

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OVEREKTOMİ UYGULANMIŞ SIÇANLARDA EKSOJEN
MELATONİN UYGULAMASINA BAĞLI KEMİK
DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

118 286

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Biyolog Serap Uslu

İZMİR 2002

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OVEREKTOMİ UYGULANMIŞ SIÇANLARDA EKSOJEN
MELATONİN UYGULAMASINA BAĞLI KEMİK
DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Biyolog Serap Uslu

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Doç. Dr. Ayşegül Uysal**

İZMİR 2002

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü yardımı sunan, tezimin oluşumunda bana yol gösteren Tez Danışman Hocam Doç. Dr. Ayşegül Uysal'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mine Ertem Yurtseven'e, Doç. Dr. Meral Baka'ya, Yard. Doç. Dr. Altuğ Yavaşoğlu'na, laboratuvar çalışmalarında beni yalnız bırakmayan Teknisyen Fatma Hn'a ve Sevim Hn'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında beni destekleyen Doç.Dr. Gülçin Başdemir'e, Doç.Dr. Tijen Tanyalçın'a, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ	1
Genel Bilgiler	3
1.1. Kemik Dokusu	3
1.1.1 Kemik Dokusu Hücreleri	4
1.1.1.1 Osteoprogenitör Hücreler.....	4
1.1.1.2. Osteoblast.....	4
1.1.1.3. Osteosit	5
1.1.1.4. Osteoklast.....	5
1.1.2. Osteoid Doku	8
1.1.3. Kemik Matriksi	9
1.1.4. Periosteum ve Endosteum.....	16
1.1.5. Kemik Anatomisi	17
1.1.6. Kemik Histogenezi.....	18
1.1.6.1. İntramembranöz Kemikleşme	18
1.1.6.2. Endokondral Kemikleşme.....	18
1.1.7. Kemik Büyümesi ve Şekillenmesi.....	21
1.2. Kollajen Yapısı	22
1.3. Menopoz	24
1.3.1. Menopozun Belirtileri	26
1.3.2. Menopoz Tedavisi.....	29
1.3.3. Menopoz ve Kemik Dokusu	29
1.3.4. Osteoporozun Belirtileri.....	32

1.3.5. Osteoporoz Tedavisi	33
1.4. Pineal Bez ve Melatonin	34

BÖLÜM II

Gereç ve Yöntem	40
-----------------------	----

BÖLÜM III

3. Bulgular	55
3.1. Morfometrik Analiz Bulguları.....	56
3.1.1. Trabekül Sayıları.....	56
3.1.2. Korteks Kalınlıkları	56
3.1.3. Trabekül Alanları	57
3.1.4. Trabekül Kalınlıkları.....	57
3.1.5. Osteoid hacmi	58
3.1.6. Osteoblast ve Osteoklast Sayıları.....	58
3.2. Hidroksiproin Analiz Bulguları.....	59
3.3. Kemik Mineral Dansitesi Ölçüm Bulguları.....	59

BÖLÜM IV

TARTIŞMA VE SONUÇ	60
ÖZET	102
SUMMARY	104
KAYNAKLAR	106
ÖZGEÇMİŞ.....	115

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoporoz kemik kütlelerinde azalma, yapısal bütünlükte bozulma ve artan kırık eğilimi ile karakterize sistemik bir hastalıktır (38). Postmenopozal osteoporozun kadın ve erkekler arasında görülme sıklığı 2:1 ila 3:1 oranındadır. 65 yaşa kadar kadınların %25'inde, 90 yaşına kadar ise %50'sinde en az bir kırık oluşumu ve yaş ilerledikçe %15-20'lik mortaliteye neden olmaktadır. Menopoz döneminde oluşan estrojen eksikliği kemik dokusunda önemli değişikliklerin ve kırılabilirliğin artmasının nedenidir. Postmenopozal dönemdeki kadınlarda estrojen tedavisi kemik dokusundaki harabiyeti yavaşlatabilir veya tamamen durdurabilir. Ancak oluşan doku hasarını ortadan kaldıramadığı gibi endometrial karsinom riskini de, artırabilir Osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer ajanlar örneğin; bifosfonatlar kemik mineralizasyonunu inhibe ederken sodyum florid ile yapılan tedavilerde kemik mineral dansitesinde artış olmasına rağmen nonvertebral kırık riskinde de bir artış tespit edilmiştir (10, 42, 52, 64). Ayrıca bu dönemde kullanılan parathormon ve kalsitoninin de tedavi sırasında hasta uyumu açısından sorunlar yaratması tedavi sürecini zorlaştırmaktadır.

Pineal bezden salınan melatonin antioksidan özelliğe sahip bir hormondur. Antioksidan özelliğinden dolayı hidroksil ve peroksil moleküllerini yakalayıcı bir etkisi vardır. Buna ek olarak diğer antioksidan enzimleri de aktive edebilir (32, 43, 46, 49, 68). İnsanlarda büyüme hormonunun etkisini, sıçanlarda serum kortikosteroid seviyesini ve osteoblast metabolizmasının sirkadyen ritmini arttırdığı bildirilmiştir (53). Melatonin onkostatik özellikleri sayesinde tümör büyümesi üzerinde antiproliferatif etkiler gösterir ve immün koruyuculuğu artırabilir. Sirkadyen ritmin ve uykunun düzenlenmesinden de sorumlu olan bu hormonun depresyon üzerinde de olumlu etkileri mevcuttur (11).

DeneySEL ve klinik çalışmalar melatonin hormonunun kemik metabolizmasında rol oynayabileceğini göstermektedir (58). Postmenopozal

dönemde yaşlanmayla birlikte nokturnal melatonin plazma seviyesi azaldıkça osteoporoz gelişiminin hızlanması ve kış aylarında ışığa bağlı olarak melatonin sentezinin azalması bu mevsimde osteoporozun artma nedenlerinden biridir. Ayrıca kemik formasyonunun maximum olarak gece meydana gelmesi bu olayın nokturnal melatonin salınımına bağlı olduğunu düşündürmektedir (67). Çalışmalarda insan kemik hücrelerinde hücre proliferasyonunu arttırdığı gibi osteoblastik hücre aktivasyonunu, prokollajen tip I c-peptid üretimini de arttırdığı bununla beraber kemik hücrelerinde alkalen fosfataz, osteokalsin gibi diğer kemik proteinlerinin artmasına sebep olduğu bildirilmiştir. Pinealektomi uygulanan dencysel hayvan modeli çalışmalarına baktığımızda ise pinealektomi sonrası bu hayvanlarda görülen skolyoz gelişimi melatonin hormonunun kemik üzerindeki olumlu etkilerinin ortadan kalkmasına bağlanmaktadır. Ayrıca insanlarda melatonin eksikliğinin adolesan dönemde meydana gelen idiopatik skolyozun gelişme nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (40).

Nokturnal melatonin seviyesinin yaşlanmayla birlikte azalması, kadınlarda menopoza sürecinin başlamasını hızlandırmaktadır. Deneysel hayvan modellerinin yer aldığı araştırma sonuçlarında melatoninin kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde, paratiroid bezlerinin aktivitesinin uyarılmasında ve kalsitonin sentezinin inhibe edilmesinde rol oynadığı gösterilmektedir. Özellikle de kalsiyum metabolizması üzerindeki etkileri yaşlanmayla birlikte azalan melatonin seviyesinin postmenopozal osteoporoz gelişmesinde önemli katkıları olduğunu düşündürmektedir. Bu sebepten dolayı perimenopozal dönemde plazma melatonin seviyesinin düşmesi postmenopozal osteoporozla yakalanma markırı gibi düşünülebilir. Perimenopozal dönemindeki ışık tedavileri, oral melatonin uygulaması veya melatonin sentez ve salınımını uyarıcı ajanların yardımıyla melatonin seviyesi belirli bir noktada tutularak postmenopozal osteoporoz profilaksisinde ve tedavisinde kullanılabileceği bildirilmektedir (67).

Bu bilgiler doğrultusunda, insan kemik hücre proliferasyonuna ve kemik formasyonuna etkileri gösterilen melatoninin, overektomi uygulanmış sıçanlarda postmenopozal osteoporozda histomorfometrik, dansitometrik ve biyokimyasal olarak meydana gelen değişiklikleri araştırmak amacıyla amacı ile bu tez çalışması planlanmıştır.

1.GENEL BİLGİLER:

1.1. Kemik Dokusu:

Yetişkin iskeletinin en önemli yapı taşı oluşturulan kemik dokusu, dışın mine tabakasından sonra insan vücudunun en sert dokusudur. Yapısındaki lamelli düzenlenim ve kollajen liflerin sıkı demetler halinde dokuda yerleşmesi dokunun karakteristik özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur (23, 30). Kemik dokusunun bazı önemli mekanik, metabolik ve hemopoetik görevleri vardır;

Mekanik fonksiyonları:

- Destekleme: Kas dokusunu destekleyerek vucut duruşunu düzenler.
- Koruma: Sert bir doku olması özelliğinden dolayı yaşamsal öneme sahip organları örneğin; kafatası beyni, vertebra omuriliği sarar, göğüs kafesi ise kalp, akciğer ve diğer organları dış ortamdan gelecek darbelerle karşı korur.
- Hareket: Kas sistemiyle birlikte vucut şeklinin oluşturulmasında ve bu sistemi destekleyerek vucut hareketlerinin yapılmasında görevlidir.

Metabolik fonksiyonları:

- Depo: Kanda bulunan kalsiyum, fosfat ve diğer mineraller kemik içerisine alınır ve burada depolanır. Bu iyonların kandaki konsantrasyonları düştüğü zaman kontrollü olarak kana salınırlar aksi durumda ise negatif feedback mekanizması devreye girer ve böylece bu iyonların kandaki konsantrasyonları belli bir seviyede sabit olarak tutulur.
- Asit ve baz dengesinde böbrekler ve solunum sistemiyle birlikte görev yapar.

Hemopoetik fonksiyonları:

- Kan hücrelerinin üretimi: Kemiklerin ortalarında bulunan kemik iliğinde kan hücreleri üretilir ve kana verilir (23, 30, 65, 82 ,91).

İçeriğindeki kalsiyum tuzları, kollajen lifler ile diğer bağ dokusu çeşitlerinden ayrılan ve özel bir bağ dokusu olan kemik, hücreler arası temel madde ve hücrelerden oluşur (30).

1.1.1. Kemik Dokusu Hücreleri:

1.1.1.1. Osteoprogenitör hücreler: Kıkırdak dokusu embriyolojik mezodermal hücrelerden köken alır. Bazı mezenşimal hücreler kök hücresi (stem cell) haline dönüşerek farklı hücre tiplerine dönüşebilme yeteneği kazanırlar. Osteoprogenitör hücreler ise kemik hücrelerine dönüşebilme yeteneği olan kök hücreleridirler. Kapiller damarlar etrafında eğer ortamda oksijen konsantrasyonu yüksek ise osteoprogenitör hücreler osteoblastlara, kapillerlerden uzak bölgelerde ve oksijen konsantrasyonunun düşük olduğu ortamlarda ise kondroblastlara dönüşürler. Osteoprogenitör hücreler kemik yüzeyinde periosteum ve endosteum çevresinde bulunan fuziform şekilli primitif mezenşimal hücrelerdir. Uzun soluk boyanan nukleusu, asidofili veya zayıf basofili gösteren sitoplazması vardır (23). Bu hücreler büyüyen kemiklerde başlıca osteogenik hücrelerin inaktif öncüsüdür. Osteoprogenitör hücreler büyüme çağında ve kırık onarımında osteoblast proliferasyonunu ve farklılaşmasını yeniden aktive edebilirler (23, 41, 72).

1.1.1.2. Osteoblast: Osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenlerinin (tip I kollajen, proteoglikan, glikoprotein) ve bazı minor komponentlerin (osteocalcin, osteonectin ve osteopontin) sentezinden sorumludur (30, 72, 79). Osteoblastlar kemik yüzeyinde epitel hücreleri gibi yan yana dizilen küboidal şekilli hücrelerdir (23, 41). Tipik olarak epitel hücrelerine benzemezler ancak hücreleri lateralden birbirlerine bağlayan hücre uzantıları içerirler (Şekil 1.1). Nukleusları sentezlenen moleküllerin dışarı salındığı kutuptan uzak, apikal yüzeyde ve yuvarlak şekillidir. Sitoplazmaları bazofilik ve asit fosfataz histokimyasal reaksiyonlarında kuvvetli pozitiflik gösterir. Elektron mikrofotograflarında sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulum ve serbest ribozomlar görülmektedir. Küçük vakuollerin bir kısmı nukleusun yanında golgi kompleksi ile bağlantılıdır. Osteoblastlar matriks sentezi sırasında şekilleri kübikten prizmatığe doğru değişir (30, 44, 72). Ribozomlarda üretilen kollajen endoplazmik retikulumda vesiküller içerisinde paketlenerek golgi aparatına gönderilir oradan da hücre dışına salgılanır.

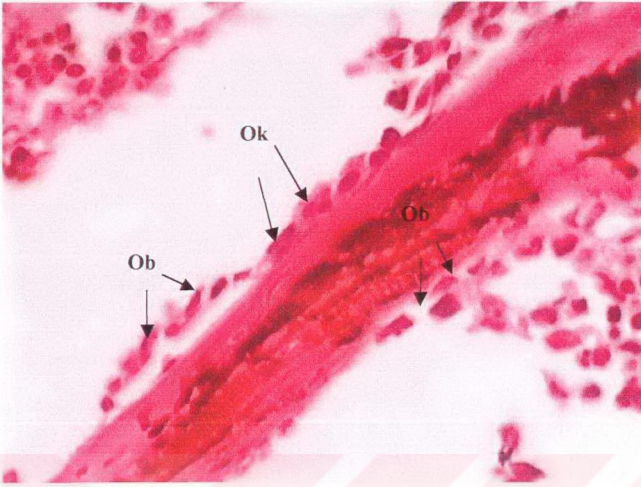
Kemik gelişimi yani kemikleşme osteoblastlar tarafından yapılır. Osteoblastların hücre zarında paratiroid hormon, 1,25 dihidroxyvitamin D ve estrogen reseptörleri bulunmaktadır. Paratiroid hormonun uyarısı ile $1,25(OH)_2 D$, büyüme hormonu ve estrogen osteoblastlardan insulin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I)'in üretimine neden olur. Böylece kemik gelişimi başlar (38, 41, 72, 79).

1.1.1.3. Osteositler: Osteoblastlar matriks sentezini kendi çevrelerinde yaparlar ve matriks ile çevrelenen osteoblastlar osteositlere dönüşürler (şekil 1.2). Osteositler osteoblastlarla karşılaştırıldığında inaktif görülmesine rağmen kemik matriksinin devamlılığını sağlamak için bazı komponentleri ürettiği düşünülmektedir (72). Bu hücreler kemik yapan yüzeyden izole oldukça protein sentez faaliyetleri azalır, endoplazmik retikulum ve golgi kompleksi küçülür, mitokondri sayısı azalır (79, 82). Osteositler kemik matriksinin içerisinde osteoplast denilen boşluklarda yerleşmiş olarak bulunurlar (Şekil 1.4). Kanalikül denilen kanalların içinden sitoplazmik uzantılarıyla birbirleri ile bağlantılıdır. Mineralize matriks dokusu içerisinde hücreden hücreye besin ve madde iletimi bu kanallar aracılığıyla yapılmaktadır (22, 41, 44, 72, 79, 87). Bununla beraber madde alışverişi osteositler, uzantıları ve kemik matriksi arasında bulunan çok az miktardaki ekstrasellüler madde aracılığı ile de gerçekleşmektedir. Bu değişim yaklaşık onbeş hücrelik bir osteosit zincirine destek sağlayabilmektedir. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol oynarlar (30). Plazma kalsiyum seviyesi osteosit aktivitesiyle direkt olarak etkilidir. Bunun yanı sıra tiroid ve paratiroid bezinden salgılanan parathormon ve kalsitoninde plazma kalsiyum seviyesi üzerine etkilidir.

