY değeri KONT grubuna göre daha düşük olmasına rağmen OVX-LOS grubunun KMY değeri OVX grubuna göre daha yüksektir. * $p < 0.005$ KONT grubuna karşı ve ‡ $p < 0.005$ OVX grubuna karşı.

12 hafta süren grupların KMY değerlerine bakılınca OVX-1 grubunun KMY değeri KONT grubunun KMY değerinden istatistiksel olarak daha düşüktür ($p < 0,005$). Öte yandan Losartan tedavisi verilen OVX-1-LOS grubu ile OVX-1 grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,005$) (şekil 4.9). Bu grupların KMY değerlerine baktığımız zaman Losartan'ın 12 haftalık sürede kemiğin mineralizasyonunu artırmadığı açık bir şekilde görülmüştür.



Şekil 4.9. Overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin KMY değeri üzerine etkisi. OVX-1 grubunun KMY değeri KONT grubuna göre daha düşük görülmüştür öte yandan Losartan tedavisi verilen grubun(OVX-1-LOS) KMY değerinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir.* $p < 0.005$ KONT grubuna karşı ve # $p < 0.005$ OVX-1 grubuna karşı.

TARTIŞMA

Literatürde kemik dokunun biyomekanik özelliklerini çekme, eğme ve basma testleri kullanılarak ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır [7, 10, 17, 36, 45, 65, 82]. Bu testler esnasında kemiğin kırılma dayanımını ya da kemiğin gücünü ortaya koymak için maksimum dayanım, stiffness, elastik modülüs ve enerji absorblama kapasitesi çok sık olarak hesaplanan parametrelerdir. Çalışmamızda kemik dokunun mekanik özelliklerini ortaya koymak için çekme ve eğme testleri olmak üzere iki farklı mekanik test uygulanmıştır ve bu testlerde tensile strength, young modülüs, strain, stiffness, EAC, fleksural strength ve fleksural modülüsü hesaplanmıştır.

Overektomi kemik dokuda özellikle de femur ve lumbal vertebralarda mineralizasyondaki kayıba ek olarak mekanik ve histomorfometrik değişiklikler yaratır [7, 10, 17, 36, 45, 65, 82]. Çalışmamızda Losartan'ın overektomili sıçan femurunun mineral yoğunluk, histomorfometrik ve biyomekanik özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Osteoporozun yaratmış olduğu deformasyonun çok net bir şekilde kemiğin biyomekanik özelliklerine yansıdığı görülmektedir. 12 haftalık ve 20 haftalık gruplarda bulunan OVX ve OVX-1 gruplarının biyomekanik parametrelerine bakıldığı zaman bu çok açık bir şekilde görülmektedir. Çekme deneylerinden elde edilen OVX-LOS grubunun tensile strength, young modülüs, stiffness ve EAC değerleri OVX grubundan anlamlı olarak daha yüksektir. Öte yandan OVX-LOS grubunun strain değeri OVX grubundan istatistiksel olarak daha düşüktür. Bu sonuçlar ışığında Losartan tedavisinin azalan strain ve artan young modülüs değerlerinde kemiği daha az sünek fakat daha sert bir yapıya kavuşturduğu söylenebilir. Bu nedenden dolayı OVX grubuna ait femurların diğer gruplara ait femurlara göre daha fazla sünek olduğu görülmektedir. 20 haftalık gruplarda Losartan'ın kemiğin dayanımını artırdığı ve strain değerini düşürdüğü görülmektedir.

Osteoporotik bir kemik sert ama kırılma eğilimindedir. Bunun sonucunda da kuvvete maruz kaldığında kırılma riski oldukça artar [86]. Kemik kütlelerinin efektif olarak artması ve kemik dokuyu oluşturan materyallerin gelişmesi iskelet yapının daha güçlü olmasını sağlar. Kemik dokudaki bu yapısal değişiklikler aynı zamanda kemik dokunun biyomekanik özelliklerine de etki eder [85, 87]. Biyomekanik açıdan kırılma eğilimi artmış bir osteoporotik kemiği dayanıklı hale getirmenin birkaç yolu vardır. Bunlardan ilki kemik kütlelerinin artmasıdır. Kütle artan kemikler fiziksel olarak daha da büyüyeceğinden kuvvet karşısındaki dayanıklılığı da artacaktır. İkinci yol ise kemik kütlelerinin efektif bir şekilde dağıtılmasıdır. Örneğin mekanik gereksinim nerede fazla ise o bölgede kemik kütlelerinin daha fazla olması gerekmektedir. Üçüncü yol ise kemik dokusunun materyal özelliklerini geliştirmektir. Bahsedilen bu yollardan ilk ikisi kemikteki yapısal değişiklikleri ifade eder, kemiğin dokusal özellikleri ile ilgilidir ve intrinsik biyomekanik özellikler olarak bilinir. Kemiklerin materyal özellikleri ile ilgili olan üçüncü yol ise ekstrinsik biyomekanik özellikler olarak bilinir ve kırılma kuvveti,

kuvvet karşısında uzama ve enerji absorblama kapasitesi buna örnek olarak verilebilir. Öte yandan intrinsik biyomekanik özellikler ise kuvvet dayanımı, strain ve elastik modülüs'dür [16, 85, 88]. Kemik dokunun ekstrinsik ve intrinsik biyomekanik özellikleri kırık tedavisinde oldukça önemlidir. Efektif bir kırık tedavisi için ekstrinsik biyomekanik özellikler artırılmalıdır aynı zamanda intrinsik biyomekanik özellikler ise zarar görmemelidir [16, 85]. Çalışmamızda AT1 reseptör blokörü olarak verilen Losartan'ın (OVX-LOS) kemik dokuda ekstrinsik biyomekanik karakterleri geliştirdiği fakat kemiğin intrinsik biyomekanik karakterlerini de bozmadığı görülmüştür. Elde edilen bu veriler 20 haftalık gruplarda Losartan'ın tedavi edici etkilerinin kemiğin biyomekanik özelliklerine yansıdığı ve bu gruplarda efektif bir tedaviye ulaşıldığını göstermektedir.

Çalışmamızda üzerinde durulan bir başka parametre KMY ölçümleridir. KMY ölçümleri osteoporozla bağlı olarak gelişen kemik kaybını en kolay ve net bir şekilde ortaya koyan bir yöntemdir. OVX grubunun KMY sonuçları KONT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmıştır. Bu sonuç osteoporozla bağlı olarak kemik kaybı olduğunu göstermesi bakımından önemlidir. Öte yandan OVX-LOS grubunun KMY değeri ise OVX grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksektir.

Osteoporotik bir kemiğin kırık riskinin artması azalan KMY değeri ile ilişkilendirilmiştir [14, 34]. OVX ve OVX-1 gruplarında KMY değerinin KONT grubuna göre azalması çekme ve eğme testlerinde strength değerlerinin de KONT grubuna göre düşük çıkması sonucunu doğurmaktadır. Literatürde artan KMY değeri ve azalan kırık riski arasında ters korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [29-30, 48, 60, 84]. Çalışmamızda OVX grubunun KMY değeri KONT grubuna göre istatistiksel olarak daha düşüktür. OVX-LOS grubunun KMY değeri OVX grubundan istatistiksel olarak yüksek çıkmasına rağmen KONT grubunun seviyesine gelemediği görülmüştür. Çalışmamızda elde edilen KMY değerleri ile ilişkilendirilmiş biyomekanik özellikler literatürle uyumludur.

Kemik mineralizasyonunun artması kemiğin biyomekanik karakterlerine de etki eder ve bu etki stiffness'ın artması kuvvet karşısında uzamanın (displacement) azalması şeklindedir [20, 85]. Sonuçlarımıza göre OVX-LOS grubunun KMY değeri OVX grubundan anlamlı olarak daha yüksektir. OVX-LOS grubunun stiffness değeri OVX grubundan daha yüksek olmasına rağmen strain değeri daha düşüktür.