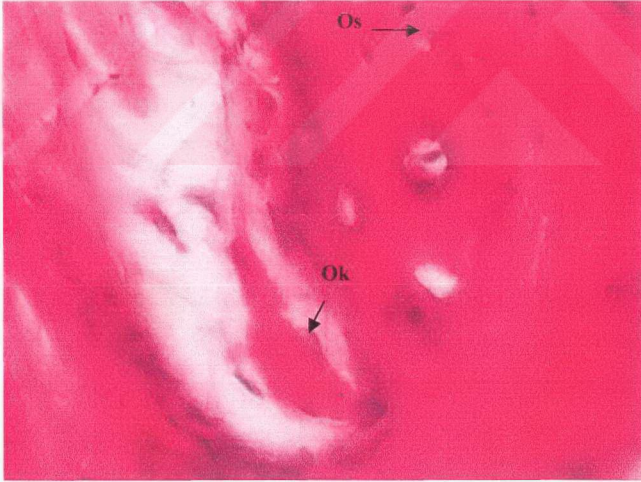
1.1.1.4. Osteoklastlar: Birden fazla nükleusu olan, büyük, hareketli kemik yıkımından sorumlu kemik hücreleridir. Nükleus sayısı hücreden hücreye değişmekle beraber sayısı bir ile yüz arasında olduğu ileri sürülmekte ancak çoğunlukla on ile yirmibeş arasında değişmektedir (Şekil 1.1). Kromatinden fakirdir ve bir iki çekirdekçik içerir (22, 23, 30, 72). Hücre içinde çok sayıda lizozoma ek olarak granüllü endoplazmik retikulum, çok miktarda mitokondri ve iyi gelişmiş bir golgi kompleksi bulunur. Osteoklastlar kökenini kemik iliği kök hücrelerinden aldıkları için 'mononükleer fagositik sistem'in kapsamı içinde yer

almaktadırlar (28, 30, 41, 44, 65, 72, 79, 91). Genç olanları bazik boyaları hafifçe alırken yaşlıları asit boyalara yatkındır. Çok sayıda lizozomları bulunup hücre membranının eriteceği kemik dokusuna bakan yüzeyinde girintili çıkıntılı yapılar görülmektedir. Böylece doku kalıntılarını içine alıp emen yüzeyi genişlemiş olur. Bu yüzeye yakın olan sitoplazmada organeller yoktur. Ancak sitoplazmanın aktin filamentler ve mikrofilamentlerle ilişkili proteinler bakımından zengin olması, osteoklastik kemik adhezyonunun bu yüzeyden kaynaklandığı izlenimini vermektedir (79, 82). Kemik dokusuna bakan yüzeylerine yakın bölgede kalsiyum kristalleriyle kollajen fibril kalıntıları bulunur. Sitoplazmaları içinde bunlara ait fagosite artıklar gözlemlenebilir (82). Hidrojen iyonları hücre zarının girintili, çıkıntılı olan yüzeyinden hücre dışına çıkar ve kemik yüzeyinde dekalsifikasyon için gerekli çevreyi oluştururlar. Osteoklastlar matriks proteinlerinin sindirimi için gerekli olan enzimleri hücre dışına salgırlar. Kemik resorpsiyonunda bazen osteoklastlar endositozla da bu işlemi gerçekleştirirler. Resorpsiyon sırasında osteoblastlarda osteoklastlara yardımcı olurlar. Osteoklastlar direkt olarak mineralize kemik dokusuyla temas ettiklerinde en iyi rezorpsiyon yapan hücrelerdir (Şekil 1.2). Bununla beraber kemikler genellikle ince, mineralize olmamış organik bir matriks ile çevrilidirler. Osteoblastların ürettiği enzimler mineralize olmamış organik matriksi parçalanmakta ve osteoklastların kemik yüzeyine yapışabilmesi için uygun yüzeyi hazırlamaktadır (72).

Kemik yıkımı paratiroid hormonu, $1,25(OH)_2D$, interlökin-1, prostoglandin E_2 , tiroid hormonu, epidermal büyüme faktörü, vitamin A, heparin, tümör nekroz faktörü- α tarafından kontrol edilir. Bu maddeler osteoklast üretimini ve aktivitesini arttırırlar. Ayrıca osteoblastlarda paratiroid hormonu ve $1,25(OH)_2D$ reseptörleri bulunmaktadır. Bu maddelerin etkisiyle osteoblastlardan osteoklastları uyaran faktörler salınır. Bu faktörler arasında dönüşüm sağlayan büyüme faktörü (TGF- β), interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör TNF- α ve β sayılabilir. Kalsitonin osteoklast prokürsörlerinden osteoklastların oluşumunu etkileyerek kemik yıkımını etkiler (4).



Şekil 1.1. Trabeküler yapı etrafında kemik yıkımdan sorumlu Osteoklastlar (Ok) ve yapımdan sorumlu osteoblastlar (Ob) görülmektedir. x40, H. E.

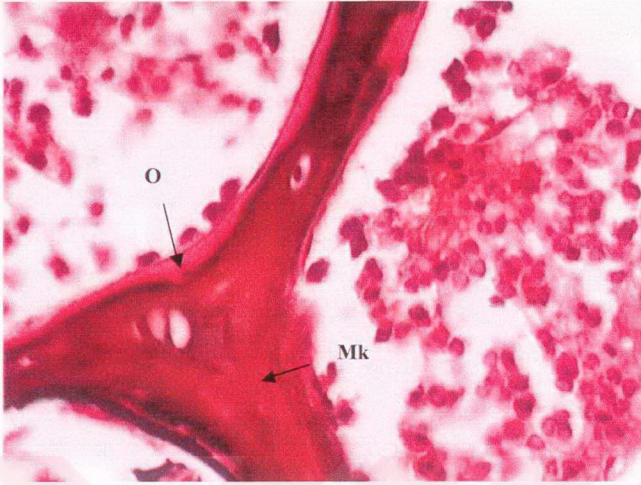


Şekil 1.2. Mineralize doku içerisinde kemik dokusu hücrelerinden osteosit (Os) ve trabekülün kenarında bir osteoklast (Ok) görülmektedir. x40, H. E.

Hücreler arası temel madde olarak kemik dokusu, osteoid doku ve kemik matriksi olarak iki bölümde incelenebilir:

1.1.2. Osteoid Doku:

Kemik dokusu hücrelerinden osteoblastlar tarafından sentezlenen tip I kollajenin polimerize olmasıyla oluşan dokudur (41). Yeni sentezlenmiş bu dokuda henüz kalsiyum tuzları çökmemiştir (Şekil 1.3). Sağlıklı bir insanda günde ortalama bir mikron kalınlığında osteoid doku oluşur. Osteoid doku yapımında bir problem meydana geldiğinde kalsiyum bileşiklerinin kemikte çökeceği bölge azalacağından kemik yapısı bozulur ve osteoporoz gelişir. Eğer fazla oranda osteoid üretimi olursa kemik kalınlaşır ve mineralizasyon gecikir. Osteoblastlar osteoid oluşumundan sorumlu hücreler oldukları için bu hücreleri etkileyen her türlü etken kemiğin yapısını da direkt olarak etkiler. Örneğin osteoblastlarda üretilen dönüşüm sağlayan büyüme faktörü-beta (TGF- β) osteoblastların mitotik aktivitesini uyararak kollajen sentezini artırır. Estrojenler direkt olarak TGF- β üretimini uyarırlar. Ayrıca insülin osteoblastları etkileyerek matriks sentezini kolaylaştırır, kollajen sentezini uyarır. İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I) (somatomedin-C) ve II kemik hücrelerinde mitotik aktiviteyi uyararak kollajen yapımını arttırırlar. IGF-I özellikle epifiz plağı üzerine etkili olarak kemikleşmeyi hızlandırır. Osteoid üzerine kalsiyum tuzlarının çökmesi oluşumdan 10-12 gün sonra meydana gelmektedir. Bu süreçte kalsiyum fosfat kollajen üzerine çökmeye başlar ve ilerleyen süreçte hidroksiapatit kristallerine dönüşürler. Bu moleküllerin kollajen üzerindeki yerleşim yerleri bir molekülün başı ile bir sonraki molekülün kuyruğu arasındaki deliklerin içidir. Kalsifikasyon ilk birkaç gün içinde %75 oranında tamamlanırken tam kalsifikasyon birkaç ay sürebilir (4).



Şekil 1.3. Trabekül yapısında mineralize kemik (Mk) dokusu ve osteoid (O) yapısı. x40, AgNO₃ ve H. E.

1.1.3. Kemik Matrisi:

Kemik bir organik matris ile birleşmiş inorganik tuzların iğne şeklindeki kristallerinden oluşmuştur (22). Olgun kemik dokusunun yaklaşık olarak %35'i organik, %65'i inorganik materyallerden oluşmuştur (72, 79, 82). İnorganik maddeler çok miktarda kalsiyum ve fosfat ayrıca bu elementlere ek olarak bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum bulunur (22, 30, 41, 72, 79). Yapılan çalışmalarda kalsiyum ve fosforun birleşerek hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür. Burada önemli miktarda amorf kristal olmayan kalsiyum fosfat da bulunmaktadır. Elektron mikrograflarda hidroksiapatit kristalleri 40x25x3 nm boyutlarında plakalar halinde görülmekte ve kollajen liflerin yanında amorf madde ile çevrili halde yerleşmişlerdir. Hidroksiapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu denen bu tabaka vucut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişinin gerçekleşmesini kolaylaştırır (23, 30, 41, 65, 91).

Organik maddenin %95'i Tip I kollajenden ve % 5'i ise proteoglikan çökeltilerini içeren amorf temel maddeden oluşur (30, 72, 82). Tip I kollajen 2 tane α -1 ve 1 tane α -2 zincirinin üçlü bir sarmal şeklinde bir arada bulunduğu bir heteropolimerdir. Hidroksiapatit kristalleri genellikle uzun eksenleri kollajen liflere paralel olacak şekilde dururlar. Kemikteki diğer mineral iyonları hidroksiapatit kristallerinin yüzeyinde bulunabilir yada kristallerdeki fosfat iyonlarının yerini alabilirler (79). Amorf madde proteinlere bağlı nötral ve asit mukopolisakkaritler arasında en çok bulunanları kondroitin-4-sülfat, kondroitin-6-sülfat ve keratan sülfattır (23, 83). Hidroksiapatit kristallerinin kollajen telleriyle olan birleşimleri kemiğe özgün sertlik ve dayanıklılığını kazandırır. Eğer kemik dokusundan örneğin; bir uzun kemikten minerallerini çıkartırsak kemik elastiki bir hal alır. Eğer kollajenini çıkartırsak o zaman da kemik dokusu parçalanır. Bu sebeplerden dolayı dokunun hem organik hem de inorganik kısımları yapının sertliği ve dayanıklılığı açısından oldukça önemlidir (72).

Normal erişkin kemik lamelleri 5-7 μ kalınlığında ince bir levha olup, üzerlerinde kemik tuzlarının yerleştiği protein liflerin oluşturduğu kemik matriksinden yapılmıştır. Her lamelde protein lifleri daha çok birbirlerine paralel şekilde dizilmiştir. Olgun kemik dokusu matriksinin %0.20'ye kadar çıkabilen bölümü sudur. Araştırmalarda kemik sıvısının içeriğinin diğer dokuların ekstrasellüler sıvılarından farklı bir bileşime sahip olduğu bildirilmiştir. Sıvının bulunduğu yüzeyde osteoblastlar ve osteositler bir yüzey membranı oluşturarak bu sıvıyı diğer dokulardan ayırırlar (72, 91). Kemik siyaloproteini ve osteokalsin, kalsiyuma sıkıca bağlanabilmelerini sağlayan ve olasılıkla kemik matriksinin kalsifikasyonunu başlatmaktan sorumlu olan birkaç γ -karboksiglutamik asit kalıntısı içerir. Normal şartlarda tip I kollajen içeren diğer dokular bu proteinleri içermedikleri için kalsifiye olmazlar. Kollajenden zengin olduğu için dekalsifiye edilmiş kemik, kollajen boyaları ile koyu olarak boyanır. Hidroksiapatit ile kollajen lifleri arasındaki ilişki, kemiğin özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur (30).

Kollajen dışında organik matrikste bulunan diğer elemanlar:

1.Proteoglikanlar: Bir protein çekirdeğe bağlı asidik yapıdaki mukopolisakkaridlere (glikosaminoglikan) proteoglikan denir. Kemik dokusunda başlıca kondroitin-4 sülfat, kondroitin-6 sülfat ve dermatan sülfat bulunmaktadır. Proteoglikanlar kemikte kalsiyumun kollajen lifler üzerindeki dağılımını ve kollajenlerin dokuya özgü olan ağ yapısını oluşturmalarını sağlarlar (4).

2.Osteokalsin: Gama-karboksi glutamik asit içeren, kalsiyumu bağlayan bir proteindir. Dentinde, kalsifikasyon bölgelerinde ve plazmada bulunur. Osteoblastik aktiviteye bağlı olarak plazma seviyesi artan, kalsiyum bağladığından mineralizasyon için önemli bir proteindir (4, 47, 54).

3.Osteonektin: Glikoprotein yani karbonhidrat içeren bir protein olup osteogenezin göstergesidir. Hidroksiapatit kristallerine afinitesi oldukça yüksektir. Bu kristallerin kollajen lifler üzerinde şekillenmesini düzenlerler (4).

4.Matriks Gla protein: Osteokalsin benzeri bir proteindir (4).

5.Alkalen fosfataz: Kemik formasyonunda görev yapan diğer bir protein alkalen fosfatazdır. Alkalen fosfataz osteoblastların hücre zarlarında bol miktarlarda bulunmaktadır (4, 47, 48).

6.İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I, IGF-II): İnsülin benzeri büyüme faktörü gonadotropin hormon, folikül stimulan hormon ve estrojen etkisiyle granüloza hücrelerinden salınır (4). Osteoblastlarda kollajen sentezini arttıran ve matriks yapımını kolaylaştıran bir etkisi vardır. IGF-I ve IGF-II kemik hücrelerinde mitotik aktiviteyi artırır ve buna bağlı olarak kollajen sentezi artar. Bunun yanı sıra özellikle IGF-I epifiz plağında hücre proliferasyonunu artırır ve kemikleşme süreci böylece hızlanır. Bu da kemiklerin uzamasına neden olur. Ayrıca IGF-I osteokalsin miktarında da artışa neden olur (4).

7.Dönüşüm sağlayan büyüme faktörü (TGF- β): Osteoblastlar tarafından üretilen mitotik aktiviteyi, kollajen sentezini uyaran bir proteindir. Estrojenler tarafından TGF- β üretimi uyarılır (4).

8.Kemik morfojenetik protein: BMP-I, BMP-2A, BMP-3 olarak adlandırılan kemik morfojenetik proteinleri de osteoblast kaynaklıdır. Kıkırdak ve kemik oluşumunu hızlandırır, kalsifikasyona neden olur. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, asit fibroblast büyüme faktörü, Alfa-2 mikro globulinler ise kemik dokusunun büyümesini sağlayan diğer mitojenik proteinlerdir (4).

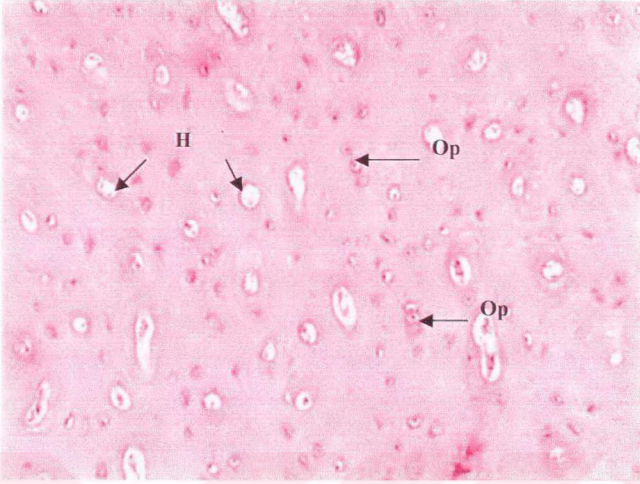
9.Bu proteinlere ek olarak osteoblast ve trombositlerde üretilen '**trombosit kaynaklı büyüme faktörü**', '**asit fibroblast büyüme faktörü**' ve '**alfa-2 mikro globulin**'de kemik hücre proliferasyonunu arttıran proteinlerdir(4).

Bu proteinlerin yanı sıra kemiğe uygulanan stres ve yük gibi etmenlerde kemik oluşumunu etkiler. Kemiğe binen aşırı yük miktarı osteoblastik aktivitenin artmasına neden olur. Stresin ise elektriksel yüke dönüşerek osteoblastik aktiviteyi arttırdığı ileri sürülmektedir. Ayrıca kemikte lokal olarak salınan prostoglandin E2 (PGE2) osteoblastik aktiviteyi düzenler ve stresin kemik dokusunu arttırmasında rol oynar (4).

Fötal gelişim veya kırık onarımı sırasında ilk oluşan kemik dokusuna '**primer kemik dokusu**' veya '**lamelsiz kemik dokusu**' denilmektedir (22, 23, 28, 30, 41, 72, 82, 91,). Primer kemik dokusunda kollajen lifler matrisi içerisinde düzensiz şekilde bulunurlar. Amorf maddeye çökelen mineral miktarı az fakat sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir, ancak bu doku kalıcı değildir (30, 72, 82). Bu düzenlenimden sonra osteoklastlar primer kemik dokusunu kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler dışında yıkarlar ve yerine osteoblastlar tarafından yeni kemik dokusu sentezlenir.Bu sürece **yeniden yapılanma** (remodeling) denir. Remodeling ile oluşan kemik dokusuna '**sekonder kemik dokusu**' veya '**lamelli**

kemik dokusu' denir (30, 72). Kalıcı kemik dokusu erişkinlerde bulunmaktadır (22, 30, 41, 72, 82, 91).

Lamelli kemik dokusu 3-7 μ kalınlığında, ince lamellerden oluşan olgun kemik dokusudur. Lamellere çok sıkı bir şekilde bağlanmış olan kollajen fibriller bir lamelden diğer bir lamele paralel olarak uzanırlar. Osteositler bu lameller yapıların arasında osteoplast denilen boşluklara yerleşmişlerdir (22, 23, 30, 41, 72, 82, 91). İç içe dairesel lamellerin yaptığı bir bütünün ortasında içinde damar ve sinirlerin yer aldığı bir merkezi kanal bulunur. Bu kanalla '**Havers Kanalları**' denir (Şekil 1.4). Bir havers kanalıyla çevresindeki lamellerden oluşan bütün '**osteon**' yada '**havers sistemi**' olarak adlandırılır. Her osteon kemiğin uzun eksenine koşut uzanır; ortadaki havers kanalını sayıları 15-20 arasında değişebilen kollajen lamelleri çevreler. Osteonların ortalarındaki havers kanalları dar açılı dallanmalarla '**Volkman kanallarını**' oluşturur ve bu kanallar aracılığı ile periosteum ve kemik iliği ile ilişki kurarlar. Volkman kanallarını iç içe lameller çevrelemez, lamelleri delip geçen kanallar olarak dikkati çekerler. Havers ve volkman kanallarını dolduran gevşek bağ dokusunda çok sayıda sinir ve kan damarı bulunmaktadır (22, 23, 30, 41, 82, 90, 91). Osteonlar polarizasyon mikroskobunda incelendiklerinde, yapılarındaki açık (anizotrop) ve koyu (izotrop) katların birbirlerini izledikleri ortaya çıkar. Havers kanalları çevresinde yerleşmiş kollajen lif demetleri uzunlamasına ve uygun açıyla verilen polarize ışığı çift kırarak anizotrop bantları oluştururlar. Aradaki izotrop bölgeler kollajen lif demetlerinin değişik yönlendirmeleriyle ilgilidir. Her bir lameldeki kollajen lifler uzun eksen boyunca gevşek sarmallar oluşturacak biçimde dönüşümler yaparlar. Bir demetin sarmal yönüyle onun içinde yada dışında bulunanların arasında dike yakın çaprazlar oluşur (30, 82). Havers sisteminin enine kesitinde bir lameli oluşturan kollajen liflerin yönü uzun eksene neredeyse koşut olarak seçilirken ondan sonra gelen lameldeki liflerin oblik olarak yönlendikleri göze çarpar. Bu yapı özelliği ışık mikroskobu altında seçilen lamelli düzenlenmenin ortaya çıkmasına neden olur. Bu lameldeki kollajen lifler uzunlamasına yerleştiklerinden uzunlamasına kesitte bu lamelin yapısı tanecikli olarak gözlenir; yanındaki lamelde oblik uzanan kollajen lifler kesitte uzunca kesikli demetler olarak belirirler.