Artan mineralizasyonun kemiğin yapısal sertliğini artırmasından dolayı kemiği daha kırılğan hale getirir [16, 20]. Bunlara ek olarak uygun bir şekilde mineralize olmuş kemik sertliği ve kırılğanlığı açısından iyi bir kombinasyon gösterir. Öte yandan zayıf mineralizasyona sahip bir kemik dayanıksız hale gelirken hipermineralize olmuş bir kemik ise oldukça kırılğandır [20, 85]. Pek çok osteoporoz tedavisi kemik kütlelerini ve mineralizasyonu geliştirir fakat bu durum aynı zamanda doku kalitesini de değiştirir. Osteoporoz tedavisinde kullanılan bifosfanatlar kemik yoğunluğunda artışa yol açar fakat yanlış kullanıldığında mikro hasarların tamirini zayıflatır ve kemik kırılğanlığını artırır [16]. Tedavi sürecinde kullanılan ilaçların mineralizasyonu artırması fakat kemiği hipermineralize hale getirmemesi gerekmektedir. Efektif bir kemik tedavisinde hipermineralizasyon istenen bir durum değildir. 20 haftalık gruplardan elde ettiğimiz sonuçlar Losartan tedavisinin

hipermineralizasyona yol açmadığını aksine kemiğin sertlik ve kırılabilirlik özellikleri ile iyi bir kombinasyon oluşturduğu görülmektedir. Öte yandan Losartan tedavisi ile iyi mineralize olmuş kemikte osteoporozla ilgili olarak gelişen kemik kaybının ortadan kalktığı görülmektedir.

Kemiğin yeniden düzenlenmesi osteoblast ve osteoklast aktivitesi ile olmaktadır. Overektomi yapılmış ratlarda östrojen yokluğundan dolayı kemik yapıda bozulmalar meydana gelir. Erben ve arkadaşları [31] osteoporotik deney hayvanlarında hem tibia'nın proksimalinde hem de vertebraların trabeküler bölümlerinde kemik kütlede azalma olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca overektomi yapılmış ratlarda tibia'nın trabeküler kemik oranının %77 oranında düştüğü Martel ve arkadaşları [59] tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre OVX grubuna ait femurların alveolar alanlarının oranı KONT grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksektir.

OVX grubundaki bu artışın osteoporozun trabeküler yapılarda yaratmış olduğu deformasyondan kaynaklandığı açıktır. Ancak OVX-LOS grubunda söz konusu bu alveolar alanların oranı OVX grubundan anlamlı olarak daha düşüktür. Bu durumun esas nedeni AT1 ve AT2 reseptörlerinin potansiyel bir osteoklast stimülatörü olmasından kaynaklanmaktadır [47]. Çalışmamızda AT1 reseptör blokörü olarak kullanılan Losartan osteoklastları inhibe etmelerinden dolayı trabeküler yapılar osteoporozun yaratmış olduğu deformasyondan çok fazla etkilenmemişlerdir. Bundan dolayı OVX-LOS grubundaki alveolar alanlar OVX grubundan istatistiksel olarak daha az oranlarda görülmüşlerdir. Bu sebeple Losartan kemik dokuda trabekülleri güçlendirmiş ve buna bağlı olarak da alveolar alanların oranlarını anlamlı olarak düşürmüştür. Elde etmiş olduğumuz bu bulgu Losartan'ın osteoporoz üzerinde teröpatik etkileri olduğu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlara göre AT1 reseptör blokajının hem kemik kütlelerini hem de kemiğin biyomekaniksel özelliklerini artırdığı öte yandan da trabeküler kemik içindeki alveolar alanların oranını azalttığı göstermektedir.

20 haftalık osteoporoz grupları üzerinde Losartan'ın tedavi edici olumlu etkileri, bütün parametrelerde görülmesine rağmen 12 haftalık gruplarda tespit edilememiştir. 12 hafta süren overektomi grubu ile (OVX-1) KONT grubu arasında anlamlı farklar görülmektedir. Fakat overektominin ilk gününden itibaren Losartan tedavisi verilen grup (OVX-1-LOS) ile OVX-1 gruplarının KMY ve yüzde alveolar alan değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunamamıştır.

KMY ve yüzde alveolar alan değerlerine zıt olarak biyomekanik parametrelerde daha olumlu etkiler görülmüştür. 12 haftalık osteoporozun yaratmış olduğu deformasyonda bile eğme deneylerinde fleksural strength ve fleksural modülüs, çekme deneylerinde tensile strength, stiffness, young modülüs ve EAC değerleri OVX-1 grubunda KONT grubundan istatistiksel olarak daha düşük görülmesine rağmen OVX-1-LOS grubunun bu değerleri OVX-1 grubundan istatistiksel olarak daha yüksektir. Bu parametreler göz önüne alınarak overektominin ilk gününden itibaren 12 hafta süren Losartan tedavisinin olumlu etkileri varmış gibi görülebilir. Fakat strain değerlerine bakıldığı zaman efektif bir

tedavi olmadığı görülmektedir. Çünkü OVX-1 grubunun strain değeri KONT grubundan istatistiksel olarak daha yüksek iken, OVX-1-LOS grubunun strain değeri ise OVX-1 grubundan daha yüksek görülmüştür.

12 haftalık grupların eğme ve çekme testleri sonucunda elde edilen değerler paralellik göstermemektedir. Efektif bir tedavi için overektominin ilk gününden itibaren verilen Losartan'ın 12 haftalık süre sonunda femurların strain değerlerinin azaltması, öte yandan young modülüs değerini de artırması beklenmektedir. Elde edilen sonuçlara göre OVX-1-LOS grubunun strain değeri OVX-1 grubunun strain değerinden istatistiksel olarak daha yüksektir. Losartan tedavisinin kemiğin young modülüsünü ile birlikte uzama miktarını da artırmıştır. Ortaya çıkan bu sonuç Losartan tedavisinin kemiğin intrinsik karakterleri üzerinde tedavi edici bir etkisi olmadığı aynı zamanda bu intrinsik mekanik karakterleri bozduğunun göstergesidir. Buna dayanarak OVX-1-LOS grubunun aynı OVX-1 grubu gibi sünek olduğu ve Losartan'ın bunu engellemediğini gösterir. Öte yandan overektomiye bağlı olarak gelişen osteoporoz tedavisi için kemiğin ekstrinsik ve intrinsik biyomekanik karakterlerinin de korunması gerekmektedir [16, 85, 88]. OVX-1-LOS grubunun strain değerinin OVX-1 grubunun strain değerine göre azalmaması aynı zamanda femurun intrinsik karakterlerinde bozulduğu anlamına gelir ki buda Losartan'ın 12 haftalık süreçte tam bir tedavi edici etkisinin olmadığını gösterir.

Bunu destekleyen bir başka önemli nokta ise mineralizasyon ve mekanik özellikler arasındaki ilişkinin pozitif yönde olmamasıdır. Çünkü OVX-1-LOS grubunun KMY değeri ile OVX-1 grubunun KMY değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemektedir. Bu sonuç ışığında Losartan'ın 12 haftalık süreçte hipermineralizasyon yaratmadığı gibi mineralizasyonu hiç artırmadığı söylenebilir. 12 haftalık deney ve kontrol gruplarının tüm sonuçlarına bakarak Losartan'ın osteoporoz oluşum süresine olumlu bir etkisi olmadığını görmekteyiz.

Çalışmamızda özetle AT1 reseptör blokörü olarak kullanılan Losartan'ın özellikle 20 haftalık gruplarda KMY değerlerini ve kemiğin biyomekanik özelliklerini artırdığını öte yandan trabekülleri güçlendirerek alveolar alanların yüzde oranını azalttığını göstermekteyiz.

Izu ve ark. [50] AT2 reseptör blokajının kemik hücrelerinin geri emilimini baskıladığını *in vivo* çalışmalarda ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda AT2 reseptörlerinin hem kemik formasyonunu baskıladığı hem de kemik geri emilimini artırdığı bildirilmiştir [50]. Broulik ve ark. [13] ise AT1 blokajının antihipertansif bir ilaç olarak kullanılabileceğini fakat bunun non-osteoporotik hayvanların KMY değerlerine herhangi bir etkisi olmadığını göstermişlerdir.