Şekil 1.4. Dekalsifiye edilerek hazırlanmış kemik preparatında Havers kanalları (H), Osteoplastlar (Op) ve içlerinde osteositler görülmektedir. x40, H.E.

Havers kanallarının genişliği çok değişkendir; genç osteonların ortalarındaki kanalların çapları özellikle geniştir. Gelişmekte olan ve erişkin kemik dokularındaki osteonların yıkılıp yeniden yapılmaları sürekli dir. Bu nedenle ortalarında geniş birer havers kanalı bulunan birkaç lamelli genç osteonlara sıklıkla rastlanmaktadır. Dış ve iç lameller periosteum ve endosteumun altında kemiği çepeçevre daireler biçimde sarar. Dış esas lamellerin sayıları içtekilere kıyasla daha çoktur. Osteonların aralarında kalan ufak üçgen biçimindeki boşlukları iç ya da ara lamelleri belirli bir düzenlenme göstermeksizin doldururlar. Havers sistemleri kemiğin yıkılıp yapılması sürecinde ortadan kaldırılıp yeniden oluşturulur (23, 30).

Lameller kemik dokusu **spongioz (süngerimsi)** ve **kompakt** kemik dokusu olarak ikiye ayrılır. Enine kesilmiş kemik kesitlerini makroskobik olarak incelediğimizde boşluksuz yoğun sahalar kompakt kemiği, çok sayıda birbirleri ile ilişkili boşluklardan oluşan alanlar ise spongioz kemiği oluşturur.(22, 23, 28, 30,

41, 65, 72, 82, 91). Bu iki farklı yapıya mikroskopik olarak baktığımızda ise trabeküler yapılarının aynı olduğu görülmektedir (Şekil 1.5). Gözle bakıldığında ayırt edilen bu iki tür yapı hücreler arası maddedeki liflerle amorf maddenin farklı düzenlenmelerinden ortaya çıkmaktadır (82).



Şekil 1.5. Femur trabekül yapısı (87).

Uzun kemiklerin şişkince olan uç kısımlarına **epifiz** denir. Epifizler ince bir kompakt kemik tabakasıyla kaplanmış süngerimsi kemikten oluşmuştur. **Diyafiz** denilen silindirik kısmın ise hemen hemen tümü kompakt kemikten meydana gelir ve kemik iliği boşluğuna bakan yüzeylerinde çok az süngerimsi kemik vardır (22, 23, 30, 72, 82, 87, 90, 91). Bu iki yapıya ek olarak epifiz ile diyafiz arasında metafiz olarak adlandırılan bir geçiş bölgesi bulunmaktadır (91). Kısa kemiklerin merkezindeki süngerimsi kemik tamamen kompakt kemikle çevrelenmiştir. Kafatası kemiklerini oluşturan yassı kemikler diploe adı verilen süngerimsi kemik tabakasıyla ayrılan plaka denilen iki kompakt kemik tabakasına sahiptir (22, 23, 30, 72, 82, 90). Çocuklarda büyümekte olan kemik dokusunda epifiz ile diyafiz **epifizeal plak** denilen ince hyalin kıvrıkdaktan oluşan bir tabakayla birbirlerinden ayrılırlar. Uzun kemiklerin büyümesini sağlayan bu yapı büyüme tamamlandığında kapanır, **epifizeal hat** adını alır ve böylece epifiz ile diyafiz son şeklini kazanır (22, 23, 41, 65, 72, 91).

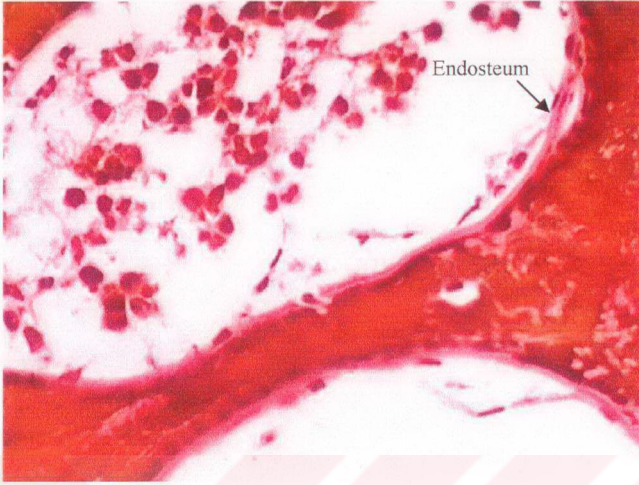
Süngerimsi kemik ile uzun kemiklerin diyafizlerindeki kemik boşlukları iki tür kemik iliği ile doldurulmuştur. Bunlardan biri kan hücrelerinin oluşturulduğu kırmızı kemik iliği, diğeri ise çoğunluğu yağ hücrelerinden oluşan sarı kemik iliğidir (30). Genellikle sarı kemik iliği kol ve bacaklardaki uzun kemiklerde bulunur. Çocukların kemiklerinde erişkinlere oranla daha fazla miktarda kırmızı kemik iliği bulunmaktadır. Bu kemik iliği uzun kemiklerin diyafizinde lokalize olmuştur (72).

1.1.4. Periosteum Ve Endosteum

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri kemiği oluşturan nücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Dıştakine periosteum içtekinde endosteum denir (22, 23, 30).

Periosteum'un dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşur. Demeter halinde periostal kollajen liflerden oluşan Sharpey Lifleri matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar (30, 41, 65, 82). Dış tabakanın kollajen lifleri düzensizdir ve bu tabaka sinirleri ve kan damarlarını içermektedir (72). Hücreden daha zengin olan periosteum'un iç tabakası bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden yana zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konuları, yassı şekilleri, çok az miktarda granüllü endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş golgi kompleksleri ile ayırt edilirler. Tüm kemiği sıkıca sarmasına rağmen eklem yüzeyinde bulunmaz. Bu hücreler kemiğin büyümesi ve onarımında başlıca rolü oynarlar (22, 23, 30, 41, 82). Olgun periosteumda yassı şekilde bulunan hücreler fetal gelişim döneminde ve kırık onarımında aktif hale geçtiklerinden oval, yuvarlağa yakın hale gelirler. Sitoplazmaları bazofilik ve kollajen sentezi için gerekli olan granüllü endoplazmik retikulum içermektedir (91).

Endosteum, uzun kemiklerin diyafizinin medullar boşluklarını, süngerimsi ve kompakt kemiğin küçük boşluklarını örten ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteoklastlardan ve çok az miktarda bağ dokusundan oluşur (Şekil 1.6). Bu yüzden endosteum periosteumdan oldukça incedir (23, 30, 41, 72, 79, 82).



Şekil 1.6. Trabeküler yapının etrafında endosteum görülmektedir. x40, AgNO₃ ve H. E.

Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenmesi, büyümesi ve onarımı için gerekli yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamak ,kemiğe gelen damar ve sinirlerin volkmann kanalları içinde kemik dokusu derinliklerine kadar iletmeğdir (30, 82).

1.1.5. Kemik Anatomisi:

Kemikler şekillerine göre beş gruba ayrılırlar:

1.Uzun kemikler: Uç kısımlarda iki epifiz ve ortada bu yapıları birleştiren diyafizden oluşmaktadır. Ör: Tibia, femur.

2.Kısa kemikler: Genişliği ve uzunluğu kısa olan kemiklerdir. Ör: El bileğindeki karpal kemikler.

3.Yassı kemikler: Yassı ve ince kemiklerdir. Ör: Kafatası kemikleri.

4.Düzensiz kemikler: Şekilleri düzensizdir. Ör: Kafatasının sfenoid ve etmoid kemikleri, vertebra.

5.Sesamoid kemikler: Kaslar için mekanik direnç sağlayan kemiklerdir. Ör: Patella (23, 72).

1.1.6. Kemik Histogenezi:

Fötal gelişme döneminde kemik dokusu iki yolla gelişir:

1.1.6.1. İntramembranöz Kemikleşme:

Çoğu yassı kemik bu tip kemikleşmeyle meydana gelmektedir. Bu süreç mezenşimal doku yoğunlaşmaları içerisinde olduğu için intramembranöz kemikleşme olarak adlandırılmaktadır (30). Frontal ve parietal kemiklerin tamamı ile occipital ve temporal kemiklerin squamos parçaları, mandibula ve maxillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Olay bir grup mezenşimal hücrenin bağ dokusu zarları içerisinde osteoblastlara dönüşmesiyle başlar. Kemikleşmenin başladığı ilk noktaya **primer kemikleşme noktası** denilmektedir. Yeni kemik matrisinin sentezini kalsifikasyonu takip eder, bunun sonucunda da bazı osteoblastların etrafı matris dokusuyla sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline dönüşür. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına mikroskobik görünüşlerinden dolayı **spikül** (iğnecik) adı verilir. Spiküller aralarında kapillerleri, kemik iliği hücrelerini ve farklılaşmamış hücreleri içeren boşluk uzantılarını saran duvarların kesitleridir. Kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanda birkaç tane primer kemikleşme merkezi oluşur ve bunların birleşmesiyle süngerimsi kemik dokusu meydana gelir (30, 79, 82). Osteoblastlar tarafından sentezlenen kollajen fibriller oluşan yapıyı sağlamlaştırır ve hidroksiapatit kristallerinin çökmesi için zemin oluşturur. Daha sonraki aşamalarda osteoklastların aktivitesiyle gelişen kemik dokusu büyür. Spiküller arasındaki boşluğa farklılaşmamış mezenşimal hücreler girerek kemik iliğini meydana getirirler. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise periosteum ve endosteumu oluştururlar (22, 30, 79, 82, 90, 91).

1.1.6.2. Endokondral Kemikleşme:

Bu tip kemikleşmede öncelikle gelişecek kemiğin şekline benzeyen hiyalin kırdaktan oluşan, küçük bir modele ihtiyaç vardır. Temel olarak bu tip

kemikleşmenin iki aşaması vardır. İlk aşama kıkırdak modelde yer alan kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Geriye kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayırdığı genişlemiş lakunalar kalır. İkinci aşama osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuğun dejenere olan kıkırdak hücrelerinden boşalan alanlara girmesidir. Bu bölgede osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemikleşmenin başlamasını sağlar. Kısa ve uzun kemiklerin kemikleşmesi endokondral kemikleşme ile meydana gelmektedir. Uzun kemikler kendi şekillerine uyan, yani iki uçta epifiz ve ortada diyafizi olan kıkırdak bir modelden meydana gelmektedir. Kemikleşme ilk olarak diyafizleri saran perikondriumun içerisinde intramembranöz kemikleşme ile başlar. Perikondriumun iç kısmında silindirik, kemik manşeti denilen kemik tabakası meydana gelir. Bu manşeti saran perikondrium ise artık kemik dokusunu sardığı için periosteum adını alır. Kemik manşetin iç kısımlarındaki kondrositler kıkırdak matriksin devamlılığını sağlama özelliklerini kaybederler ve kalsiyum çökmesiyle birlikte kalsifikasyon başlar. Kemik manşette bulunan osteoklastlar tarafından kemik manşette açılan deliklerden içeriye periosteumdan kaynaklanan osteojenik tomurcuk kan damarlarıyla birlikte girer. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşür, osteoblastlar ise kıkırdak matriksi üzerinde tıpkı epitel hücrelerinin bir lümen etrafında sıralanması gibi aralıksız bir tabaka oluşturarak kemik matriksinin organik bileşenlerini sentezlemeye başlarlar. Böylece kıkırdak artıkları üzerinde primer kemik sentezi başlar. Osteojenik tomurcukla birlikte kan dolaşımındaki kemik iliği kök hücreleri de yeni oluşan kemik içine girerler (23, 30, 79, 82, 90, 91).

Histolojik kesitlerde kalsifiye kıkırdak dokusu bazofilik, üzerine çökmüş kemik dokusu ise asidofilik olarak birbirlerinden ayrıt edilmektedir. Bu bölgede kemikleşme arttıkça osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli dev hücreler kalsifiye kıkırdak artıklarını ortadan kaldırır. Bu şekilde diyafizde ortaya çıkan kemikleşme merkezine '**primer kemikleşme merkezi**' denir. Bu kemikleşme esnasında osteoklastlar da rezorpsiyonla kemiğin merkezinde kemik iliği için gerekli olan boşluğu oluştururlar ve kemik iliği kök hücreleri tarafından bu boşlukta kemik iliği oluşturulur. Diyafizde kemikleşme bu şekilde tamamlandıktan sonra epifizlerde '**sekonder kemikleşme merkezleri**' meydana gelir. Gelişmekte olan bir kemikte bu merkezlerin ortaya çıkışı eş zamanlı olarak meydana gelmez.

Sekonder kemikleşme merkezlerinde de kemikleşme aynen primer kemikleşme merkezlerindeki gibi meydana gelir. Aralarındaki tek fark diyafizlerde kemikleşme uzamına devam ederken epifizlerde ışınsal olarak meydana gelmektedir. Ayrıca eklem kırıkdağında perikondriyum olmadığı için bu bölgede kemik manşete benzer bir yapı oluşmaz. Işınsal olarak öyüyen sekonder kemikleşme bölgesi tüm epifizi kapladığında birincisi eklem bölgesinde eklem kırıkdağı, ikincisi epifizleri diyafizlere bağlayan epifiz plağı olmak üzere iki bölgede kırıkdağ hayat boyu kalır. Epifiz plağı uzun kemiklerin uzunlamasına büyümesinde son derece önemlidir. Epifiz plağının kapaamasıyla kemiklerin uzaması durur. Endokondral kemikleşme genellikle fetal hayatın üçüncü ayında meydana gelmektedir (22, 23, 30, 79, 82, 90, 91).

Uzun kemiklerin boyuna büyümesini sağlayan epifiz plağında beş bölge ayırt edilir. Epifiz kırıkdağından diyafizlere doğru bakarsak ilk bölge istirahat bölgesidir. Bu bölgede bulunan hyalin kırıkdağ dokusunda histolojik açıdan hiçbir değişiklik yoktur. Kondrositler ikili, üçlü gruplar halinde kondronlar oluşturmuşlardır. Plaktaki ikinci bölge proliferasyon bölgesidir. Kondrositler bu zonda hızlı mitotik aktivite göstererek çoğalırlar ve üst üste dizilmiş izogen hücre grupları oluştururlar. Bir sonraki zon hipertrofi zonudur. Kondrositler hücre içerisine çok miktarda glikojen depolayarak daha şişkin ve belirgin bir görünüm kazanırlar. Dördüncü bölge kalsifiye kırıkdağ bölgesidir. Kondrositlerin ölümüyle birlikte hidroksiapatit kristalleri kırıkdağ matriksinin ince septaları üzerine çökerek kalsifikasyonu başlatır. Son olarak kemikleşme bölgesinde endokondral kemik dokusu ortaya çıkar. Periosteumdan kaynaklanan osteoprogenitör hücreler kan kapillerleriyle birlikte kondrositlerden boşalan alanlara girerler ve osteoblastlar matriks sentezine başlar. Böylece uzun kemiklerin boyuna büyümesi meydana gelir(22, 23, 30, 82, 91).

Kemik kütlelerinin artması puberte döneminin sonuna kadar seks hormonlarının etkili olduğu dinamik bir süreçtir. Osteoklastların kemiği parçalaması, osteoblastlar tarafından yeniden yapılanma döngüsü dinamik olarak her gün kendiliğinden meydana gelmektedir (21). Uzun yıllar kemik kütlelerinin otokrin ve parakrin mekanizmaları değişmeyeceğine inanıldı. Bazı eski klasik kitaplarda ise

osteoklastların kemik iliği kök hücrelerinden farklılaşmasının o bölgede osteoblastların bulunmasına bağlı olduğu yönünde veriler bulunmaktadır. Kemik doku hasarlarının tüm yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemesi, ilerleyen yaşlarda kemik kırıklarının morbitide ve mortalite artışına neden olması bu dokunun her yönüyle incelenmesi ve hastalıklarının araştırılması önem kazanmıştır (81).