12 haftalık gruplardan elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak Li ve ark. [56] AT1 blokörü olarak Valsartan ve Telmisartan'ı 12 haftalık bir süre ile kullandıkları çalışmalarında femur ve lumbal vertebraların KMY değerlerine her hangi bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Çalışmamızda 12 haftalık gruplardan elde edilen sonuçlar Li ve ark.[56] nın bulgularıyla uyuşmaktadır fakat bizim çalışmamızda 20 haftalık gruplarda 12. haftada osteoporozla bağlı deformasyon geliştikten sonra yapılan AT1 reseptör blokajının femurun biomekaniksel karakterine

olumlu yönde etki ettiği görülmüştür. Literatürde bu konuda yapılan çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda overektomi yapıldıktan 12 hafta sonra Losartan tedavisine başlanmıştır. Overektomiden sonra geçen 12 haftalık bu süreçte kemik doku osteoporozun tüm deformatik etkilerine maruz kalmıştır. Bu deformasyon döneminin sonunda başlanılan 8 haftalık Losartan tedavisi ise osteoporozun zararlı etkilerini ortadan kaldırmıştır. Bu sonuçlar ışığında osteoporozun geç evrelerinde yapılan AT1 reseptör blokajının daha etkili olduğunu ve AT1'e ait sinyal sisteminin geç evrede daha etkin olduğunu düşünmekteyiz.

Shimizu ve ark. [81] AT1 reseptör blokörü olarak kullanılan olmesartanın osteoporozu engellediğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca Ang II verilen overektomili hayvanlarda kemik kütle seviyesinin baskılandığı fakat bunun AT2 reseptörleri üzerinden değil AT1 reseptörleri üzerinden olduğu ortaya koyulmuştur [81]. Bunlara ek olarak Hatton ve ark. [47] hücre kültürü deneylerinde angiotensin'in kemik geri emilimini artırdığını ve Ang I ve Ang II'nin osteoklastlar üzerinde potansiyel bir stimülatör olduğunu göstermişlerdir. AT1 reseptörlerinin fonksiyonları konusundaki bu çeşitlilik muhtemelen bu reseptöre bağlanan ligantın konsantrasyonu ile ilgilidir fakat literatürde osteoporoz modelinde kandaki Ang II seviyesinin ölçüldüğü herhangi bir veri bulunmamaktadır. Öte yandan Ang II'nin overektomi yapılmış ratların kemik dokuları üzerinde deformasyonu artırıcı etkilerinin olduğu da ortaya konulmuştur [81].

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular ışığında osteoporoz geliştikten sonra verilen AT1 reseptör blokörünün osteoporozu düzeltici ve tedavi edici etkisi vardır. Öte yandan osteoporoz gelişmeden verilen AT1 reseptör blokörünün osteoporozu önleyici etkisi yoktur.

SONUÇ

Bu çalışmada AT1 inhibisyonunun osteoporotik kemik doku üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu etkileri ortaya koymak için kemik dokunun biyomekaniksel özellikleri, trabeküllerin histolojik incelemeleri ve kemik mineral yoğunluk ölçümleri yapılmıştır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre overektominin ilk gününden itibaren 12 haftalık Losartan tedavisinin osteoporozu engellemediği görülmüştür. Bu gruplarda Losartan'ın kemiğin biyomekaniksel özelliklerine tam olarak olumlu etkiler göstermediği öte yandan kemiğin mineralizasyonu artırdığı fakat sağlıklı hayvanların kemik mineral yoğunluğu seviyesine getirmediği aynı zamanda trabekülleri güçlendirmedeği görülmüştür.

12 haftalık osteoporoz süresi sonunda verilen 8 haftalık Losartan tedavisi sonrası elde edilen verilerin ise AT1 reseptör blokajının osteoporozun zararlı etkilerini ortadan kaldırdığını göstermektedir.

Bu gruplarda Losartan tedavisinin osteoporozu uğramış femurların trabeküler yapılarının güçlendiği ve alveolar alanların azalttığı, kemiğin biyomekanik özelliklerinin arttığı ve kemiğin daha da güçlendiği görülmüştür. Ayrıca kemik mineral yoğunluğunun arttırdığı da saptanmıştır.

Sonuç olarak AT1 reseptör blokajının osteoporoz oluşum sürecine bir etkisi olmadığı fakat osteoporozu bağı olarak gelişen deformiteleri ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. Bütün bu sonuçlar ışığında osteoporoz ve buna bağı olarak gelişen kırıkların tedavisinde AT1'in yeni bir teröpatik hedef olduğu açıkça söylenebilir.

Bu sonuçları pekiştirecek ve etki mekanizmasının aydınlatılmasına katkıda bulunabilecek ek çalışmalar ile Losartan'ın ilerde osteoporozun yol açtığı kemik doku üzerindeki deformasyonları ortadan kaldırmak için kullanılabileceği bu çalışmada gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. www.emedicine.medscape.com/article/386808-overview, (Erişim: Mart 2010).
2. http://www.bosco-system.com/images/osteoporosis_3969.jpg, (Erişim: Mart 2010).
3. http://www.utdol.com/patients/content/images/ENDO/5222/Osteoporosis_bone_anatomy.jpg, (Erişim: Mart 2010).
4. Antonucci DM, Sellmeyer DE, Cauley JA, Ensrud KE, Schneider JL, Vesco KK, Cummings SR, Melton LJ, 3rd (2005) Postmenopausal bilateral oophorectomy is not associated with increased fracture risk in older women. *J Bone Miner Res*, 20:741-7.
5. Arıncı K, Elhan A (1995) *Anatomi. 1.*, Güneş Kitabevi, Ankara, s: 1-7.
6. Aydoğan S (1996) Paratiroid hormonu, kalsitonin, kalsiyum ve fosfat metabolizması, D vitamini, kemik ve dişler. In: Guyton Tıbbi Fizyoloji, Çavuşoğlu H (Ed). Yüce Yayınları, Nobel Tıp Kitabevleri, istanbul, s:985-997.
7. Bagi CM, Mecham M, Weiss J, Miller SC (1993) Comparative morphometric changes in rat cortical bone following ovariectomy and/or immobilization. *Bone*, 14:877-83.
8. Benhamou CL (2007) Effects of osteoporosis medications on bone quality. *Joint Bone Spine*, 74:39-47.
9. Blum SC, Heaton SN, Bowman BM, Hegsted M, Miller SC (2003) Dietary soy protein maintains some indices of bone mineral density and bone formation in aged ovariectomized rats. *J Nutr*, 133:1244-9.
10. Bonnet N, Benhamou CL, Malaval L, Goncalves C, Vico L, Eder V, Pichon C, Courteix D (2008) Low dose beta-blocker prevents ovariectomy-induced bone loss in rats without affecting heart functions. *J Cell Physiol*, 217:819-27.
11. Bonnick SL (2004) *Bone densitometry in clinical practice*. Humana Press, New Jersey, s: 32.
12. Boyle P, Leon ME, Autier P (2001) Epidemiology of osteoporosis. *J Epidemiol Biostat*, 6:185-92.
13. Broulik PD, Tesar V, Zima T, Jirsa M (2001) Impact of antihypertensive therapy on the skeleton: effects of enalapril and AT1 receptor antagonist losartan in female rats. *Physiol Res*, 50:353-8.
14. Burr DB (2002) Osteoporosis and fracture risk: bone matrix quality. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2:525-6.
15. Busse B, Hahn M, Soltan M, Zustin J, Puschel K, Duda GN, Amling M (2009) Increased calcium content and inhomogeneity of mineralization render bone toughness in osteoporosis: Mineralization, morphology and biomechanics of human single trabeculae. *Bone*, 45:1034-43.
16. Bütün B (2004) Biyomekanik etmenler. In: Osteoporozda kemik kalitesi, Kutsal YG (Ed). Güneş Kitabevi, Ankara, s:123-134.
17. Comelekoglu U, Bagis S, Yalin S, Ogenler O, Yildiz A, Sahin NO, Oguz I, Hatungil R (2007) Biomechanical evaluation in osteoporosis: ovariectomized rat model. *Clin Rheumatol*, 26:380-4.