1.1.7. Kemik Büyümesi ve Şekillenmesi:

Kemik büyümesinde osteoblastlar ve osteoklastlar birlikte hareket etmektedirler. Daha önce oluşmuş olan kemik dokusu osteoklastlar tarafından yıkılırken aynı zamanda osteoblastlar tarafından da yeni kemik matrisi sentezlenir. Bu süreçte osteoblastik aktivite osteoklastik aktiviteden daha hızlıdır. Böylece kemik büyürken şeklide korunmuş olur. Kemik şekillenmesi kas kasılımmın ve vücut hareketlerinin oluşturduğu çekilme ve gerilme, gebelik, hormonlar ve büyüme faktörleri gibi etkenlere bağlıdır. Kraniyal kemiklerin büyümesi esas olarak kemik dokularının şekillenmesi için genellikle dış yüzeyleri ile süturları (birleşme çizgileri) arasında yer alan periosteum aracılığı ile olur. Aynı zamanda bunların iç yüzeylerinde de rezorbsiyon gerçekleşir. Sürekli büyüme ve yenilenme yeteneği olan kemik dokusu beynin ve vücudun diğer organlarının büyümesine ayak uydurarak büyür (30).

Kemik kırıklarında öncelikle yırtılan kan damarlarından akan kan nedeniyle bir kanama kütleli oluşur. Kırığa yakın olan bölgedeki osteositlerle hücreler arası maddesi yıkılarak ortadan kaldırılır. Onarımda ilk önce onarılacak bölgenin bu artık maddelerden temizlenmesiyle başlar. Temizleme işlevi makrofajlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Kırık bölgesine yakın bulunan endosteum ve periosteum da bulunan mezenşimal hücreler ardi ardına mitoz bölünme geçirecek çoğalıp bu bölgenin çevresini sararlar. Yeni oluşan hücreler yaralı dokuya geçip endokondral kemikleşme ile önce hiyalin kırık yapıdaki bölmeleri meydana getirir, sonra bu bölmeler üzerinde kemikleşme başlar. Yeni kemik gelişimi intramembranöz yolla da olabilir. Böylece aynı kırık bölgesinde hiyalin kırık bölmeleriyle intramembranöz kemikleşme odakları ve endokondral kemik gelişimi yan yana gözlemlenebilir (30, 39, 74).

1.2. Kollajen Yapısı:

Total vucut kitlesinin yaklaşık üçte biri protein, total proteinin ise dörtte biri kollajendir. Bu kollajen miktarının %88'i kemik dokusunda ve dermiste bulunmaktadır (4). Kollajen bağ dokularının temel komponentlerinden biridir. Memeli proteinlerinin yaklaşık olarak %25'ni oluşturur. Memeli dokularında ondan fazla kollajen tipi belirlenmiştir. Bunların dokularda bulunma oranları ve düzenlenmeleri dokuların fiziksel özelliklerini belirlemede önemli bir faktördür. Tüm kollajen tiplerinde üçlü heliks yapısı mevcuttur. Her polipeptid alt birimi veya üç α zinciri sola dönüş yapan heliks şeklindedir. Bu dönüşün ardından α zincirlerinin üçü birlikte sağ tarafa yönelik süper heliks tarzında bir dönüş yaparak 1,4 nm çapında ve 300 nm uzunluğunda bir molekül oluştururlar. Molekülün en çarpıcı özelliği α zincirinin üçlü heliks kısmında her bir üçüncü konumda meydana çıkan glisin kalıntılarıdır. Glisin heliksin çekirdek merkezine doğru gidildikçe mevcut olan kısıtlı mesafeye uyum sağlayabilecek yapıdaki en küçük aminoasittir. $(Gly-X-Y)_n$ olarak tekrarlayan bu yapı üçlü heliks oluşumu için çok gereklidir. X konumlarının 100 kadarı prolin, Y konumlarının 100 kadarı ise hidroksiprolin aminoasitinden oluşmaktadır. Dokularda uzun çubuğumsu fibriller oluşturan kollajen tipleri üçlü heliks ünitelerinin çeyrek kırmalı bir dizilimi sağlayacak tarzda lateral olarak birleşmeleri ile bir arada toplanırlar. Bu düzenlenme fibrillerin bağ dokusundaki bantlı görünümüne sebep olmaktadır. Kollajen fibrillerin hem üçlü helikslerin içinde hemde aralarında yer alan kovalent çapraz bağlarla yapısı ileri derecede stabilize olmaktadır (37, 51). Kollajen iki grup halinde bulunur. Biri, dokulardaki kuvvetleri iletip, enerjisi dağıtan ve mekanik zararları engelleyen fibriller, diğeri ise nonfibriller kollajendir (4).

Osteoblastlarda kollajen polipeptid zincirini endoplazmik retikulumun veziküler aralığına yönelen bir lider veya sinyal dizisi taşıyan preprokollajen prokürsör formunda ribozomlarda sentezlenmektedir. Endoplazmik retikuluma dahil olunca lider dizisi enzimatik olarak ana yapıdan uzaklaştırılır, prokollajen meydana getirilir. Prokollajen molekülünde prolin ve lizin kalıntılarının hidroksilasyonu ve hidroksilizinlerin glikozilasyonu meydana gelir. Amino terminal propeptid ve karboksil terminal propeptid molekülleri hem zincir içi hem de zincirler arası disülfid bağlarını meydana getirirler. Bu disülfid bağlarının

oluşumu üçlü heliksi meydana getirmek üzere üç kollajen molekülünün birbirleri ile uygun bir biçimde yerleşimlerine yardımcı olur. Golgi aparatı aracılığı ile hücreden sekresyonun ardından prokollajen aminoproteinaz veya prokollajen proteinaz adı verilen ekstrasellüler enzimler amino ve karboksil terminal uçlardaki uzantı peptidlerini kaybederler. Bu propeptidlerin parçalanması hücre membranında kriptalar ve katlantıların içinde meydana gelebilir. Propeptidler uzaklaştırıldıktan sonra kollajen molekülleri kollajen fibrilleri oluşturacak şekilde bir araya toplanırlar. Kollajen salgılayan hücreler hücre yüzeylerinde, ekstrasellüler matriks ve kanda mevcut büyük bir glikoprotein olan fibronektini de salgılar. Fibronektin kümeleşen prokollajen fibrillerine bağlanır ve perisellüler matrikste fibrin oluşum kinetiğini değiştirir. Böyle etkileşimler kollajen fibrillerin oluşumunu düzenlemede ve dokulardaki oryantasyonlarını belirlemede yardımcı olabilir (51).

Ondan fazla kollajen tipi olmasına rağmen en yaygın, en bol bulunan ve üzerinde en çok çalışılan tipleri I, II, III, IV ve V' dir.

Tip I kollajen: Kemik, cilt, tendon, organ kapsülleri gibi dayanıklı ve sert dokularda bulunur. Düşük hidroksilizin içeriği, tek tük hidroksilizin glikozilasyon konumları ile geniş yapı da lifler halinde dokulara yerleşmişlerdir. Kemik dokusunun karakteristik özelliği olan sertliği ve dayanıklılığı Tip I kollajen demetlerinin duvardaki tuğlalar gibi üst üste ve sıkıca düzenlenmesinden ve bu yapı üzerine hidroksiapatit kristallerinin çökmesinden oluşmaktadır (30, 51).

Tip II kollajen: Kıkırdak dokusu, nukleus pulposus, notokord ve vitreus cisminde bulunan Tip I kollajen liflerinden daha ince olan kollajen molekülüdür (30, 51).

Tip III kollajen: Genellikle dokularda Tip I kollajenle birlikte bulunur. Muhtemelen retiküler liflerin ana bileşenidir. Diğer kollajen tipleriyle birlikte polimerize olabilir. Ciltte, özellikle fetal ciltte, uterus ve kan damarlarında bulunur (30, 51).

Tip IV kollajen: Böbrek glomerülü, lens kapsülü, descement membranı, epitelyal ve endotelyal hücrelerin bazal laminasında bulunmaktadır. Dokuda fibriller yada lifler oluşturmazlar (30, 51).

Tip V kollajen: Fötal membranlarda, kan damarlarında ve az miktarda da diğer dokularda bulunur (30, 51).

Tip I, II, III kollajenlerde tropokollajen molekülleri mikrofibril alt birimleri halinde kümelenerek fibrilleri meydana getirmek üzere paketlenirler (30, 51). Taze kollajen lifler renksizdir, ancak dokuda fazla sayıda yer aldıklarında dokunun beyaz bir görünüm almasını sağlarlar. Liflerde bulunan tropokollajen moleküllerinin uyumlu dizilişi liflerin ışığı çift kırıcı özelliğinden sorumludur. Kollajen lifler elastik değildir ve moleküler dizilişlerinden dolayı sağlamdır. Bu yüzden kollajen içinde bulunduğu dokulara esneklik ve dayanıklılık verir. Işık mikroskopuyla bakıldığında kollajen lifler asidofildir, Eozinle pembeye, Mallory trikrom boyası ile maviye, Mason trikrom boyası ile yeşile, Sirius kırmızısı ile kırmızı renge boyar (25, 30).

Kollajen biosentezini yapan enzimlerin seviyeleri yaşlanmayla birlikte azaldığı için kollajen miktarı, tipi, kalitesi bozulmakta, bu bozulmada kollajenin en çok bulunduğu kemik dokusu ve cildi etkilemektedir. Menopoz dönemindeki kollajen bozukluklarının yapılan çalışmalarda estrojen tedavisiyle azaltılabileceği gösterilmiştir.

1.3. Menopoz:

Menopoz; ovaryum aktivitesinin yitilmesi sonucunda menstrüasyonun kalıcı olarak sonlanmasıdır. Eski Yunancadan gelen menopoz sözcüğü men (ay) ve pausis (sonlanma) sözcüklerinden köken almaktadır. Bu dönemin kadın fizyolojisi üzerindeki en önemli etkisi; kadınların yaşlanarak iyi bir generasyon meydana getirme yeteneklerinden yoksun oldukları bir yaşta gelecek nesillerin gelişimi yönünden bu yeteneklerinin yok olmasıdır. Reprodüktif dönemin sonlanmasında pek çok etken rol oynamakta, gonadların yaşlanmasına tüm endokrin sistemin ve

vucudun sistemik olarak yaşlanması eşlik etmektedir. Aslında menopoza fizyolojik bir dönemi belirtmekle beraber cerrahi girişim sonucunda (histerektomi ve ooforektomi), kemoterapi veya radyoterapi gibi etkenlerle de meydana gelmektedir. Menopoz belirli bir anda meydana gelmekle beraber yıllar öncesinden kadın üreme sikluslarında bu konuya ilişkin değişiklikler başlamaktadır. Değişikliklerin başladığı bu döneme WHO'nun tanımına göre perimenopoz 'menopoz öncesinde, menopoza ilişkin klinik, biyolojik ve endokrinolojik herhangi bir belirtinin başlamasından itibaren son menstruel periyodu izleyen bir yıllık süreyi içersine alan dönemdir' denmektedir. Bu dönemdeki kadın 1 yıl süreyle adet görmemişse bu kadın için menopoza girmiştir denir. Bu dönemden sonraki süreç ise postmenopoz olarak tanımlanır (4, 24, 29, 31, 75).

Klimakteryum estrojen metabolizmasındaki düşme sonucu menopoz belirtilerinin başladığı, geçiş sürecinin bittiği ve belirtilerin kaybolduğu ana kadar olan dönemdir. Bu dönem de fizyolojik bir dönem olup yaşlanmayla birlikte ovaryumların folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinizan hormona (LH) yanıtı azalır. Bu dönemin başlangıcında foliküler faz kısadır, birkaç ovulasyon, azalmış progesteron üretimi ve çok düzensiz sikluslar meydana gelir. Sonunda folliküller yanıtın bittiği, dolaşımdaki gonadotropinlerin arttığı estrojen ve progesteron düzeylerinin ise azaldığı görülür. Artık bu dönem kadın için doğurma yeteneğinin kaybolduğu bir dönemdir (10).

Ovaryumlardaki granüloza ve teka hücreleri yaşam boyunca en önemli endojen estrojen kaynaklarıdır. Yaşlanmayla birlikte foliküller tükendiğinde ovaryumların estrojen salgılaması azalır ve sona erer. Günümüzde reproduktif yaşlanmayla ilgili tartışılan pek çok teori olmasına karşın, ovaryum dejenerasyonu, doku kaybı veya santral sinir sisteminde ovaryum uyarıcı nörotransmisyonunda gerileme, üzerinde en çok tartışılan teoridir. Tüm bu teorilere rağmen gerçek olan foliküllerin tamamen bitmesi veya yok denebilecek düzeye inmiş olmasıdır (4). Kalan foliküllerin yüksek konsantrasyondaki gonadotropinlerle bile stimüle olması mümkün değildir. Bununla beraber hücre yüzeyindeki folikül stimulan hormon reseptörlerinde meydana gelen azalma sonucunda overlerde estradiol üretimi postmenopozal dönemde azalır. Luteinizan

hormon reseptörleri overlerin stroma hücrelerinde bulunmasıyla over kaynaklı androstenodione ve dehydroepiandrosterone (DHA)'nın üretimi azalarak devam ederken, testosterone üretimi de hafif artış gösterir (10).

Menopoza girme yaşı ile ilgili yapılan çalışmalarda gelişmiş ülkelerde yaşayan beyaz ırka mensup kadınlarda menopoz yaşı 50, aynı bölgelerde yaşayan Asyalı, Afrikalı, Uzak Doğulu ırklarda ve zencilerde 43-49 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bize dünya genelinde menopoz için kesin bir yaş belirlenmesinin ne kadar güç olduğunu göstermektedir. Çünkü; bekar kadınlar evli kadınlara göre daha erken menopoza girerler. Çok sayıda çocuk doğurmak ve uzun yıllar doğum kontrol hapi kullanmak menopoza girme yaşını uzatır. Ayrıca kadının sosyoekonomik durumu, yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları, sigara ve alkol kullanımı menopoz yaşını etkileyen faktörlerdendir. Ülkemizde ise çeşitli kaynaklara göre ortalama menopoz yaşı 46-47 arasında saptanmıştır (4, 24, 31).

1.3.1. Menopozun Belirtileri:

Menopoz dönemindeki kadınlarda folikül stimulan hormon premenopozal dönemdeki konsantrasyonunun 10-20 kat üstüne çıkar. 1 ila 3 yıl sonra plato yapar ve yavaşça düşer. Bu olay inhibin ve estradiolün negatif feedback etkisinin azaldığını gösterir. Hastaya yapılan hormon replasman tedavisinin sonucunda bile folikül stimulan hormon normal sınırlarına inmez. Lüteinizan hormon ise menopozdan sonra 2 ila 3 kat artış gösterir. Bu artıştan 1 ila 3 sene sonra tepe noktasına ulaşır ve yavaşça düşer. Luteinizan hormonun kandaki yarılanma ömrü 30 dakika folikül stimulan hormonun ise 4 saattir. Bu yüzden luteinizan hormon folikül stimulan hormondan daha az artış gösterir. Postmenopozal dönemde overlerde çok az miktarda estrogen üretilmesine rağmen dolaşımdaki estrogen bireysel farklılıklar gösterir. Bunun nedeni androjenik prokiürsörlerin periferde estrona dönüşümüdür. Estrone az etkilidir ve menopozdan sonra kanda görülen en temel estrogendir (10).

Perimenopozal dönemde estrogen seviyesinin azalmasıyla birlikte ortaya çıkan belirtiler, düzensiz kanamalar, kalp ve damar sistemi hastalıklarının görülme

riskinin artması, kemik yitiminin hızlanması ve artık gebe kalamama korkuları, menopoz döneminde ortaya çıkan vazomotor belirtiler, nörolojik ve psikiyatrik belirtiler, ürogenital atrofi, osteoporoz bu dönemdeki kadınlar için hem psikolojik hemde sosyal yönlerden olumsuz etkiler ortaya çıkarmaktadır. Kadın nüfusunun fazlalığı, kadınların yaşam sürelerinin uzunca bir bölümünü bu dönemde geçirmeleri menopoz dönemindeki risk faktörlerinin azaltılması ve koruyucu hekimlik oldukça önem kazanmaktadır.

Menopozda ovaryal fonksiyonların kesilmesi, hormonal sistemdeki dengesizlikler ve azalan estrogen ve siklusun ikinci fazında artan progesteronun kandaki düzeyinin azalması sonucu bazı kadınlarda hafif klinik semptomlar görülürken bazı kadınlarda ise çok daha belirgin semptomlar ortaya çıkar. Bu semptomlar genital-ekstragenital, somatik-psikolojik, erken-geç olarak sınıflandırılır (4, 75, 78).

Menopoz dönemindeki kadınların %75'in de görülen ve erken dönemde ortaya çıkan belirti deride ısı artışıdır. Bu artış hipotalamustaki termoregülatör merkezin estrogenin çekilmesi ile uyarılması sonucu ortaya çıkar. Estrojen varlığında ise termoregülatör merkez stabilize olur. Isı artışının meydana gelmesinden birkaç saniye önce kalp atım hızında ve derideki dolaşımda hızlanma meydana gelmektedir. Aniden terleme meydana gelir ve belirtiler ortalama 4 dakikada kaybolur. Sıcak basmasını takiben kalp çarpıntısı, halsizlik, baş dönmesi meydana gelebilir. Özellikle bu şikayetler geceleri uykudan uyanmaya ve uyku bozukluklarına sebep olur. Uyku bozuklukları sonucunda ise kadınlarda kronik yorgunluk, irritabilite, konsantrasyon bozuklukları ve hafızada azalmalar ortaya çıkmaktadır. Yapılan araştırmalarda bu dönemdeki kadınlara uygulanan estrogen tedavisinin uyku bozukluklarını düzenlediği gösterilmiştir (4, 24, 29, 31, 78).

Menopozla birlikte deride meydana gelen değişiklikler ise kuruma, elastikiyetin azalması, deri yüzey adipoz dokusunun azalması, deri hidrasyonu azalması ve kırışıklıklardır. Menopozla birlikte azalan estrogen seviyesi derideki kollajen miktarının ve yapısının bozulmasına, stratum korneum tabakasında da su

tutulunda azalmaya neden olmaktadır. Bu değişikliklerde menopo­z dönemindeki kadınlarda cilt problemlerini ortaya çıkartmaktadır (4, 12, 29, 75).

Menopoz dönemiyle birlikte kadınlarda nöro-psişik belirtiler ortaya çıkmaktadır. Vucutta alfa ve beta olmak üzere iki tip estrogen reseptörü bulunmaktadır. Hedef dokuya ulaşan estrogen hücre içine girerek bu reseptörlere bağlanır ve etkisini bu yolla gösterir. Estrogen hormonu hipokampusdaki CA1 bölgesindeki nöronların dentritik uzantılarının yoğunluğunu artırarak hafıza işlevi üzerinde önemli bir rol oynar. Örneğin serotonin sentezi, seratonin 'uptake'i, seratonin reseptör transkripsiyonu, yoğunluğu ve seratonin stimulasyonuna cevabı etkilemektedir. Seratonini katabolize eden monoamino oksidaz enzimi estrogen varlığında azaltıcı etkisini kaybeder. Böylece estrogen, merkezi sinir sisteminde değişikliklere yol açabilir ve depresyonu engelleyebilir. Premenopoz döneminde estrogen seviyesinin düşmesiyle birlikte depresyon belirtileri ve menopozla birlikte depresyonun artması bu nedenle meydana gelir (4).

Premenopoz dönemiyle birlikte düşen estrogen seviyesine bağlı olarak intestinal distansiyon, kolon spazmı, dispepsi ve konstipasyon gibi şikayetler ortaya çıkmaktadır. Gastro-intestinal sistemde meydana gelen bu değişikliklere ilaveten estrogenin lipid-protein mekanizması üzerindeki düzenleyici etkileri ve koroner damarlar üzerindeki koruyuculuğunun azalması kadınlarda kardiyovasküler hastalık riski artışlarının nedenidir (4).

Bu dönemdeki kadınlarda tuba kanallarında bü­züşmeyle beraber tuba kaslarında motilite azalması, tuba epitelinde yassılaşma ve salgı faaliyetinde azalma görülür. Uterus miyometriumu incelik, endometriyum atrofiye olur ve kavum uteri küçülür. Bazen endometriyumda hiperplazi, kistik değişimler atrofik değişimlere eşlik edebilir. Vajina epitelinde bü­züşme ile birlikte vajina submukozasında bağ dokusunun artması sonucu vajinal forniks derinliği azalması, idrar inkontinansı, sistit ve vajinit gibi problemler daha sık görülmeye başlar (4, 29, 71, 75).

Menopozal dönemde ortaya çıkan bu gibi belirtilerin yanı sıra lokomotor sisteme ait bağ dokusu, kemik dokusu ve kaslarda da mortalite ve morbiditeye varan belirtiler ortaya çıkar. Bunlar; kemik kırıkları, kas ağrıları, hareket esnekliğinde azalma, vücut hacminde azalmadır. Bu belirtilerin yanında göz yaşı miktarının azalması ve göz kuruluşuna bağlı olarak keratokonjonktivitis sikka menopoz dönemi kadınlardaki oftalmik değişikliklerdir. Tüm bu değişiklikler menopoz dönemindeki kadınların yaşamını zorlaştırmaktadır. (4, 29, 71, 75).

1.3.2. Menopoz Tedavisi:

Menopoz dönemindeki kadınlara overlerin hormon salgılamasına bağlı etkilerin devamlılığını sağlamak amacıyla en uygun tedavi hormon replasman tedavisidir. Ancak hasta seçimi, tedavideki risk yarar oranının iyi belirlenmesi ve hastanın tedavi boyunca kontrolü gerekmektedir. Estrojen tedavisi ile hastada kısa sürede sıcak basmaları vajinit riski, vaginal atrofi, alt üriner sistemin atrofik değişiklikleri geri döndürülür. Bu faydalarının yanında hormon tedavisiyle osteoporoz riski de azaltılır, kardiyovasküler hastalıklarda önlenir. Tüm bu yararlı etkilerinin yanı sıra estrojen tedavisi endometriumda yada memede estrojene bağlı neoplazi öyküsü, daha önceden geçirilmiş tromboflebit yada tromboembolizm öyküsü olanlarda, karaciğer problemleri olanlarda immün yetmezlik sendromlu kadınlarda kontrendikedir. Bu nedenlerden dolayı estrojen tedavisi alan kadınlar sürekli bir risk taşımakta ve tıbbi kontrol altında tutulmaktadırlar. Günümüz tıbbında tedavi maliyeti ve yan etki insidansı düşük yeni ajanların araştırılması ve geliştirilmesi bir zorunluluktur (10, 18, 31).

1.3.3. Menopoz ve Kemik Dokusu:

Sağlıklı bireylerde 25-30 yaşlarına kadar maksimum kemik kütlelerine ulaşıldıktan sonra, 25-40 yaş arası yıkım ve yapım arasında denge, 40 yaşından sonra ise yıkım faaliyetinde artış vardır. Bu dengenin bozulmasından dolayı her iki cinstede yılda ortalama %0,3 ila 0,5 kemik kaybı olur. Menopoz döneminde sonra ise kadınlarda bu oran %2-5 düzeyine ulaşır, daha sonraki yıllarda ise kayıp hızı yavaşlar. Menopozun doğal sürecini yaşayan kadınlarda kemik kütlelerinde ilk yıllardaki kemik kaybının yavaş olmasına rağmen overektomi sonucu menopoz dönemine girmiş kadınlarda bu oran %20'lere çıkmaktadır. Fizyolojik olarak

menopoza girmiş kadınlarla overektomi sonucu menopoza girmiş kadınlar arasında oluşan bu farkı açıklamak için birkaç hipotez öne sürülmektedir. Bunlardan biri fizyolojik menopoza girmiş kadınlarda ovarial interstisyel hücrelerden bir miktar estron salınımının devam etmesidir. Diğer bir hipotez ise premenopozdan postmenopoza geçiş sürecinde düşük olan estron ve androstenedion düzeylerindeki belirgin azalmadır (24). Ancak erken yaşta tıbbi endikasyon nedeniyle overektomi yapılmış kadınlarda overektomiyi takiben luteinizan hormonun (LH) ve folikül stimulan hormonun (FSH) plazma seviyeleri hızla yükselir. Bu yükselmenin gonodotrop salgılatıcı hormonun (GnRH) LH ve FSH üzerindeki etkisine bağlı olarak sıçanlarda overektomiyi takiben 12 saatte meydana geldiği gösterilmiştir (16). Overektomi uygulanmış sıçanlarda operasyonu takiben oluşan kemik kaybı 4. haftada %25 iken 8. haftada estrogenin hızlı azalmasına bağlı olarak bu oran %45'lere kadar çıkmaktadır (20). Osteoporoz 65 yaşa kadar kadınların %25'inde, 90 yaşına kadar ise %50'sinde en az bir kırık meydana getirebilen ve çok yaşlılarda oluşan bu kırıklar sonucunda %15-20'lik mortaliteye sebep olan bir metabolizma hastalığıdır. Yaşlanmayla birlikte kemik kütlesindeki azalmanın nedeni kadınlarda estrogen, erkeklerde ise androjen eksikliğidir. Estrogenin kemik dokusundaki etkinliği tam olarak bilinmemekte, bölgesel olarak osteoklast aktive edici faktörlerin sentezini inhibe ettiği veya osteoblast aktive edici faktörlerin salınımına neden olduğu düşünülmektedir. Gonadal disfonksiyon epifizyel büyüme plaklarının kapanmasını geciktirir. Bu hastalar hayatları boyunca osteoporotik kırık riskini yüksek olarak taşımaktadırlar. Estrogen eksikliğinin yanı sıra kişinin ailesel öyküsü, parathormon seviyesindeki artış, kalsitriol seviyesindeki azalma, vitamin D eksikliği ve sporsuz yaşam kemik kayıplarının artmasına neden olur (4, 29, 33, 52, 77).

Kemik dokusu hayat boyunca osteoklastlarca yıkılıp osteoblastlarca yeniden yapılan bir dokudur. Bu dengede interlökin 1(IL-1), tümör nekrozis faktör (TNF), platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), dönüşüm sağlayıcı büyüme faktörü- β , insülin büyüme faktörü-1 gibi bölgesel olarak üretilen ve bazıları osteoklastları, bazıları osteoblastları etkilerken, bazıları ise koşullara göre her iki etkinliği de uyarabilen maddelerce sağlanır (4).

Estrojen eksikliği kemik kütlesinde hızlı bir düşüşe sebep olur. Ancak bu durum genel bir kemik kaybı değildir, kemik yapısında bozulma ve kırılmanın artmasıdır. Trabeküler kemik kaybı, trabeküler mimaride bozulmalar, kortikal resorpsiyon estrojen eksikliğinde artar. Başlangıçta bu genellikle endokortikal resorpsiyondur ve bu da kemik iliği hacminde artışa ve kortikal genişlikte azalmaya öncülük eder. Osteoporozun ilerlemesiyle kortikal deliklenme oldukça artar, kemik dayanıklılığını kaybeder ve kırık riskinde artış meydana gelir. Estrojen reseptörleri tüm kemik hücrelerinde bulunur. Histomorfometrik çalışmalar osteoklastların ve onların öncülerinin osteoporozda ve estrojen eksikliğinde kemik yüzeyindeki sayılarının arttığını göstermektedir. Osteoblastların estrojenden etkilenip etkilenmediği henüz tam olarak bilinmemektedir veya artan osteoblastik aktivitenin osteoklastik aktiviteye bir yanıt mı olduğu bilinmemektedir. Hücre kültür çalışmalarında estrojenin osteoblastlar üzerinde ılımlı bir etkisinin olduğu belirtilmektedir. Osteoblastik hücrelerin proliferasyonunda bazı etkiler bu hücrelerin farklılaşmasını belirler. Estrojenin osteositler üzerine olan etkileri ise tam olarak bilinmemektedir (13, 85).

Menopoz sonrası ovaryum hormonlarının yetmezliği ile doğru orantılı olarak sürrenal kortekslerden salınan kortizol miktarında artış meydana gelir. Uzun süren estrojen eksikliğine eşlik eden yüksek orandaki kortizol seviyesi kas tonusunda azalmaya, genital atrofiye ve kemiklerde osteoporozu neden olur. Osteoporoz, birim hacimdeki kemik kütlesinin progressif olarak azalmasıdır. Histolojik olarak baktığımızda osteoidler normal genişlikte ancak kortikal kalınlık ve spongiöz trabeküllerde azalma mevcuttur. Dokuda yıkım artmış ancak yapım ya normal hızında ya da yetersiz olarak devam etmektedir (10, 36).

Osteoporozun üç tipi vardır:

İdiyopatik: Normal gonadal fonksiyonlu çocuk ya da genç erişkin dişi ve erkeklerde görülen kemik dokusu hastalığıdır (10, 38).

Tip I osteoporoz: Genel olarak 51-75 yaş arasında ortaya çıkan kadınlarda erkeklere oranla altı kat daha fazla görülen bir hastalıktır. Postmenopozal

dönemde estrojen miktarındaki azalmaya bağlı olarak ortaya çıkar. Bu tip osteoporozda spongioz kemiklerdeki kayıp kortikal kemikten daha fazladır. Bu kayıplar ise vertebra ve distal radyus kırıklarından sorumludurlar (10, 38).

Tip II osteoporoz: Senil osteoporozda denilmektedir. 70 yaş üstü kadınlarda aynı yaş grubundaki erkeklere oranla iki kat daha fazla görülen yavaş seyirli, yaşa bağlı bir hastalıktır. Yaşlanmayla ortaya çıkan vitamin D sentezindeki azalma veya vitamin D reseptörlerindeki azalmada kemik dokudaki hasarın ortaya çıkmasından sorumludur. Bu tip osteoporozda hem spongioz kemikler hem de kortikal kemikler etkilenir. Femur boynu, vertebralara, proksimal humerus ve tibia ile pelvis kırıklarından sorumludur (10, 38).

1.3.4. Osteoporozun Belirtileri:

Başlangıçta osteoporoz asemptomatik olabileceği gibi, sırt ağrılarıyla da ortaya çıkabilir. Özellikle T8, T6 ve T4 gibi yük taşıyan vertebralarda kompresyon kırıkları travmasız veya minimal travmayla meydana gelebilir. Ayrıca postmenopozal osteoporozda ovaryum fonksiyonlarında ve endojen gonad hormonlarının efektif düzeylerinde azalma mevcuttur. Gonadal hormonların azalmasına bağlı olarak osteoblastik aktivite azalır, bu aktivite azalmasına bağlı olarak da mineralizasyonda azalma meydana gelir. Tüm bu olaylar meydana gelirken kemik yıkımı yani osteoklastik aktivite kesintisiz olarak devam eder sonuçta kemik kütlesi azalır, kalsifiye kemikler normal kimyasal yapılarını koruyabilselerde kemiklerin kırık riskleri artar. Bu dönemdeki fizyolojik uyarılar osteoblastik aktivitenin sürdürülmesine yeterli olduğu için alkalen fosfataz seviyesi eğer bir kırık mevcut ise artmış, kırık yok ise normaldir. Kırıklar sonucu ortaya çıkan ağrı akutur, vucut dikleştirildiğinde artar ve lokal hassasiyet fazladır. Bu tip şikayetlerle kliniklere başvuran primer osteoporozlu hastaların biyokimyasal analizlerinde serum kalsiyum, fosfor, serum protein elektroforezi ve sedimentasyon hızı normaldir. Tip I osteoporozda paratiroid hormon (PTH) azalmış, Tip II' de ise artmıştır. Postmenopozal kadınların %20'sinde belirgin hiperkalsürinin yanı sıra üriner hidroksiprolin düzeyinde de artış gözlemlenir. Bu tip hastalarda uzun süren hiperkalsüriye bağlı olarak böbrek taşı oluşma riskinin arttığı tespit edilmiştir (4, 78).

Osteoporoz iskelettteki tüm kemikleri etkileyebileceği gibi bol trabeküler yapı içeren, yük taşıyan bölgelerde daha şiddetlidir. Erken dönemde vertebra ve el bilek kemikleri etkilenirken femur boynu geç dönemde etkilenir. Osteoporozda kemik yapısının bozulmuş olmasına rağmen yetersiz mineralizasyon, osteoid matriks artması meydana gelmemektedir. İşlevsel olarak osteoklastlar ve osteoblastlar arasında orantısızlık olmasına rağmen sayıca belirgin bir orantısızlık bulunmamaktadır (38).

1.3.5. Osteoporoz Tedavisi:

Osteoporoz tedavisinin önleyici, semptomatik ve koruyucu olmak üzere üç farklı tipi vardır. Önleyici tedavi osteoporozun tipine bağlı olarak hastada kırık riskinin belirlenmesine bağlıdır. Bu amaçla yapılan en yaygın tedavi şekli hormon replasman tedavisidir. Bu grup hastalarda estrogen kemik dokusundaki harabiyeti yavaşlatabilir veya tamamen durdurabilir. Ancak oluşan hasarı ortadan kaldıramaz. Estrojen tedavisi postmenopozal dönemdeki kadınlarda çekilme kanamalarına neden olabildiği gibi endometriyal karsinom riskini de arttırabilir. Tedaviye medroksiprogesteron asetat gibi progestinin eklenmesiyle kanser riski azaltılabilsede kanamalar artabilir, serum lipid profili bozulur ve koroner arter ile serebrovasküler tromboz olasılığı artar. Ayrıca estrojenler safra hastalıkları riskini arttırırken kalp hastalıkları ve inme riskini azaltabilir ancak meme kanseri riskini arttırırlar. Estrojen tedavisine ek olarak hastada vertebra kırıklarına bağlı olarak meydana gelen akut sırt ağrılarının tedavisinde analjezik ilaçlar, çeşitli tipteki korseler, masaj gibi semptomları önleyici tedaviler uygulanmaktadır. Ayrıca tedaviye kalsiyum ve vitamin D içeren preparatlar da eklenebilir (10).

Osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer bir ajan olan bifosfonatlar osteoklastlara bağlı kemik yıkımını engellerler ancak yüksek dozlarda kullanıldıklarında ise kemik mineralizasyonunu inhibe ederler. Etidronat sodyum ile yapılan tedavilerde hastaların kemik mineral dansitesinde artış ve vertebral kırık riskinde ise azalma tespit edilmiştir. Etidronat ve diğer bifosfonatlar üzerinde halen çalışmalar devam etmektedir (10, 42, 52).

Osteoporoz dönemi için antiresorptif tedavinin gelişmesi, kemik formasyonunun uyarılması ile anabolik ajanların gelişiminin bir sonucudur. Genel olarak anabolik ilaçlar kemik iliği stromal hücrelerini, osteoblastları, olgun osteoklastik aktiviteyi ve osteoklastogenezi aktive eder kemik turnover'ını artırır. Sodyum florid de postmenopozal osteoporozun tedavisinde kullanılan anabolik ajanlardandır. Fakat tedavi sonrası kemik mineral dansitesinde artış olmasına rağmen nonvertebral kırık riskinde de bir artış tespit edilmiştir (64).