18. Cummings SR, Black DM, Rubin SM (1989) Lifetime risks of hip, Colles', or vertebral fracture and coronary heart disease among white postmenopausal women. *Arch Intern Med*, 149:2445-8.
19. Cummings SR, Browner WS, Bauer D, Stone K, Ensrud K, Jamal S, Ettinger B (1998) Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med*, 339:733-8.
20. Currey JD (1990) Physical characteristics affecting the tensile failure properties of compact bone. *J Biomech*, 23:837-44.
21. Czerny B, Pawlik A, Juzyszyn Z, Mysliwiec Z (2003) Effect of tamoxifen on bone mineral density and blood lipids in ovariectomized rats. *Pol J Pharmacol*, 55:1137-42.
22. Çimen A (1987) *Anatomi*. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, s: 5-10.
23. Dalsky GP, Stocke KS, Ehsani AA, Slatopolsky E, Lee WC, Birge SJ, Jr. (1988) Weight-bearing exercise training and lumbar bone mineral content in postmenopausal women. *Ann Intern Med*, 108:824-8.
24. De Mello WC, Danser AH (2000) Angiotensin II and the heart : on the intracrine renin-angiotensin system. *Hypertension*, 35:1183-8.
25. Dere F (1990) *Anatomi*. Adana Nobel Tıp Kitabevi, Adana, s: 11-16.
26. Dinh DT, Frauman AG, Johnston CI, Fabiani ME (2001) Angiotensin receptors: distribution, signalling and function. *Clin Sci (Lond)*, 100:481-92.
27. Dostal DE (2000) The cardiac renin-angiotensin system: novel signaling mechanisms related to cardiac growth and function. *Regul Pept*, 91:1-11.
28. Duarte PM, Goncalves PF, Sallum AW, Sallum EA, Casati MZ, Humberto Nociti F, Jr. (2004) Effect of an estrogen-deficient state and its therapy on bone loss resulting from an experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*, 39:107-10.
29. Eastell R (1998) Treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*, 338:736-46.
30. Egermann M, Goldhahn J, Schneider E (2005) Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*, 16 Suppl 2:S129-38.
31. Erben RG, Bromm S, Stangassinger M (1998) Short-term prophylaxis against estrogen depletion-induced bone loss with calcitriol does not provide long-term beneficial effects on cancellous bone mass or structure in ovariectomized rats. *Osteoporos Int*, 8:82-91.
32. Ergene N (1996) Kalsiyum metabolizmasının hormonal kontrolü ve kemik fizyolojisi. In: *Ganong Tıbbi Fizyoloji*, (Ed). Barış Kitabevi, Ankara, s:471-487.
33. Falch JA, Sandvik L (1990) Perimenopausal appendicular bone loss: a 10-year prospective study. *Bone*, 11:425-8.
34. Faulkner KG (2000) Bone matters: are density increases necessary to reduce fracture risk? *J Bone Miner Res*, 15:183-7.
35. Flieger J, Karachalios T, Khaldi L, Raptou P, Lyritis G (1998) Mechanical stimulation in the form of vibration prevents postmenopausal bone loss in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*, 63:510-4.
36. Fox J, Miller MA, Newman MK, Metcalfe AF, Turner CH, Recker RR, Smith SY (2006) Daily treatment of aged ovariectomized rats with human parathyroid hormone (1-84) for 12 months reverses bone loss and enhances trabecular and cortical bone strength. *Calcif Tissue Int*, 79:262-72.

37. Frost HM (1988) Vital biomechanics: proposed general concepts for skeletal adaptations to mechanical usage. *Calcif Tissue Int*, 42:145-56.
38. Frost HM (1998) From Wolff's law to the mechanostat: a new "face" of physiology. *J Orthop Sci*, 3:282-6.
39. Frost HM (2003) Bone's mechanostat: a 2003 update. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 275:1081-101.
40. Glaser DL, Kaplan FS (1997) Osteoporosis. Definition and clinical presentation. *Spine*, 22:12S-16S.
41. Gövsa Gökmen F, Ertürk M (2003) Hareket Sistemi / Kemikler (Ossa). In: *Sistematik Anatomi*, Gövsa Gökmen F (Ed). İzmir Güven Kitabevi, İzmir, s:17-22.
42. Grant FD, Mandel SJ, Brown EM, Williams GH, Seely EW (1992) Interrelationships between the renin-angiotensin-aldosterone and calcium homeostatic systems. *J Clin Endocrinol Metab*, 75:988-92.
43. Hadjidakis D, Kokkinakis E, Sfakianakis M, Raptis SA (1999) The type and time of menopause as decisive factors for bone mass changes. *Eur J Clin Invest*, 29:877-85.
44. Hagiwara H, Hiruma Y, Inoue A, Yamaguchi A, Hirose S (1998) Deceleration by angiotensin II of the differentiation and bone formation of rat calvarial osteoblastic cells. *J Endocrinol*, 156:543-50.
45. Han SM, Szarzanowicz TE, Ziv I (1998) Effect of ovariectomy and calcium deficiency on the ultrasound velocity, mineral density and strength in the rat femur. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, 13:480-484.
46. Hart KJ, Shaw JM, Vajda E, Hegsted M, Miller SC (2001) Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. *J Appl Physiol*, 91:1663-8.
47. Hatton R, Stimpel M, Chambers TJ (1997) Angiotensin II is generated from angiotensin I by bone cells and stimulates osteoclastic bone resorption in vitro. *J Endocrinol*, 152:5-10.
48. Hayirlioglu A, Gokaslan H, Andac N (2006) The effect of bilateral oophorectomy on bone mineral density. *Rheumatol Int*, 26:1073-7.
49. Hiruma Y, Inoue A, Hirose S, Hagiwara H (1997) Angiotensin II stimulates the proliferation of osteoblast-rich populations of cells from rat calvariae. *Biochem Biophys Res Commun*, 230:176-8.
50. Izu Y, Mizoguchi F, Kawamata A, Hayata T, Nakamoto T, Nakashima K, Inagami T, Ezura Y, Noda M (2009) Angiotensin II type 2 receptor blockade increases bone mass. *J Biol Chem*, 284:4857-64.
51. Janqueira LC, Carneiro J (2006) Kemik. In: *Temel Histoloji*, Aytekin Y, Solakoğlu S (Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s:141-160.
52. Jensen C, Herold P, Brunner HR (2008) Aliskiren: the first renin inhibitor for clinical treatment. *Nat Rev Drug Discov*, 7:399-410.
53. Kostenuik PJ, Capparelli C, Morony S, Adamu S, Shimamoto G, Shen V, Lacey DL, Dunstan CR (2001) OPG and PTH-(1-34) have additive effects on bone density and mechanical strength in osteopenic ovariectomized rats. *Endocrinology*, 142:4295-304.
54. Lamparter S, Kling L, Schrader M, Ziegler R, Pfeilschifter J (1998) Effects of angiotensin II on bone cells in vitro. *J Cell Physiol*, 175:89-98.
55. Lavoie JL, Sigmund CD (2003) Minireview: overview of the renin-angiotensin system--an endocrine and paracrine system. *Endocrinology*, 144:2179-83.

56. Li YQ, Ji H, Shen Y, Ding LJ, Zhuang P, Yang YL, Huang QJ (2009) Chronic treatment with angiotensin AT1 receptor antagonists reduced serum but not bone TGF-beta1 levels in ovariectomized rats. *Can J Physiol Pharmacol*, 87:51-5.
57. Lynn H, Kwok T, Wong SY, Woo J, Leung PC (2006) Angiotensin converting enzyme inhibitor use is associated with higher bone mineral density in elderly Chinese. *Bone*, 38:584-8.
58. Marques MR, da Silva MA, Manzi FR, Cesar-Neto JB, Nociti FH, Jr., Barros SP (2005) Effect of intermittent PTH administration in the periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. *Arch Oral Biol*, 50:421-9.
59. Martel C, Picard S, Richard V, Belanger A, Labrie C, Labrie F (2000) Prevention of bone loss by EM-800 and raloxifene in the ovariectomized rat. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 74:45-56.
60. Meunier PJ (1999) Evidence-based medicine and osteoporosis: a comparison of fracture risk reduction data from osteoporosis randomised clinical trials. *Int J Clin Pract*, 53:122-9.
61. Miller SC, Bowman BM (1998) Comparison of bone loss during normal lactation with estrogen deficiency osteopenia and immobilization osteopenia in the rat. *Anat Rec*, 251:265-74.
62. Netter FH (1987) The CIBA collection of medical illustrations. CIBA-GEIGY Corporation., New Jersey, s: 58-59.
63. Nuss KM, Auer JA, Boos A, von Rechenberg B (2006) An animal model in sheep for biocompatibility testing of biomaterials in cancellous bones. *BMC Musculoskelet Disord*, 7:67.
64. Osterman T, Lauren L, Kuurtamo P, Hannuniemi R, Isaksson P, Kippo K, Peng Z, Vaananen HK, Sellman R (1998) The effect of orally administered clodronate on bone mineral density and bone geometry in ovariectomized rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 284:312-6.
65. Otomo H, Sakai A, Ikeda S, Tanaka S, Ito M, Phipps RJ, Nakamura T (2004) Regulation of mineral-to-matrix ratio of lumbar trabecular bone in ovariectomized rats treated with risedronate in combination with or without vitamin K2. *J Bone Miner Metab*, 22:404-14.
66. Özçakır Ş (2009) Kalçanın Avasküler Nekrozu - Eğitim Turk J Phys Med Rehab 55 Suppl 1: 26-9.
67. Özdemir S (2004) Anjiotensin II reseptörünün deneysel diyabetik sıçan kalbi elektriksel aktivitesindeki rolü. Ankara Üniversitesi, Ankara.
68. Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, Jamsa T, Vaananen HK (1994) The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. *Bone*, 15:523-32.
69. Prabhakara Reddy N, Lakshmana M (2003) Prevention of bone loss in calcium deficient ovariectonized rats by OST-6, a herbal preparation. *J Ethnopharmacol*, 84:259-64.
70. Ravn P, Hetland ML, Overgaard K, Christiansen C (1994) Premenopausal and postmenopausal changes in bone mineral density of the proximal femur measured by dual-energy X-ray absorptiometry. *J Bone Miner Res*, 9:1975-80.
71. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Hamade S, Enwemeka CS (2001) The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 54:1-8.

72. Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L (2006) Treatment with beta-blockers, ACE inhibitors, and calcium-channel blockers is associated with a reduced fracture risk: a nationwide case-control study. *J Hypertens*, 24:581-9.
73. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ, 3rd (2002) Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev*, 23:279-302.
74. Rohanizadeh R, LeGeros RZ, Bohic S, Pilet P, Barbier A, Daculsi G (2000) Ultrastructural properties of bone mineral of control and tiludronate-treated osteoporotic rat. *Calcif Tissue Int*, 67:330-6.
75. Sakai K, Agassandian K, Morimoto S, Sinnayah P, Cassell MD, Davisson RL, Sigmund CD (2007) Local production of angiotensin II in the subfornical organ causes elevated drinking. *J Clin Invest*, 117:1088-95.
76. Sarikanat M (2007) Trabeküler kemiğin üç boyutlu anizotropik modellenmesi. Ege Üniversitesi, İzmir.
77. Sastry TP, Chandrasekaran A, Sundaraseelan J, Ramasastry M, Sreedhar R (2007) Comparative study of some physico-chemical characteristics of osteoporotic and normal human femur heads. *Clin Biochem*,
78. Sayman O, Aksoy S, Erim S, Akbulut H (2002) In: Mukavemet I, (Ed). Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir, s:70-82, 84-99.
79. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K (2007) Genel anatomi ve hareket sistemi. In: Prometheus Anatomi Atlası, Yıldırım M, Marur T (Ed). Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, s:14-35.
80. Seeley RR, Stephens TD, Tate P (1998) *Bones and Bone Tissue*. WCB McGraw-Hill Company Boston, s: 157-175.
81. Shimizu H, Nakagami H, Osako MK, Hanayama R, Kunugiza Y, Kizawa T, Tomita T, Yoshikawa H, Ogihara T, Morishita R (2008) Angiotensin II accelerates osteoporosis by activating osteoclasts. *Faseb J*, 22:2465-75.
82. Shiraishi A, Miyabe S, Nakano T, Umakoshi Y, Ito M, Mihara M (2009) The combination therapy with alfacalcidol and risedronate improves the mechanical property in lumbar spine by affecting the material properties in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *BMC Musculoskelet Disord*, 10:66.
83. Smith EL, Gilligan C, McAdam M, Ensign CP, Smith PE (1989) Detering bone loss by exercise intervention in premenopausal and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 44:312-21.
84. Taylor BC, Schreiner PJ, Stone KL, Fink HA, Cummings SR, Nevitt MC, Bowman PJ, Ensrud KE (2004) Long-term prediction of incident hip fracture risk in elderly white women: study of osteoporotic fractures. *J Am Geriatr Soc*, 52:1479-86.
85. Turner CH (2002) Biomechanics of bone: determinants of skeletal fragility and bone quality. *Osteoporos Int*, 13:97-104.
86. Turner CH (2006) Bone strength: current concepts. *Ann N Y Acad Sci*, 1068:429-46.
87. Turner CH, Burr DB (1993) Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*, 14:595-608.
88. Turner CH, Rho J, Takano Y, Tsui TY, Pharr GM (1999) The elastic properties of trabecular and cortical bone tissues are similar: results from two microscopic measurement techniques. *J Biomech*, 32:437-41.
89. Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS (1994) *Human physiology: The mechanism of body function*. International Edition, McGraw Hill. Inc., s:

- 90.** Wiens M, Etminan M, Gill SS, Takkouche B (2006) Effects of antihypertensive drug treatments on fracture outcomes: a meta-analysis of observational studies. *J Intern Med*, 260:350-62.
- 91.** Yıldırım M, Vural F, Usta A (1998) Giriş. In: *Klinik Anatomi*, Yıldırım M (Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s:28-31.
- 92.** Yılmaz C (1997) Osteoporozun etyopatogenezi. In: *Tüm yönleriyle osteoporoz*, Yılmaz C (Ed). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, s:30-50.

ÖZGEÇMİŞ

Barış Özgür DÖNMEZ 15.04. 1975 tarihinde Sivas’da doğdu. İlköğrenimini Sivas Kızılırmak ilkokulunda, orta öğrenimini Sivas Behrampaşa ortaokulunda, lise öğrenimini ise Sivas Lisesinde tamamladı. 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2000 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi yüksek lisans programına başladı. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandı. 2003 yılında Anatomi yüksek lisans programını tamamlayarak bilim uzmanı ünvanı aldı ve aynı anabilim dalında doktora eğitimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Barış Özgür DÖNMEZ evli ve bir çocuk babasıdır.

EKLER

Important anatomical landmarks in the lateral nasal wall

Baris O. Donmez, MSc, Bulent V. Agirdir, MD, Muzaffer M. Sindel, PhD.

ABSTRACT

Objectives: The study aimed to investigate the anatomy of the lateral nasal wall to provide a set of measurements among some important anatomical landmarks and to reveal the relationship between them.

Methods: Fifty half heads were dissected to determine the distances between important landmarks in the lateral nasal wall for endoscopic sinus surgery. Landmarks were measured with an electronic caliper. This study was carried out between December 2002 and February 2003 at the Anatomy Research Laboratory, Faculty of

Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey.

Results: Results were provided as mean \pm standard deviation. In our study, some of the critical distances as in the lateral nasal wall were measured and results showed consistency to the data found in the literature.

Conclusion: Our results are useful to achieve safe endoscopic sinus surgery.

Saudi Med J 2005; Vol. 26 (9): 1403-1408

Functional endoscopic sinus surgery (FESS) is a frequently used technique in the treatment of patients with chronic and acute recurrent sinusitis, sinonasal polyposis¹ and has many advantages for the intranasal endoscopic examination and surgical applications.² Rigid nasal endoscope permits a better surgical view of the lateral nasal wall. This technique improves the ability to visualize specific anatomical details of sinonasal structures by the surgeons. Anatomy is important to differentiate pathological conditions from normal variants.¹ The individual anatomy of the paranasal sinuses and the floor of the anterior cranial fossa can vary considerably. Systematic orientation based on anatomical landmarks and their empirical relationships provide a limited degree of certainty during endoscopic procedures.³

Variations in intranasal and sinus anatomy have been implicated in the etiology of chronic and acute recurrent sinusitis.⁴ Also, these variations can cause catastrophic results during surgery. Trauma to the

ethmoidal arteries may cause vessel retraction into the orbit and visual loss can occur secondary to intraorbital hematoma. Expanding orbital hematoma will result in compression of the optic nerve in the optic canal. Double vision can be permanent. Diplopia secondary to medial rectus injury may result in irreparable damage. In order to perform safe superior dissection within the ethmoidal sinuses, the skull base should be carefully identified. Direct brain trauma is most likely to occur where the skull base is thinnest. When using endoscopes, the surgeon must have an intimate knowledge of anatomy. Death may be related to massive intranasal bleeding, intracranial bleeding or meningitis. The development of functional intranasal sinus surgery has progressed since 1903.⁵ The research on this subject has revealed new and important developments. Today, the advancing development of instrumentation, suction irrigation, video-endoscopes and modern minimal invasive operation techniques; in addition to chronic

From the Department of Anatomy (Donmez, Sindel) and the Department of Ears, Nose and Throat (Agirdir), Akdeniz University, Faculty of Medicine, Antalya, Turkey.

Received 1st March 2005. Accepted for publication in final form 21st June 2005.

Address correspondence and reprint request to: Prof. Dr. Muzaffer Sindel, Department of Anatomy, Akdeniz University, Faculty of Medicine, Antalya 07070, Turkey. Tel. +90 (242) 2274485. Fax. +90 (242) 2274495. E-mail: sindelm@akdeniz.edu.tr

sinusitis, a wide range of pathologic processes in the paranasal sinuses and floor of the anterior cranial fossa can be treated successfully by the purely endoscopic approaches.³ The recent popularization of FESS, however, has resulted in many of these standard surgical techniques being considered radical by proponents of FESS.² Successful endoscopically guided intranasal surgery of the paranasal sinuses requires accurate knowledge of the anatomy of the lateral nasal wall. Nasal endoscope has become important tools for endoscopic visualization of lateral nasal wall surgery.^{2,4-7} The anatomy of the lateral nasal wall area is a highly complicated.⁸ Additionally, there are some specific anatomic structures on the lateral nasal wall. These structures are important particularly for endoscopic sinus surgery and other standard nasal surgical techniques. There are many studies for anatomical landmarks in the lateral nasal wall and many of which measure the distances of the anatomical structures.^{5,9-15}

Many Ears, Nose, Throat surgeons may need support in anatomical orientation during the endoscopic nasal surgery. Anatomic variations and limitations imposed by endoscopic visualization demands a good understanding of anatomy and familiarity with endoscopic surgery.²

We aimed to investigate the anatomy of the lateral nasal wall to provide a set of measurements among some important landmarks and to reveal the relationships between them. Anatomical structures, which are chosen as landmarks in our study, are very important for both surgeons and anatomists. Moreover, we think that the distances, which are measured in our present study, can be used safely in FESS or help develop new surgical techniques.

Methods. Fifty embalmed cadaver half heads were used in our study. No specimen showed any evidence of previous surgery or any other gross anatomical anomaly. Mucosa on the lateral nasal wall was carefully removed under operation microscope. Later, anatomic structures on the lateral nasal wall were carefully dissected. During the dissection, anterior nasal spine (ANS), inferior turbinate (inferior nasal concha) (INC), middle turbinate (middle nasal concha) (MNC), uncinat process (UP), natural ostium of the maxillary sinus (NOMS), opening of the nasolacrimal duct (OND), sphenopalatine foramen (SF), natural ostium of the sphenoidal sinus (NOSS), anterior ethmoidal artery (AEA), posterior ethmoidal artery (PEA), pharyngeal opening of the auditory tube (POAT), posterior nasal spine (PNS), natural ostium of the frontal sinus (NOFS) and nasal base (NB) were exposed. To expose the UP, the sagittal portion of MNC was cut and was carefully removed (Figures 1-5). The persistent landmarks were then identified,

Table 1 - Measurements obtained from anterior nasal spine (N=50).

Distances	MD (cm)	SD
ANS - INC	1	0.1
ANS - MNC	2.6	0.2
ANS - UP	3.4	0.3
ANS - NOMS	3.9	0.5
ANS - OND	3	0.4
ANS - SF	5.6	0.2
ANS - NOSS	5.5	0.4
ANS - AEA	5.5	0.3
ANS - PEA	5.8	0.4
ANS - POAT	6.2	0.3
ANS - PNS	5.6	0.3

INC - anterior border of the inferior turbinate, MNC - anterior border of the middle turbinate, UP - mid-uncinate process, NOMS - natural ostium of the maxillary sinus, OND - opening of the nasolacrimal duct, SF - exit point of the sphenopalatine artery, NOSS - natural ostium of the sphenoidal sinus, AEA - exit point of the anterior ethmoidal artery, PEA - exit point of the posterior ethmoidal artery, POAT - pharyngeal opening of the auditory tube, PNS - posterior nasal spine.

Table 2 - Distances from middle nasal concha (MNS) (N=50).

Distances	MD (cm)	SD
MNS-UP	1.4	0.3
MNS-NOMS	1.8	0.3
MNS-AEA	2.2	0.4
MNS-PEA	2.7	0.2

UP -uncinate process, NOMS - Natural ostium of the maxillary sinus, AEA - exit point of the anterior ethmoidal artery, PEA - exit point of the posterior ethmoidal artery.

Table 3 - Distances of the other anatomical landmark on lateral nasal wall (N=50).

Distances	MD (cm)	SD
NOMS-OND	1.8	0.3
OND-UP	1.8	0.5
NOSS-NB	3.4	0.6
NOFS-AEA	0.9	0.3
UP-AEA	2.5	0.6
NOMS-INC	1.5	0.3

NOMS-OND - anterior border of the natural ostium of the maxillary sinus - opening nasolacrimal duct, OND-UP - opening nasolacrimal duct - uncinat process, NOSS-NB - natural ostium of the sphenoidal sinus - nasal base, NOFS-AEA - natural ostium frontal sinus - exit point of anterior ethmoidal artery, UP-AEA - uncinat process - exit point of the anterior ethmoidal artery, NOMS-INC - anterior border of the natural ostium maxillary sinus - anterior attachment point of the inferior nasal concha to the lateral nasal wall.

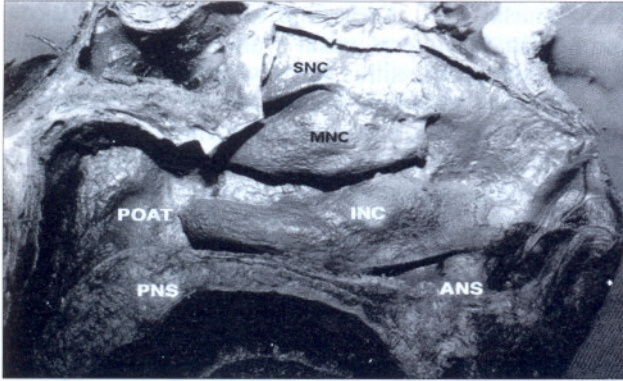


Figure 1 - Anatomical landmarks on the lateral nasal wall; anterior nasal spine (ANS), posterior nasal spine (PNS), inferior nasal concha (INC), middle nasal concha (MNC), superior nasal concha (SNC), pharyngeal opening of the auditory tube (POAT).

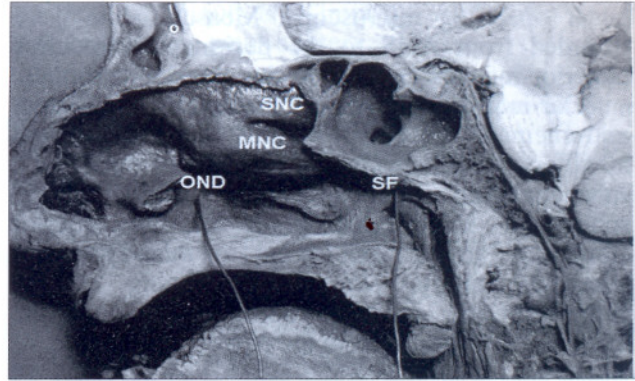


Figure 3 - Representative picture for exit point of the sphenopalatine artery (SF), superior nasal concha (SNC), middle nasal concha (MNC), opening of nasolacrimal duct (OND).

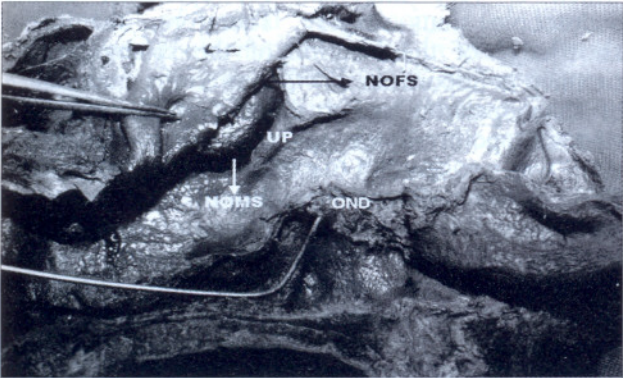


Figure 2 - Lateral nasal wall with the inferior nasal concha (INC) and middle nasal concha (MNC) removed and demonstrated opening of nasolacrimal duct (OND), uncinate process (UP), natural ostium of the maxillary sinus (NOMS) and natural ostium frontal sinus (NOFS).