Yukarıda bahsettiğimiz ilaçlara ek olarak osteoporoz tedavisinde parathormon ve kalsitonin de kullanılmaktadır. Parathormon kalsiyum ve fosfat düzeylerini etkilemektedir. Uzun süreli parathormon tedavisi sonucu kemik yapım ve yıkım dengesi yıkım yönünde, aralıklarla yapılan tedavide ise yapım yönünde kaymaktadır. Bu hormonun tedaviye eklenmesiyle kemik mineral dansitesi artırılabilir. Ancak bu ajanın parenteral olması uygulamada zorluk çıkarmakta, hasta için dezavantaj oluşturmaktadır. Kalsitonin tedavisi ise kemik mineral yoğunluğunu arttırmakta ve kırık riskini azaltmaktadır. Ancak günümüzde en yaygın olan nazal kullanımının biyoyararlanımı konusunda bazı sorunlar olabilir. İntra müküler veya subkutan kullanımında yararlı sonuçlar elde edilebilir. Bu ilacın da pahalı olması bulantı, kusma gibi yan etkilerinin fazla olması hastanın tedaviye uyumunu zorlaştırmaktadır (4).

Tüm bu ajanlarla yapılan osteoporoz tedavisinin amacı normal kalitedeki kemik kütleini arttırmak ve kırık riskini azaltmaktır.

1.4. Pineal Bez ve Melatonin:

İnsanda pineal bez uzunluğu 10-12 mm, genişliği 8 mm, kalınlığı 4 mm olan oval kırmızımtrak, diencephalona pineal sap ile bağlı küçük, konik şekilli endokrin bir organdır. Colliculus superiorların biraz üstünde orta hatta ve epithalamusun en arka kısmında yerleşmiştir. Ön kenarında bezin üst kenarı commissura habenularum'a, alt kenarı ise commissura posterior'a tutunur. Bu iki tutunma noktası arasındaki üçüncü ventrikül girintisine recessus pinealis denir (Şekil 1.7).



Şekil 1. 7. Sıçan pineal bezi.

Bezin histolojisine baktığımızda kapsülünden içeriye doğru uzanan ve bağ dokusundan meydana gelmiş septalar tarafından lobuluslara ayrıldığı görülür. Parankimasını pinealosit denilen, büyük çekirdekli, çeşitli uzantıları olan hücreler oluşturur. Stromada hücreler arası bağ dokusu, glia hücreleri ve bol kan damarı bulunur. Pinealositlerde melatonin, arginin, vasotisin üretilirken, glia hücrelerinde ise norepinefrin ve serotonin bulunur. Erişkin insanlarda ve yaşlılarda kalsiyum taneciklerinin bezde birikmesiyle acervulus cerebri denilen beyin kumu birikimi ve bağ dokusunda artış olur (70, 87, 89).Ganglion cervicalis superius'dan çıkan bir çift sempatik sinir, sinus rectus duvarı içinde epifize girer. Bu sinirlere nervus conarii denir ve kan damarlarında sonlanarak, pinealositlerle bağlantı kurarlar.

Pineal bezin fonksiyonu hakkında pek çok teori bulunmaktadır. Endokrin bir bez olduğu, seks hormonları üzerine frenleyici etki yaptığı, genital fonksiyonlar başlayıncaya kadar vücudun somatik yapısını yönettiği düşünülmüş fakat tam olarak kanıtlanamamıştır. Bunun yanında gonadlar, böbrek üstü bezleri, paratiroid bezleri, Langerhans adacıkları hipofiz ve immun sistem üzerine etkili olduğu bilinmektedir (49, 67).

Pineal bez hücreleri pinealositlerde üretilen melatonin (5-metoksitriptamin) denilen bir amino asit ekstrate edilmiştir. Melatonin sentezi ve salgılanması en çok gece olan, sıçanlarda östrusu inhibe eden bir hormondur. Pinealektomi ile pineal bez çıkarıldığında yeniden östrus normal siklusuna dönmektedir. Pineal bezde kan-beyin bariyeri yoktur. Pineal bezden salgılanan melatonin hedef organa kanla veya beyin omurilik sıvısına taşınır (84, 88, 89).

Pineal bezin çalışmasında ışık etkilidir. Bez daha çok geceleri karanlıkta aktiftir ve melatonin üretir (62, 61, 80). Retinadan başlayan sinirsel iletim hipotalamusta nucleus suprachiasmaticus'a oradan mesencephalon da tegmentum ve oradan da tractus reticulospinalis yolu ile medulla spinalis torakal kısmındaki sempatik nöronlara geldiği tahmin edilmektedir (63, 64, 68).

Melatonin sentezinin gece düzenlenmesi bezde sonlanan postganglionik sempatik nöronların sinaps bölgelerinden salınan norepinefrin miktarına bağlıdır. Gün esnasında suprakiazmatik nukleus intrapineal nöronlardan norepinefrin salınımını aktif olarak engeller. Geceleri ise bu baskılayıcı etki ortadan kalktığı için norepinefrin salınımı meydana gelir ve buna bağlı olarak pineal bezden melatonin sentezlenip kana ve beyin-omurilik sıvısına verilir. Intrapineal nöronlardan salınan norepinefrin bir seri biyokimyasal ve moleküler olay başlatır. Pinealositlerin hücre zarlarında bulunan α ve β -adrenerjik reseptörleri uyarır. β -adrenerjik reseptörler guanin nükleotid bağlayıcı-düzenleyici proteinler yolu ile adenilat siklaza bağlanır. Bu aktivasyon hücre içi siklik 3'- 5' adenosin monofosfat (cAMP) miktarında artışa neden olur. cAMP hücre içi ikincil mesajcıdır ve pinealositlerde melatonin üretiminde gerekli olan serotonin N-asetiltransferaz (NAT) enzimlerinin artışına sebep olur. α -adrenerjik reseptörlerde pinealosit içi cAMP ile bağlantılarda baş rol oynarlar ve bu uyarılar NAT aktivitesinde ve melatonin sentezinde artışa neden olur. Nocturnal melatonin sentezinin %85'i β , %15'i de α -reseptörlerin uyarımı sonucu meydana gelir. Reseptörlerin bu işlevlerinin yanı sıra norepinefrin ve adrenerjik bağlayıcı bölgeleri, diğer nöromodulatorlerin melatonin üretiminde ve salınımında etkilidirler. Melatonin lipofiliktir ve bu özelliğinden dolayı beyin-omurilik sıvısına ve kana salınmasını takiben kısa sürede kolayca organizmadaki tüm

sıvılara ve tüm hücelere girer. Memelilerde doğumda melatonin ritmi yoktur (63). Hidroksiindol-o-metiltransferaz gelişiminden önce, pinealde N-asetiltransferaz aktivitesinin ritmi keşfedilir. Bu enzim aktivitesi ilk kez postnatal hayatın 4. gününde gözlemlenmiştir. Aynı günde postganglionik sempatik sinirler bezce penetre olmaya başlar. Bezin fonksiyonu için gerekli olan tüm sinirsel döngü üretilir ve hormon üretim ritmi düzenlenir (64, 84, 93). Bu ritim 3.-4. aya kadar fark edilmez, 1 yaşına kadar ise hızlı bir artış gözlemlenir. Puberte öncesi sağlam bir sirkadyen ritim oluşur. Memelilerde seksüel gelişmenin başlamasıyla birlikte nokturnal melatonin seviyesinde anlamlı bir azalma meydana gelir. Yetişkinlerde ise ritim eski düzenli halini tekrar kazanır. Yaşlanmayla birlikte ritim bozulur ve kandaki melatonin seviyesi nokturnal melatonin sentezine bağlı olarak azalır. 20 ila 95 yaş arası insanlarda melatoninin üriner metaboliti olan 6-hidroksimelatonin sülfat yaşa bağlı olarak azalır. Bu azalma pineal bezde meydana gelen kalsifikasyon ile korelasyon gösterir. Yaşa bağlı olarak sentez işleminde meydana gelen bu azalma iki hipotezle açıklanmaya çalışılmaktadır: Birinci hipoteze göre yaşlanmayla birlikte β -adrenerjik reseptörlerin sayısında azalma veya norepinefrine cevap vermemeleri melatonin sentezini olumsuz etkilemekte ve dolayısıyla nokturnal melatonin seviyesi düşmektedir. İkinci hipoteze göre ise yaşlı hayvanlarda serotoninin melatoninine metabolize olma yeteneğinin azalmasıdır. Yaşlanmayla birlikte suprakiazmatik nükleustaki nöronların sayıca azalmasına bağlı olarak intrapineal sempatik sinir sonlanmalarından norepinefrin salınımı azalabilir. Bu azalmaların doğal sonucu olarak nokturnal melatonin sentezi düşer. Bu hipotezler üzerlerinde çalışılması gereken konulardır (62, 70).

Pineal bez içinde melatonin ve serotonin yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Bez içerisinde bulunan sempatik sinirlerin uçlarından salınan norepinefrin pinealositlere ulaşarak melatonin ve serotonin salgılamasını stimüle eder (73). Serotonin diğer adı 5-hidroksitriptamin olan vücudün farklı bölgelerinden fenilalanin hidroksilaz reaksiyonuna benzer bir reaksiyon ile triptofandan sentezlenen 5-hidroksitriptofan dekarboksile olarak serotoninini oluşturur (19). En yüksek konsantrasyonda mide ve barsak mukozasında, daha az miktarda trombositlerde, merkezi sinir sisteminde bulunur. Ağrının algılanması, davranışların, uykunun, vücut sıcaklığının, kan basıncının düzenlenmesi gibi fizyolojik görevleri vardır (84).

Melatoninin insan üreme basamaklarının regülasyonuna özellikle puberte ve menstrual sıklusa etki ettiği görülür. Nokturnal melatonin seviyesi yaşam boyunca yavaş yavaş azalır. Yaşla bağlantılı olan bu azalma çocukluktan ergenliğe geçişte melatonin sentezinde oldukça fazla bir artışa neden olur. Puberte döneminde meydana gelen melatonin düşüşünün mekanizması henüz tam olarak belirlenmemiştir. Sıçan pineal bezinde steroid reseptörlerinin ilk tanımlanmasından beri pek çok araştırmacı pineal bezin gonadal steroidlerle module edildiği desteklenmektedir. Estrojen melatonin sentezini module eder, peripubertal sıçanlarda olgunlaşan ovaryumlardan salınımı artan endojen estrojenin seviyesinin puberte döneminde düşen melatonin seviyesiyle ilişkisi olabilir. İnsanlarda estrojenin ovaryan üretimi yüksek olduğu preovulatuvar fazda nokturnal melatonin sentezinde hızlı bir düşüş ve menstrasyon esnasında ise hızlı bir yükseliş olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Estrojen ile melatonin arasındaki bu ilişki NAT aktivitesi tarafından düzenlenmektedir (35, 55, 56, 89).

Melatonin antioksidan özelliğe sahip bir hormondur. Hidroksil ve peroksil moleküllerini yakalayıcı bir etkisi vardır. Kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmesi nöral doku üzerinde özellikle subsellüler bölgede koruma sağlamasını kolaylaştırır. Kendi antioksidan özelliğine ek olarak diğer antioksidan enzimlerinde aktive edebilir (2, 17, 32, 43, 46, 49, 68). Melatoninin onkostatik özellikleri vardır. İnsanlarda büyüme hormonunun etkisini, sıçanlarda serum kortikosteroid seviyesini ve osteoblast metabolizmasının sirkadyen ritmini artırır (53). Melatonin kemik yapılımasını düzenleyen bir özelliğe sahiptir. İnsan kemik hücrelerinde hücre proliferasyonunu artırdığı gibi osteoblastik hücre aktivasyonunu, prokollajen tip I c-peptid üretimini de artırır. Aynı zamanda kemik siyaloproteini gen ekspresyonunun ve kemik hücrelerindeki diğer kemik proteinlerini örneğin; alkalin fosfataz, osteokalsin miktarının artmasına sebep olur. Pinealektomi uygulanan deneysel hayvan modeli çalışmalarına baktığımızda, pinealektomi sonrası bu hayvanlarda sıkolyoz gelişimi melatonin hormonunun kemik üzerindeki bu olumlu etkilerinin ortadan kalkmasına bağlıdır. Ayrıca insanlarda adolesan dönemde meydana gelen idiopatik skolyozun gelişme nedenlerinden biride bu insanlardaki melatonin eksikliğidir (40).

Melatoninin yukarıda saydığımız tüm bu olumlu etkilerinin yanında postmenopozal dönemde de olumlu etkileri bulunmaktadır. Menopoz dönemi kadınlarda yaşlanmayla ilgili bir süreçtir. Gonadotropinler ve seks steroidleriyle doğrudan bağlantılıdır. Melatoninin ruhsal bozukluklarda düzenleyici bir rolü bulunmaktadır. Menopoz dönemindeki kadınlarda melatoninin kullanılması estrojen eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan kemik özü hasarlarını önlediği gibi ruhsal bozukluklarda düzenleyici etkisi vardır. Araştırmalarda postmenopozal kadınlarda melatonin tedavisinin kontrendike olmadığı ileri sürülmektedir (11).

Nokturnal melatonin seviyesi yaşlanmayla birlikte azalır, pineal bezde kalsifikasyon artar. Kadınlarda bu azalma menopoz sürecinin başlamasını hızlandırmaktadır. Deneysel hayvan modellerinin yer aldığı araştırma sonuçlarında melatoninin kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde, paratiroid bezlerinin aktivitesinin uyarılmasında ve kalsitonin sentezinin inhibe edilmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Pineal bezin özellikle kalsiyum metabolizması üzerindeki etkileri yaşlanmayla birlikte azalan melatonin seviyesinin postmenopozal osteoporozun gelişmesinde önemli katkıları olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden perimenopoz döneminde plazma melatonin seviyesinin düşmesi postmenopozal osteoporozu yakalanma markarı gibi düşünülebilir. Perimenopoz dönemindeki ışık tedavileri, oral melatonin uygulaması veya melatonin sentez ve salınımını uyarıcı ajanların yardımıyla melatonin seviyesi belirli bir noktada tutularak postmenopozal osteoporoz profilaksisinde ve tedavisinde kullanılabilir (67).

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada toplam kırkbeş adet, beş aylık, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen Wistar-Albino cinsî dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar toplam 5 grup olarak aşağıda belirtildiği gibi planlandı:

Grup K [Kontrol grubu , n=5]: Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir cerrahi işlemin uygulanmamıştır.

Grup A [Overektomi grubu (ovx), n=10]: Cerrahi işlem olarak bilateral overektomi (ovx) uygulanan sıçanlardan oluşmaktadır.

Grup B [Ovx+tedavi grubu, n=10]: Bilateral ovx'ten sekiz hafta sonra dört hafta süre ile hergün 10 mg/kg/gün melatonin (mlt) tedavisi uygulanan sıçanlardan oluşmaktadır.

Grup C [Ovx+tedavi grubu, n=10]: Cerrahi işlemden sekiz hafta sonra dört hafta süre ile hergün 30 mg/kg/gün (mlt) enjeksiyonu yapılan sıçanlardan oluşmaktadır.

Grup S [Sham operasyon+tedavi grubu, n=10]: Cerrahi işlem olarak sham operasyonu uygulamasından sekiz hafta sonra dört hafta süre ile hergün 10 mg/kg/gün (mlt) tedavisi uygulanan sıçanlardan oluşan gruptur.

Kontrol grubunda beş adet diğer tüm gruplarda ise onar adet olacak şekilde hayvanlar yaşamları için uygun kafeslere yerleştirildi. Hayvanlar oda ısısında ve 12:12 saat karanlık ve aydınlık fazında tutuldu (20). Beslenmelerinde herhangi bir değişiklik yapılmayarak standart sıçan yemi ve çeşme suyu kullandı. Hayvanlar operasyondan bir hafta önce deney hayvanları üretme çifliğinden alınarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Anabilim Dalı laboratuvarında gruplara ayrılıp deneye alındı.

Cerrahi işlemler, intramüsküler olarak 10mg/kg xylazine (BAYER Birleşik Alman İlaç Fabrikaları TAŞ, İstanbul) ve 60 mg/kg ketamine hydrochloride (Parke-Davis İstanbul) kombine anestezisi uygulandı. Genel anestezisi altında bilateral overektomi yapıldı (6, 16, 20, 58). Overektomi işleminde önce batın 11

numara bisturi ile daha sonra da deri altı kas tabakaları künt uçlu pensler yardımı ile açıldı. Ovaryumların karın arka duvarına tutundukları bölgedeki ovaryal arter 4/0 chromic katgüt ile bağlanarak kanama önlendi. Aynı işlem tuba uterinallarda arteria uterinadan gelen dala uygulanarak kanama riski ortadan kaldırıldı ve ovaryumlar kesilerek çıkartıldı. Deri USP 2/0 ipek iplik ile dikildi ve hayvanlara 48 saat süreyle steril ortam sağlanarak postoperatif beklemeğe alındı (Şekil 2.1-Şekil 2.4).

Overektomi uygulanan otuz adet sıçan onarlı gruplar halinde; A grubu (ovx), B grubu (ovx+10 mg/kg/gün melatonin) (N-acetyl-5-methoxytrptamine M-5250 SİGMA chemical Co. St. Louis, USA) ve C grubu (ovx+30 mg/kg/gün mlt) olmak üzere üç adet gruba ayrıldı (54). On adet hayvan ise sham operasyon grubu olarak seçildi. Bu hayvanlar da genel anestezi altında 11 numara bisturi ile batin açıldı, deri altı kasları künt uçlu pensler yardımıyla ayrıldı ve ovaryumlar alınmadan batin kapatılarak 48 saat süreyle steril ortamda postoperatif beklemeğe alındı.

Operasyondan sonra sekiz hafta süreyle sıçanlarda osteoporoz gelişimi için beklendi. Sekiz haftalık süre sonunda hayvanlara genel anestezi uygulanarak kemik mineral dansite ölçümleri yapıldı. Kemik mineral dansite ölçümleri için Hologic QDR-4500A(S/N 45469) subregion Hi-Res V8.26h marka cihaz ve small animal programı kullanıldı. Anestezi altındaki sıçanlar sırt üstü yatırılarak uygun pozisyonun sağlanabilmesi için ekstremitelelerinden çekim masasına bağlandı. Çekim sol ekstremitte distal femur metafizi ve lumbal vertebralar olmak üzere iki ayrı bölgeden yüksek rezolüsyonda yapıldı. Vertebra için 19x23 boyutlarında, distal femur metafizi için ise 11x21 boyutlarında bir alan tespit edilerek bu bölgelerde kemik mineral yoğunluğu analizi yapıldı (Şekil 2.8) (45).