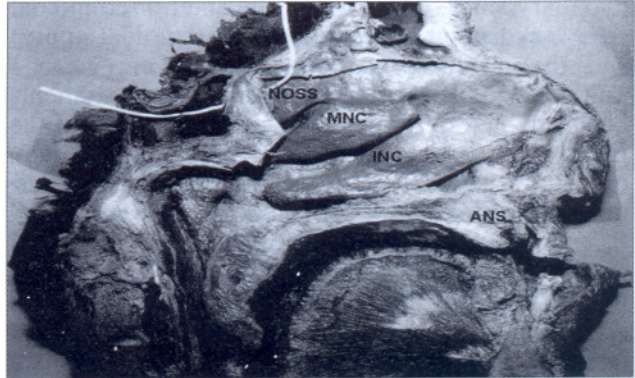


Figure 4 - Representative pictures for natural ostium of the sphenoidal sinus (NOSS) middle nasal concha (MNC), inferior nasal concha (INC), and anterior nasal spine (ANS).

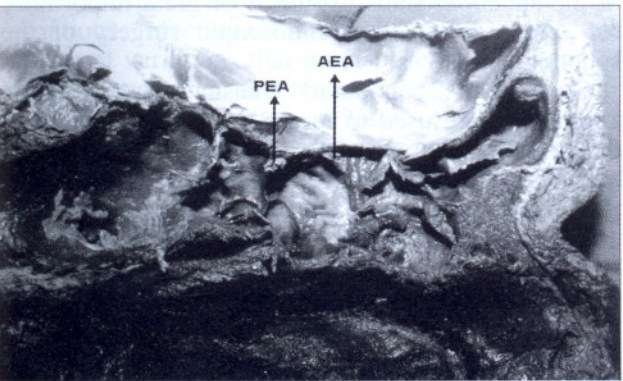


Figure 5 - Representative picture for exit point of the anterior ethmoidal artery (AEA) and exit point of the posterior ethmoidal artery (PEA).

some of which required limited dissection. Anterior nasal spine was chosen as a main landmark. Distances were measured with electronic caliper under operating microscope. Measurements were recorded from ANS to the designated structures (anterior-inferior border of the inferior turbinate, anterior-inferior border of the middle turbinate, mid-uncinate process, natural ostium of the maxillary sinus, opening of the nasolacrimal duct, sphenopalatine foramen, natural ostium of the sphenoidal sinus, exit point of the anterior ethmoidal artery, exit point of the posterior ethmoidal artery, pharyngeal opening of the auditory tube, posterior nasal spine) and the distances were rounded to the nearest millimeter.

Results. Measurements obtained from ANS were presented as mean distance (cm) and standard deviation in **Table 1**. Measurements were obtained from anterior attachment point of the middle nasal concha to the lateral nasal wall designated structures (uncinate process, natural ostium of the maxillary sinus, exit point of the anterior ethmoidal artery, exit point of the posterior ethmoidal artery) and the distances were rounded to the nearest millimeter in **Table 2**. Results of the measurements between anterior border of the natural ostium of the maxillary sinus and opening nasolacrimal duct, opening nasolacrimal duct and uncinat process, natural ostium of the sphenoidal sinus and nasal base, anterior border of the natural ostium frontal sinus and exit point of anterior ethmoidal artery, uncinat process and exit point of the anterior ethmoidal artery, anterior border of the natural ostium maxillary sinus and anterior attachment point of the inferior nasal concha to the lateral nasal wall are given in **Table 3**.

Discussion. Successful endoscopically guided intranasal surgery of the paranasal sinuses requires accurate knowledge of the anatomy of the lateral nasal wall. There have been many descriptions of the anatomic landmarks and their variations. Distances and angles between these structures are seldom stated.⁵

In this study, we have measured distances between the major lateral nasal wall landmarks in 50 half heads. We chose the posterior nasal spine and the anterior nasal spine as reference points. These locations are constant and measurements from these points are easily performed. These measurements can be used as intraoperative guidelines during transnasal endoscopic surgery. The results of this study suggest that, during lateral nasal wall surgery, a surgeon should pay attention to the sphenopalatine artery, anterior ethmoidal arteries and posterior ethmoidal arteries. These arteries may be damaged in endoscopic approaches.

Moreover, we also measured the distance between anterior nasal spine and exit point of anterior ethmoidal artery and posterior ethmoidal artery on the lateral nasal wall. According to our findings, those arteries in the lateral nasal wall must be observed during endoscopic sinus surgery. Ethmoidal artery is an important anatomical structure to be recognized during endoscopic sinus surgery. Since, the anterior ethmoidal artery is the best landmark for the roof of the ethmoid sinus or the anterior base of the skull.^{11,14,16} In our study, distance of AEA and PEA were measured (ANS-AEA 5.5 ± 0.3 , ANS-PEA 5.8 ± 0.4 , MNC-AEA 2.2 ± 0.4 , MNC-PEA 2.7 ± 0.2 , NOFS-AEA 0.9 ± 0.3 , UP-AEA 2.5 ± 0.6). Another study reported that the distance of ANS and AEA was measured as 5.3 cm.¹³ However, we found that this distance was 5.5 cm. The sphenopalatine artery, a major blood vessel of the nasal mucosa, exits from the sphenopalatine foramen and supplies the turbinates located on the lateral nasal wall and the nasal septum. Excessive hemorrhage can result to injury to the branches of sphenopalatine artery, which is very important for epistaxis, during endoscopic sinus surgery. Therefore, anatomical knowledge of the location of the sphenopalatine foramen is important.^{12,17-22} Owing to the importance of sphenopalatine artery, the distance between SF (the exit point of the sphenopalatine artery) and ANS was measured (5.6 ± 0.2). With the role of the FESS, a thorough understanding of the anatomy of the sphenoid sinus has become increasingly important. The sphenoid sinus is adjacent to many important structures, and its relationship to them is subject to considerable variations.⁹ Other distances found in our study are consistent with the results of Calhoun et al⁵ Additionally, previous studies measured the distance between the ANS and NOSS as 5.6 cm.^{5,10} In another study, the distance from the ANS to the NOSS was 7 cm.²³ On the other hand, Elwany et al⁹ found that the distance was 6.44 cm but in our study this distance was measured as 5.5 cm. This distance is of importance as identification of the sphenoid sinus ostium is of great importance for safe and effective endoscopic surgery of the sphenoid sinus.²³

Currently, 2 popular transnasal endoscopic approaches are used to locate the natural ostium of the maxillary sinus. The first technique is the traditional Messerklinger "anterior-to-posterior" infundibulotomy approach described by Stanberger and Posavetz.^{24,25} The second approach is the "retrograde uncinectomy" technique advocated by Parsons et al.^{24,26} Accurate identification of the natural ostium of the maxillary sinus is important in functional endoscopic maxillary sinus surgery.¹⁵ The distance between the NOMS and OND was measured as 1.8 cm in our study, which differs from the results of Calhoun et al.⁵ Interestingly, while Calhoun et al⁵ found that the distance between the

OND and UP was 0.3 cm, the same distance was 1.8 cm in our study which is significantly higher. However, the measured distances were highly variable 0.5 - 2.8 cm in our study. This difference is likely due to many variations in positions of anatomical structures in this region. When compared to the result of Calhoun et al,⁵ no differences were found.

The middle turbinate is a structure of great importance in nasal function and this structure is often carefully preserved at FESS.²⁵⁻³⁰ Therefore, we considered this to be a very important distance between the anterior border of middle turbinate and anterior nasal spine during FESS. In our study, this distance was measured as 2.6 ± 0.2 . The nasal cavity is a region where anatomical variations are not infrequently seen.³¹ Anatomic variations imposed by endoscopic visualization demands a well known anatomy in endoscopic surgery.⁶ Some of these variations are accepted to have no clinical significance.³¹ Most nasal polyps arise from near the ostium of the maxillary sinus.³² Nasal polyposis and allergic rhinitis are disease processes where the usefulness of nasal endoscopy is limited. Endoscopes could not be passed in these patients even after applying topical nasal decongestants.⁴ The structure and landmarks are changed by nasal polyposis and this is another sign for the importance of the anatomical structure of this region.