Kemik dansite çekimlerinden sonra sham grubuna (sham operasyon), overektomi uygulanmış B ve C grubuna dört hafta süreyle hergün saat 17.00-18.00 arası subkutan melatonin enjeksiyonu yapıldı. Dört haftalık tedavi süresinin sonunda genel anestezi altında kemik dansite çekimleri tekrarlandı (45). Çekim

işlemlerinin tamamlanmasından birkaç gün sonra hayvanlara genel anestezi altında aşağıdaki gibi intrakardiyak perfüzyon uygulandı.

- Perfüzyon işleminde deri, deri altı ve fasya kaldırıldı (Şekil 2.5).
- Processus xiphoideus bir pens yardımıyla belirlenip yukarı doğru itildi (Şekil 2.6).
- Thorax'a girilerek kalbe ulaşıldıktan sonra kalbin apeksinde sol ventrikül içerisine 20G branül ile girildi ve %10'luk formaldehit fiksatifinin dolaşım sistemine 1cc./1sn./gr olarak verilmesi sağlandı (Şekil 2.7). ~30 dakikalık bir süreçte perfüzyon işlemi tamamlanınca lumbal vertebralari, kuyruk vertebralari ve femurlar diseke edilerek, histolojik, morfometrik ve biyokimyasal incelemeler için üç ayrı yöntem uygulandı.

I.Yöntem: Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanların sol femurları ve L4, L5 lumbal vertebralari ışığı geçirmeyen bir şişede 3gr AgNO₃ 97ml musluk suyu içerisinde çözülerek hazırlanan %3'lük AgNO₃ çözeltisine alındı. Alınan örnekler Gomori'nin gümüşleme yöntemi sırasında kullandığı basamakların değişikliğe uğratılmış şekli kullanılarak (7), mineralize doku ve osteoid dokusunun birbirinden ayrılması sağlandı. Bu yöntemle göre örnekler,

- 24 saat %3'lük AgNO₃ içerisinde bekletildi.
- 1x3 kez distile suda yıkandı
- 2-3 saat akarsuda bekletildi.
- %10'luk formaldehitte 20 saat tutuldu
- 1 saat akarsuda yıkandı
- %5'lik sodyum tiyosülfatta 4 saat bekletildi
- 2-3 saat akarsuda yıkandı
- %10 formik asit içine alındı.

Parçaların tutulduğu gümüş nitrat çözeltisindeki gümüş kemikteki kalsiyum ile yer değiştirerek gümüş karbonat ve gümüş fosfat oluşturmakta, formaldehit ile yapılan indirgeme ve sodyum tiyosülfat ile yapılan fiksasyon işleminden sonra mineralize kemikte kalsiyumun yerini alan gümüş dokuyu siyah

boyamaktadır. Dokuda dıştan içeriye doğru meydana gelen bu boyanma işlemi dokunun gümüş nitratta kalma süresine göre değişmektedir. Daha sonra dekalsifiye edilerek dokuda kalan kalsiyum uzaklaştırılmakta ve Hematoksilen-Eozin ile boyandığında osteoid pembe renk alarak siyah mineralize kemik dokusundan ayırtelebilmektedir. Dekalsifikasyon için hazırlanan formik asit solüsyonu ilk konduğu günden sonra her üç günde bir değıştirdi. Parçalar formik asit içerisinde 7 günde dekalsifiye olduktan sonra asitten çıkarılan parçalar %10'luk formaldehite konuldu.

II Yöntem: L4, L5 lumbal vertebralar ile sol ekstremitte femuru distal bölgesi %10'luk formaldehite konarak 24 saat fiksatif içerisinde oda ısısında bekletildi (3, 25). Fiksasyon işleminden sonra parçalar %10'lik formik asit içerisinde alındı ve dekalsifikasyon için gereken süreç başlamış oldu. Dekalsifikasyon 7 günde tamamlandıktan sonra örnekler I. gruptaki örneklerle birlikte ışık mikroskobu takibine alındı. Hazırlanan parafin bloklardan Leica MR 2145 marka mikrotom ile 3 mikron kalınlığında transvers kesitler alındı. Kemikteki bağ dokusunun düzenlenmesinin incelenmesi amacıyla Masson's Trichrom, morfometrik analizler için Hematoksilen-Eozin ve osteoid hacmi ölçümleri için ise AgNO₃ ile boyanan preparatlar kullanıldı (3, 7, 25, 92).

IŞIK MİKROSKOBU TAKİBİNDE KULLANILAN FİKSATİFLER, TAMPONLAR VE BOYALARIN HAZIRLANMASI

Formaldehit fiksatif

%10'luk formaldehit fiksatifinin hazırlanışı:

%40'lık formaldehit	100 cm ³
Distile su	900 cm ³

Dekalsifikasyon solüsyonu

%90 formik asit	5-10 cm ³
Formalin	5 cm ³
Distile su	100 cm ³

Işık mikroskobu takip yöntemi

1. Parçalar 24-48 saat formalinde bekletildi
2. 24-48 saat akarsuda yıkandı
3. %80 alkol 2 saat
4. %95 alkol I 3 saat
5. %95 alkol II 15 saat
6. %100 alkol I 2 saat
7. %100 alkol II 2 saat
8. %100 alkol III 2 saat

Alkolden çıkarılan parçalar oda ısısında açık havada iyice kurutuldu.

9.xylol I 10-30 dakika

10.xylol II 10-30 dakika

11.xylol III 10-30 dakika bekletilerek parçalar şeffaflaştırıldı.

12. Parçalar 37°C'lik etüvde erimiş parafin içerisine alınarak 1 gece bekletildi

Ertesi gün etüvden çıkarılan parçalar femurlar kaput kısımları aşağı gelecek şekilde yan, median hattan boyuna kesilmiş vertebralar ise kesit yüzeyi yatay düzleme gelecek şekilde özel bloklama kapları içerisine parafine gömüldü ve parafin bloklar elde edildi.

Hematoksilen-Eosin Boyasının Hazırlanması ve Boyama Tekniği:**Solüsyonlar:****Hematoksilen solüsyonu:**

Hematoksilen, kristal	5 gr
%95 alkol	50 cc
Amonyum	100 gr
Distile su	1000 cc
Mercuric oxide	2.5 gr

Asid Alkol:

%70 alkol	1000 cc
HCl	10 cc

Amonyaklı Su:

Distile su	1000 cc
Amonyak	1-2 cc

Eosin Solüsyonu:

Eosin Y, %3 sudaki solüsyonu	100 cc
%95 alkol	125 cc
Distile su	375 cc

Hematoksilen-Eosin Boyama Tekniği:

- 1.Xylol I 10 dk.
- 2.Xylol II 10 dk.
- 3.Xylol III 10 dk.
- 4.Preparatlar dışarıda kurutulduktan sonra alkole geçirildi.
- 5.%100 Alkol I 2 dk.
- 6.%100 Alkol II 2 dk.
- 7.%95 Alkol 2 dk.
- 8.%80 Alkol 2 dk. (veya daha uzun süre)
- 9.Distile su 5 dk. (preparatlar iyice süzüldü)
- 10.Hematoksilen 2,5 dk. (boya her kullanışta süzüldü)
- 11.Akar su 5 dk.
- 12.Acid alkol Pembe renk olana kadar
- 13.Akar suda daldır çıkar

14.Amonyaklı su	mor renk olana kadar
15.Akar su	daldır çıkar
16.Distile su	5 dk. (preparatlar kurulandı)
17.Eozin	2,5 dk.
18.%95 Alkol	2,5 dk.
19.%100 Alkol I	2,5 dk.
20.%100 Alkol II	2 dk.
21.Dışarıda kurutma	
22.Xylol I	10 dk.
23.Xylol II	10 dk.
24.Xylol III	10 dk.

Sonunda oda ısısında kurutulan preparatların üzerine bir damla entellan damlatılarak kapatıldı ve 37°C' de en az on gün kuruması için bekletildi.

Masson Trichrom Boyasının Hazırlanması ve Boyama Tekniği:

Solüsyonlar:

Bouin Solüsyonu:

Pikrik asit	75 cc
Formalin	24 cc
Glacial asetik asit	5 cc

Solüsyon A:

Hematoksilen	1 gr.
%95 Alkol	100 cc

Solüsyon B:

%29 Aqueous Ferric chloride	4 cc
Distile su	95 cc
Konsantre HCl	1 cc
Chromotrop 2R	0,6 gr.
Fast Green FCF	0,3 gr
Fosfotungustik asid	0,6 gr
Distile su	100 cc
Glacial asetik asit	1 ml

Bu boya buzdulabında saklandı.

Çalışma solüsyonu A ve B solüsyonlarının 1:1 oranında karıştırılmasından oluşur

Masson Trichrom Boyama Tekniği:

- 1.Xylol
- 2.Absolü etil alkol
- 3.%95 etil alkol alkol
- 4.Suda çalkalandı
- 5.56°C derecelik etüvde Bouin solüsyonunda 1 saat tutuldu.
- 6.Akar suda güzelce yıkandı
- 7.Solüsyon A ve B karışımı 3-5 dk tutuldu.

Bu karışımda bulunan demirli hematoksilen ile nukleuslar boyandı.

8.Preparatlar boyanın fazlası akana kadar çeşma suyunda yıkandı.

9.Choromotrop 2R

10. Fast Green FCF

11. Fosfotungustik asid

12. Distile su

13. Glacial asetik asit

Bu karışımından hazırlanan boyada preparatlar 20 dakika tutularak nukleuslar dışında diğer doku elemanlar boyandı.

14. Preparatlar distile suda iyice yıkandı

15. Açık havada kurutuldu.

16. Xylol I

17. Xylol II

Üzerlerine entellan damlatılarak kapatılan preparatlar 37°C etüvde on gün kurumaya bırakıldı.

MORFOMETRİK ANALİZLER:

Morfometrik analizlerde çalışmaya alınan tüm deneklerin L4 ve L5 lumbal vertebralarından ve sol arka ekstremitte distal femur metafizinden hazırlanan parafin bloklardan birer kesit alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanarak Olympus marka mikroskop kullanılarak x10'luk objektif büyütmesi ile bilgisayar ortamında, kaydedilen görüntüler üzerinde yarı otomatik digiter sisitem UTHSCSA Image Tool for Windows Version 1.28 ile korteks kalınlığı, trabekül

sayısı, trabekül kalınlığı, trabekül alanı ölçümleri yapılırken yine aynı mikroskopta x40'lık objektif büyütmesi ile gümüşleme tekniği uygulanmış preparatlardan alınan görüntülerden de osteoid hacmi, osteoblast ve osteoklast sayımı yapıldı (20). Morfometrik analizlerde trabeküler ölçümler için standardımız femur preparatlarında epifiz plağının 0,46 mm distal kısmından ve korteksin her iki kenarından eşit uzaklıktaki bölgelerde, vertebrada ise üst ve alt epifizeal plaktan aynı uzaklıkta anterior ve posterior kortekste, osteoid hacim ölçümleri ise epifiz plağı bölgesinde yapıldı (20, 27). Program yardımıyla uzunluklar pixel olarak hesaplandı (1 pixel=128.10⁻⁸ mm). Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri yapıldı.

Morfometrik ölçümler:

Trabeküler kalınlık (μm): Trabekül kalınlığı ölçüm yapılan alandaki trabeküllerin kalınlığı olarak tanımlandı. Trabeküler kalınlık ölçümlerinde her trabekül için minimum elli farklı noktadan ölçüm yapıldı ve sonuçta ortalama sabitleninceye kadar ölçümlere devam edilerek verilerin ortalaması alındı (17, 27, 36, 59).

Trabekül sayısı: Epifiz plağının 0,46 mm distalinden ve korteksin her iki tarafından eşit uzaklıktaki bir alanda bulunan tüm trabeküller ve birbirlerine paralel olan her trabekül ayrı ayrı sayılarak ölçüm alanındaki trabekül sayısı bulundu (17, 27, 36, 59).

Trabekül alanı (mm^2): Analiz programı yardımıyla trabekül sayısını hesapladığımız bölgede ki trabeküllerin sınırları belirlenerek alanları hesaplandı (17, 27, 36, 59).

Korteks kalınlığı (μm): Sıçanların femur diyafizlerinden hazırlanan 3 mikronluk kesitlerden bilgisayar ortamında alınan görüntülerde her bir preparattan elli ayrı ölçüm yapılarak ortalaması alınıp tüm grupların korteks kalınlıkları hesaplandı (27, 36, 59).

Osteoid hacmi: Osteoid hacmi trabeküllerde mineralize olmamış kemik dokusu alanının tüm trabekül alanına oranıyla hesaplandı. Bu ölçümler için olympus

mikroskop ile x40'luk objektif büyütmesinde epifiz plağı bölgesinden gümüşleme yöntemiyle boyanan preparatlardan alınan görüntüler kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm hayvanlar erişkin olduğu için femur metafizinde osteoid oluşumu görülemediğinden ölçülemedi. Epifiz plağının hemen altındaki bölgede osteoid oluşumları halen devam ettiği için bu bölgede ölçümler yapıldı ve osteoid hacmini aşağıda yazan formüle göre hesapladı (27, 36,59):

$$\% \text{ Osteoid hacmi} = \frac{\text{Mineralize olmamış trabeküler kemik dokusu}}{\text{Trabeküler kemik dokusu}}$$

Osteoblast ve osteoklast sayımı: Gümüşleme tekniğiyle boyanan preparatlardan x40'luk objektif büyütmesiyle bilgisayar ortamında alınan görüntüler üzerinde görüntü analiz programı yardımıyla trabeküler yapılar etrafında osteoblast ve osteoklast sayımı yapıldı (27, 36,59).

III Yöntem: Hidroksiprolin analizi için sıçanların sağ femur ve kuyruk vertebraları kuru cam tüplere alınarak -80°C'de dondurulup aşağıdaki hidroksiprolin tayini için bekletildi (9):

1. Hidroksiprolin analizi için parçalar derin dondurucudan çıkarılarak hassas terazide tartıldı.
2. Teflon vidalı kapaklı pyrex tüpler içine 4 ml 7 N HCl ve örnekler kondu.
3. Etüvde 105° C'de 6 saat hidroliz edildi.
4. Hidroliz işlemi sonucu oluşan çözülden ependorf tüpler içerisine 1 ml kondu
5. 0° C'de 12500 RPM'de 15 dakika Hettich Universal 16R marka santrifüj kullanılarak santrifüj edildi.
6. Örneklerden 0,5 ml alınıp tüplere aktarıldı.
7. Örnekler için nötralize hidrolizat hazırlandı. 0,5 ml hidrolizat üzerine 2 ml LiOH %4,8'lik ve 100 µl 7 N HCL konuldu.

Çözelti hazırlığı:

Standart çözelti: 1,2 mg/lt hidroksiprolin

Oksidan madde :

%7 (w/v) Chloramin-T (günlük olarak hazırlandı)

14,25 gr sodyum asetat (3H₂O)

9,375 gr trisodyum sitrat ($2H_2O$)

1,375 gr sitrik asit

96,25 mlt isopropil alkol

Bu çözelti karışımı 250 ml' ye distile suyla tamamlandı. Çözeltiden 240 ml alınıp 60 ml Chloramin-T (1 hacim Chloramin -T) ile karıştırılarak (4 hacim oksidan madde) 300 ml oksidan çözelti hazırlandı. Taze olarak 2 saat içerisinde tüketildi.

Ehrlich hazırlanması:

110 ml de 17,9 gr paradimetilaminobenzaldehit

44 ml % 60'lık perklorik asit ($HClO_4$)

64 ml isopropil alkol

9.Çalışma düzeneği:

Örnekler 1/51 dilüsyonda çalışıldı.(Tablo 2.I.)

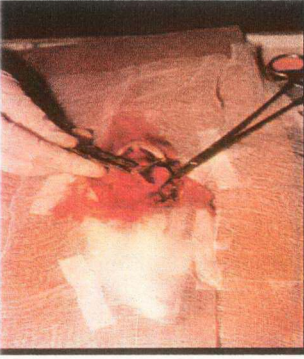
Oksidan maddeyi deney tüplerinin üzerine ekledikten sonra deney tüpleri 4 (± 1)dakika oda ısısında bekletilir daha sonra üstlerine ehrlich eklendi. En son oksidan maddede analiz körlerine eklendikten sonra $60^\circ C$ ' de 20 dakika ben-mari'de bekletildi. 20 dakika soğumada bekletilen örnekler 562 nm dalga boyunda UV-1208 Shimadzu marka spektrofotometrede reaktif körüne karşı okundu.