There are 2 main ostiomeatal channels. The anterior ostiomeatal unit includes the frontal sinus ostium, frontal recess, maxillary sinus ostium, infundibulum and middle meatus. The posterior ostiomeatal unit consists of the sphenoid sinus ostium, sphenothmoidal recess and the superior meatus. These channels provide communication between the ipsilateral frontal, anterior ethmoid and maxillary sinuses, posterior ethmoid and sphenoid sinuses. Understanding the anatomy of the lateral nasal wall and its relationship to adjacent structures is essential.³³ The FESS is based on the belief that the ostiomeatal complex is the key area in the pathogenesis of chronic sinus diseases.² Anatomic variations, infections, trauma, and tumors represent structural variations that predispose to narrowing of the ostiomeatal complex and the sinus drainage channels.³⁴ However, a review of the literature reveals a lack of consensus among investigators with regards to the prevalence, suspected pathogenicity, and clinical significance of these anatomic structures.³⁵ We did not encounter any significant anatomical variations in our cadavers. Rigid nasal endoscopes permit a better surgical view of the lateral nasal wall. Successful endoscopic intranasal surgery of the paranasal sinuses requires accurate knowledge of the anatomy of the lateral nasal wall.

In conclusion, our results may contribute to a better understanding of the anatomy of nasal-ethmoid complex and help to simplify the surgical technique and improve performance for safe endoscopic sinus surgery.

Acknowledgments. This research was supported by the Research Foundation of Akdeniz University, Antalya, Turkey. We thank Mr. Necati Sagiroglu, Mr. Huseyin Gezer and Mr. Hasan Savcili for their technical assistance.

References

1. Joe JK, Ho SY, Yanagisawa E. Documentation of variations in sinonasal anatomy by intraoperative nasal endoscopy. *Laryngoscope* 2000; 110: 229-235.
2. Mafee MF. Preoperative imaging anatomy of nasal-ethmoid complex for functional endoscopic sinus surgery. *Radiol Clin North Am* 1993; 31:1-20.
3. Gunkel AR, Freysinger W, Thumfart WF. 3D anatomic-radiological basis of endoscopic surgery of the paranasal sinuses. *Surg Radiol Anat* 1997; 19: 7-10.
4. Vining EM, Yanagisawa K, Yanagisawa E. The importance of preoperative nasal endoscopy in patients with sinonasal disease. *Laryngoscope* 1993; 103: 512-519.
5. Calhoun KH, Rotzler WH, Stiernberg CM. Surgical anatomy of the lateral nasal wall. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1990; 102: 156-160.
6. Cheung DK, Attia EL, Kirkpatrick DA, Marcarian B, Wright B. An anatomic and CT scan study of the lateral wall of the sphenoid sinus as related to the transnasal transetmoid endoscopic approach. *J Otolaryngol* 1993; 22: 63-68.
7. Yoon JH, Kim KS, Jung DH, Kim SS, Koh KS, Oh CS et al. Fontanelle and uncinata process in the lateral wall of the human nasal cavity. *Laryngoscope* 2000; 110: 281-285.
8. Bingham B, Wang RG, Hawke M, Kwok P. The embryonic development of the lateral nasal wall from 8 to 24 weeks. *Laryngoscope* 1991; 101: 992-997.
9. Elwany S, Elsaedi I, Thabet H. Endoscopic anatomy of the sphenoid sinus. *J Laryngol Otol* 1999; 113: 122-126.
10. Kim HU, Kim SS, Kang SS, Chung IH, Lee JG, Yoon JH. Surgical anatomy of the natural ostium of the sphenoid sinus. *Laryngoscope* 2001; 111:1599-1602.
11. Kirchner JA, Yanagisawa E, Crelin ES, Jr. Surgical anatomy of the ethmoidal arteries. A laboratory study of 150 orbits. *Arch Otolaryngol* 1961; 74: 382-386.
12. Kumar S, Shetty A, Rockey J, Nilssen E. Contemporary surgical treatment of epistaxis. What is the evidence for sphenopalatine artery ligation? *Clin Otolaryngol* 2003; 28: 360-363.
13. Moon HJ, Kim HU, Lee JG, Chung IH, Yoon JH. Surgical anatomy of the anterior ethmoidal canal in ethmoid roof. *Laryngoscope* 2001; 111: 900-904.
14. Ohnishi T, Yanagisawa E. Endoscopic anatomy of the anterior ethmoidal artery. *Ear Nose Throat J* 1994; 73: 634-636.
15. Yanagisawa E, Joe JK, Christmas DA. Unusual appearance of the maxillary sinus ostium on transnasal endoscopy. *Ear Nose Throat J* 1999; 78: 80-81.
16. Lee WC, Ming Ku PK, van Hasselt CA. New guidelines for endoscopic localization of the anterior ethmoidal artery: a cadaveric study. *Laryngoscope* 2000; 110: 1173-1178.
17. Lee HY, Kim HU, Kim SS, Son EJ, Kim JW, Cho NH et al. Surgical anatomy of the sphenopalatine artery in lateral nasal wall. *Laryngoscope* 2002; 112: 1813-1818.

18. Duncan IC, Dos Santos C. Accessory meningeal arterial supply to the posterior nasal cavity: another reason for failed endovascular treatment of epistaxis. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2003; 26: 488-491.
19. Holzmann D, Kaufmann T, Pedrini P, Valavanis A. Posterior epistaxis: endonasal exposure and occlusion of the branches of the sphenopalatine artery. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2003; 260: 425-428.
20. O'Flynn PE, Shadaba A. Management of posterior epistaxis by endoscopic clipping of the sphenopalatine artery. *Clin Otolaryngol* 2000; 25: 374-377.
21. Voegels RL, Thome DC, Iturralde PP, Butugan O. Endoscopic ligation of the sphenopalatine artery for severe posterior epistaxis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124: 464-467.
22. Wiorowski M, Schultz P, Perrot JB, Gentine A, Debry C. Indications and results of cauterization by endoscopic approach of the sphenopalatine artery in severe posterior epistaxis. *Auris Nasus Larynx* 2004; 31: 131-133.
23. Yanagisawa E, Yanagisawa K, Christmas DA. Endoscopic localization of the sphenoid sinus ostium. *Ear Nose Throat J* 1998; 77: 88-89.
24. Christmas DA, Yanagisawa E, Joe JK. Transnasal endoscopic identification of the natural ostium of the maxillary sinus: a retrograde approach. *Ear Nose Throat J* 1998; 77: 454-455.
25. Stanberger H, Posavetz W. Concepts, indications and results of the Messerklinger technique. *Eur Arch Otolaryngol* 1990; 247: 63-76.
26. Parsons DS, Setliff RC, Chambers D. Special considerations in pediatric functional endoscopic sinus surgery. Operative techniques in otolaryngology. *Head Neck Surg* 1994; 5: 40-42.
27. Banfield GK, McCombe A. Partial resection of the middle turbinate at functional endoscopic sinus surgery. *J R Army Med Corps* 1999; 145: 18-19.
28. Friedman M, Landsberg R, Tanyeri H. Middle turbinate medialization and preservation in endoscopic sinus surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 123: 76-80.
29. Friedman M, Tanyeri H, Landsberg R, Caldarelli D. Effects of middle turbinate medialization on olfaction. *Laryngoscope* 1999; 109: 1442-1445.
30. Thornton RS. Middle turbinate stabilization technique in endoscopic sinus surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 122: 869-872.
31. Apaydin FD, Duce MN, Yildiz A, Egilmez H, Ozer C, Talas UD. Inferomedially projecting pneumatized secondary middle turbinate. *Eur J Radiol* 2002; 43: 42-44.
32. Ozgirgin ON, Kutluay L, Akkuzu G, Gungen Y. Choanal polyp originating from the nasal septum: a case report. *Am J Otolaryngol* 2003; 24: 261-264.
33. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Sekuller DB. Osteomeatal unit and Sinus physiology. St Louis: Mosby; 1993. p. 1084.
34. Zinreich SJ, Kennedy DW, Rosenbaum AE, Gayler BW, Kumar AJ, Stammberger H. Paranasal sinuses: CT imaging requirements for endoscopic surgery. *Radiology* 1987; 163: 769-775.
35. Bolger WE, Butzin CA, Parsons DS. Paranasal sinus bony anatomic variations and mucosal abnormalities: CT analysis for endoscopic sinus surgery. *Laryngoscope* 1991; 101: 56-64.