İSTATİSTİKSEL ANALİZLER:

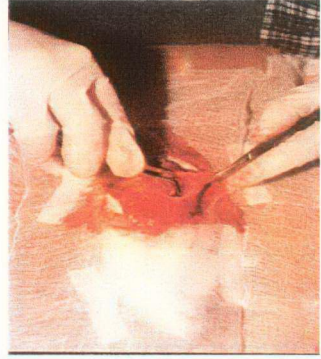
Çalışmaya dahil edilen gruplarda sıçan sayısı her grupta $n=10$ ve kontrol grubu $n=5$ olduğu için değerler nonparametrik kabul edildi. Grupların ortalamaları hesaplanarak medianlarına göre gruplar arası farkları tespit etmek amacıyla Kruskal-Wallis Test uygulandı. İkili gruplar arası karşılaştırmalar için de Mann-Whitney Testi uygulanarak gruplar arası sayısal farkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakıldı. Benferroni düzeltmesi uygulanan sonuçların box-plott tekniğiyle grafikleri çizildi. $p<0,003$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

	ANALİZ	ANALİZ KÖR	STANDART	REAKTİF KÖR
NÖTRALİZE HİDROLİZAT	250µL	250µL	250µL	250µL
STANDART (1,2 mg/l)			250µL	
İSOPROPİL ALKOL	500µL	500µL	500µL	500µL
DİSTİLE SU				250µL
OKSİDAN MADDE	250µL		250µL	250µL
EHRİCH	500µL	500µL	500µL	500µL
OKSİDAN MADDE		250µL		

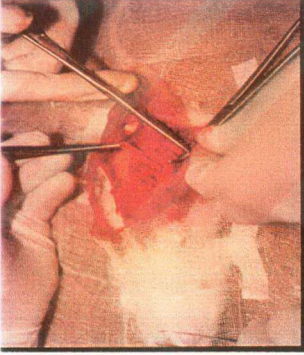
Tablo 2.I. Hidroksiprolin analizi çalışma şeması.



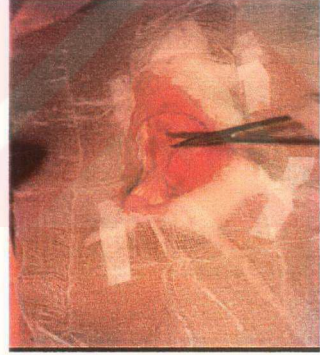
Şekil 2.1. Bilateral overektomide batının açılması.



Şekil 2.2. Bilateral overektomi işleminde batın açılıp ovaryumların bulunması.



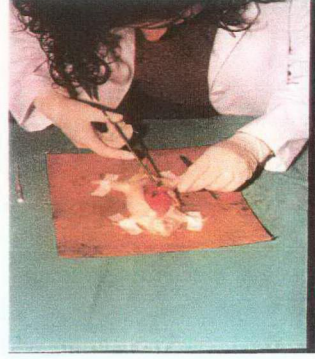
Şekil 2.3. Ovaryumların dışarı çıkarılıp proksimal ve distalinden bağlanması.



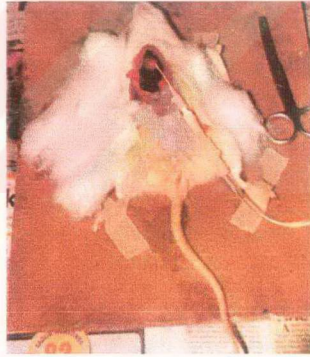
Şekil 2.4. Batının kapatılması.



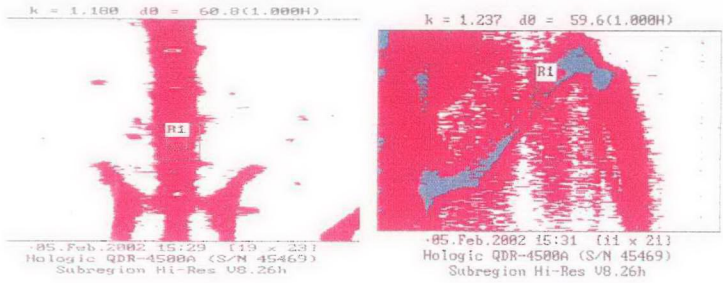
Şekil 2.5. Perfüzyon işleminde deri, deri altı ve fasia kaldırıldı.



Şekil 2.6. Processus xiphoideus bir pens yardımıyla belirlenip yukarı doğru itildi.



Şekil 2.7. Kalbin apeksinde sol ventrikül içerisine branül ile girilip %10'luk formaldehit fiksatifli verildi.



Şekil 2.8. Kemik mineral dansite ölçümlerinde analiz için kullanılan alanlar (R1)

BÖLÜM III

BULGULAR

Cerrahi girişimden bir hafta önce hayvan üretime çiftliğinden alınarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi AnaBilim Dalı laboratuvarında gruplara ayrılarak bakıma alınan hayvanlarda sakin ve uyumlu davranışlar gözlemlendi. Ovaryektomiye takip eden birinci haftadan sonra tedavinin başlangıcına kadar olan sekiz haftalık süre içerisinde hayvanlar birbirlerine karşı ilerleyen zamanla artan saldırgan tutumlar sergilemeye başladılar. Bu dönem içerisinde B (ovx+10mg/kg/gün mlt) grubunun bulunduğu kafesten üç hayvanı, C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubunun bulunduğu kafesten de iki hayvanı vücutlarına aldıkları ağır yaralardan dolayı çalışma dışı bırakıldı. Çalışmadan çıkarılan bu beş denek hayvanı sonradan enfeksiyon ve kan kaybı sebebiyle öldüler. Sham (sham operasyonu+10mg/kg/gün mlt) grubunu oluşturan on hayvanda ise davranışsal olarak hiçbir değişiklik gözlemlenmedi. Ancak bu gruptan da bir hayvan cerrahi işlem sonrası dönemini sağlıklı olarak atlattığı için, tedavi döneminde ise iki hayvan enfeksiyon nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubundaki hayvanların tedavinin ilk haftasında birbirlerine ve enjeksiyon sırasındaki saldırgan davranışları devam etti. İkinci haftadan itibaren ise değişmeye ve sakinleşmeye başladılar. Bu davranış değişiklikleri 30mg/kg/gün dozunda melatonin (C) uygulanan sıçanlarda 10mg/kg/gün tedavi (B) uygulanarlara göre çok daha belirgindi. S grubundaki (sham operasyonu+10mg/kg/gün mlt) sıçanların davranışlarında ise çalışmanın başladığı günden beri hiçbir değişiklik gözlemlenmedi. Bu hayvanlardaki olumlu düzelmelere zıt olarak melatonin tedavisi alınmayan A (ovx) grubundaki postmenopozal sıçanlar da saldırganlık, birbirlerini yaralama olaylarının çalışma sonuna kadar devam ettiği gözlemlendi.

3.1. Morfometrik Analiz Bulguları:

3.1.1. Trabekül Sayısı:

Morfometrik analiz sonuçlarına baktığımızda birim alana düşen trabekül sayısında vertebrada, ovariectomi yapılan postmenopozal dönemde olan A grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit ettik ($p < 0,003$). Melatonin tedavisi alan B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubunda meydana gelen artma kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0,003$). Bunun yanında A (ovx) grubuyla melatonin tedavisi alan B (ovx+10mg/kg/gün mlt), C (ovx+30mg/kg/gün mlt) ve sham (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubunu karşılaştırdığımızda ise tedavi gören bu üç grupta trabekül sayılarında meydana gelen artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0,003$). Sham grubunda (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt), kontrol grubuna kıyasla meydana gelen artış ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,003$). (Şekil 3.2) (Şekil 3.25-3.29). Femurda kontrol grubu ile A (ovx) grubu arasında vertebradakine benzer bir düşüş tespit edildi. Kontrol grubuyla melatonin tedavisi alan grupları karşılaştırdığımızda ise B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve S (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubunda meydana gelen artma istatistiksel olarak anlamsızken ($p > 0,003$), C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubundaki artma anlamlı bulundu ($p < 0,003$). Ovariectomi (A) grubuyla melatonin enjeksiyonu yaptığımız B (ovx+10mg/kg/gün mlt), C (ovx+30mg/kg/gün mlt) ve S (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) gruplarını karşılaştırdığımızda ise bu gruplarda meydana gelen artışın istatistiksel olarak anlamsız olduğu görüldü ($p > 0,003$). (Şekil 3.1.) (Şekil 3.20-3.24).

3.1.2. Korteks Kalınlıkları:

Korteks kalınlıkları ölçüm sonuçlarına bakacak olursak sıçanlarda ovariectomi uygulanan tüm gruplarda korteks kalınlıklarında çok hızlı bir düşüş tespit edildi. Melatonin tedavisi alan B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubunda osteoporoz grubuna (A) kıyasla korteks kalınlıklarında belirgin düzeyde bir iyileşme saptandı ($p < 0,003$). Sham (sham

operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubunda uygulanan tedavi sonucunda korteks kalınlıklarının kontrol grubuna kıyasla azaldığı tespit edildi ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bir azalma değildi ($p>0,003$). (Şekil 3.3) (Şekil 3.30-3.34).

3.1.3. Trabekül Alanları:

Birim alana düşen trabekül alanlarını karşılaştırdığımızda, vertebrada postmenopozal dönemde (A grubunda) estrojen eksikliğine bağlı olarak meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,003$). B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubunda melatonin tedavisine bağlı olarak trabekül alanlarında anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,003$). Sham (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubunda ise tedavi sonrası trabekül alanlarında kontrol grubuna kıyasla meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,003$). (Şekil 3.5). Vertebra preparatlarından yaptığımız ölçümlerde osteoporoz (A) grubundaki trabekül alan azalması aynı şekilde femur preparatlarında da karşımıza çıktı. Femurda B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+30mg/kg/gün mlt) gruplarında trabekül alanlarında benzer artışlar görüldü ($p<0,003$). Sham (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubunda ise bir artma tespit edildi fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,003$). (Şekil.3.4.) (Şekil 3.20-3.29).

3.1.4. Trabekül Kalınlıkları:

Vertebra ve femur preparatlarında yaptığımız trabekül kalınlıkları ölçümlerinde postmenopozal sıçanlarda (A grubu) sağlıklı sıçanlara kıyasla belirgin bir azalma tespit edildi. B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+30mg/kg/gün mlt) grubunda tedavi sonrası meydana gelen trabekül kalınlık artışları vertebrada A (ovx) grubuyla kıyaslandığında belirgin olarak görüldü. Sham (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubuna baktığımızda ise melatonin tedavisinin sonucunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamsız bir azalma olduğu bulundu ($p>0,003$). (Şekil 3.7). Femur da ise B (ovx+10mg/kg/gün mlt) ve C (ovx+10mg/kg/gün mlt) grubunda osteoporoz (A) grubuna göre meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,003$). Sham (sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) grubunda kontrol grubuna göre oluşan azalma istatistiksel olarak anlamsızdı (Şekil 3.6). (Şekil 3.20– 3.29).

3.1.5. Osteoid Hacmi:

Vertebrada yapılan osteoid hacmi ölçümlerinin sonuçlarını gruplar arasında karşılaştırsak postmenopozal dönemde (A grubu) estrogen eksikliğinin osteoid hacmini azalttığını görmekteyiz (Şekil 3.40-3.44). Bunun yanı sıra melatonin tedavisinin sonucunda tedavi alan (B ve C) gruplarda meydana gelen artış ve Sham (sham operasyon+10mg/kg/gün ml) grubunda tespit ettiğimiz düşüşün istatistiksel olarak anlamsız olduğu bulundu (Şekil. 3.9). Femurdaki osteoid hacmi sonuçlarında ise gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0,003$). (Şekil 3.8) (Şekil 3.35-3.39).

3.1.6. Osteoblast ve Osteoklast Sayıları:

Çalışmadaki grupların osteoblast ve osteoklast sayılarını karşılaştırdığımızda vertebra ve femurda overektomi (A grubu) sonrası osteoblast sayılarının azaldığı görüldü. Tedavi uygulanan B (ovx+10mg/kg/gün ml) grubunda bu düşüşün devam ettiği, C (ovx+30mg/kg/gün ml) grubunda ise sonucun kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi (Şekil. 3.12, Şekil 3.10). Osteoklast sayılarına baktığımızda femurda gruplar arası fark görülmedi, vertebrada overektomi (A) grubundaki ve tedavi uygulanan B (ovx+10mg/kg/gün ml) grubundaki hafif düşmeye rağmen diğer gruplarla kontrol grubu arasında bir fark bulunmadı (Şekil 3.13, Şekil 3.11). Osteoblast ve osteoklast sayıları arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0,003$).

Ayrıca tüm bu incelenen gruplarda yapılan morfolometrik analizlere ilaveten histolojik olarak bağ dokusu boyası masson trichrom ile boyanan gruplar arasında kollajen yapısını karşılaştırdık. Osteoporoz (A grubu) grubunda kontrol grubuna göre yeşil boyanan kollajen liflerin oluşturduğu sahaların azaldığını, melatonin tedavisi alan gruplarda ise yeşil boyanan kollajen liflerin daha fazla olduğu görüldü (Şekil 3.45-3.49). Çalışmada yapılan tüm morfolometrik ölçüm sonuçları Tablo 3.1.'de yer almaktadır.

3.2. Hidroksişprolin Analiz Bulguları:

Sağ femur proksimal bölgesi ve kuyruk vertebraları dokularında yaptığımız hidroksişprolin analiz sonuçlarında; femurda kontrol grubuna göre ovariectomy (A) grubunda bir azalma, B (ovx+10mg/kg/gün) ve C (ovx+30mg/kg/gün) gruplarında bir artma, sham (sham operasyon+10mg/kg/gün) grubunda ise kontrol grubuna göre bir azalma görüldü (Şekil 3.14). Vertebrada yapılan analiz sonuçlarına baktığımızda ise, kontrol grubuna göre ovariectomy (A) grubu, tedavi grupları olan B (ovx+10mg/kg/gün) ve C (ovx+30mg/kg/gün) grupları ve sham (sham operasyon+10mg/kg/gün) grubu arasında fark gösterilemedi (Şekil 3.15). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda Lem femur hem de vertebrada hidroksişprolin analizleri sonucunda anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.003$).

3.3. Kemik Mineral Densite Ölçümü Bulguları:

Kemik mineral densite ölçümlerinde ovariectomynin vertebra ve femurda tedavi öncesi dönemde kemik mineral densitesini azalttığı tespit edildi (Şekil 3.18, Şekil 3.16). Dört haftalık tedavi sonunda tekrarlanan densite ölçümleri melatonin tedavisinin kemik mineral densitesi üzerinde etkili olmadığını gösterdi (Şekil 3.17, Şekil 3.19).

BÖLÜM IV

TARTIŞMA VE SONUÇ

Menopoz döneminde azalan estrogen seviyesi ile birlikte, görülen düzensiz kanamalar, kalp ve damar sistemi hastalıklarının görülme riskinin artması, kemik yitiminin hızlanması, ürogenital atrofi, osteoporoz gibi sağlık problemleri bu dönemdeki kadınlar için hem psikolojik hemde sosyal yönlerden olumsuz etkiler ortaya çıkarmaktadır. Kadın nüfusunun fazla olması, kadınların yaşam sürelerinin uzunca bir bölümünü bu dönemde geçirmeleri menopozun araştırılması, bu dönemdeki risk faktörlerinin azaltılması ve koruyucu hekimliğin geliştirilmesi oldukça önem kazanmaktadır (1, 4, 5, 6, 15, 31, 33, 64).

Estrojen eksikliği kemik kütlesinde hızlı bir düşüşe, kemik yapısında bozulmaya ve kırılabilirliğin artmasına sebep olur. Trabeküler kemik kaybı, trabeküler mimaride bozulmalar, kortikal resorpsiyon estrogen eksikliğinde hızla ilerler. Osteoporozun ilerlemesiyle kortikal deliklenme artar, kemik dayanıklılığını kaybeder ve kırık riskinde artış meydana gelir (40).

DeneySEL ve klinik çalışmalar da melatonin hormonunun kemik metabolizmasında rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (53, 66). Nokturnal melatonin seviyesinin yaşlanmayla birlikte azalması, kadınlarda menopoz sürecinin başlamasını hızlandırmaktadır (67). DeneySEL hayvan modellerinin yer aldığı araştırma sonuçlarında melatoninin kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde, paratiroid bezlerinin aktivitesinin uyarılmasında ve kalsitonin sentezinin inhibe edilmesinde rol oynadığı gösterilmektedir. Kalsiyum metabolizması üzerindeki etkilerine bakıldığında yaşlanmayla birlikte azalan melatonin seviyesinin postmenopozal osteoporoz gelişmesinde önemli katkıları olduğunu görmekteyiz. Bu sebepten dolayı perimenopozal dönemde plazma melatonin seviyesinin düşmesi postmenopozal osteoporoz riskini arttırabilir. Perimenopozal dönemdeki ışık tedavileri, oral melatonin uygulaması veya melatonin sentez ve salınımını uyaran ajanların yardımıyla melatonin seviyesi belirli bir noktada tutularak postmenopozal osteoporoz profilaksisinde ve tedavisinde kullanılabilir (67). Bu bilgilere ilaveten melatonin tedavisinin

sirkadyen ritmin, uykusuzluğun ve hipotermiinin düzenlenmesinde de rol oynadığı bildirilmektedir (11).

Araştırmamızda kullandığımız sıçanlarda overektomiye takiben görülen sınırlı davranışlar ve bu davranışların melatonin tedavisi sonucunda kaybolması estrogen ve melatonin arasındaki bağlantıyı desteklemektedir. Blaicher ve arkadaşlarına göre melatonin hormonunun ruhsal bozukluklar üzerinde pozitif etkileri bulunmaktadır (11). Postmenopozal dönemde estrogen ve melatonin arasındaki bağlantıyı hormonal düzeyde açıklarsak; estrogen reseptörleri tüm vucutta yaygın olarak bulunmaktadır. Estrogenin nöronlardaki estrogen reseptörleriyle etkileşmesi kadınlarda davranış değişikliklerine yol açabilir. Bu etki mekanizması ile norepinefrin, dopamin, asetilkolin gibi nörotransmitterlerin, serotonin ve melatonin gibi hormonların yapısını, salgılanmasını ve metabolizmasını etkiler. Estrogen serotoninin öncü maddesi olan triptofanın plazma seviyesini artırır. Menopozda estrogen seviyesinin düşmesiyle birlikte triptofanın plazma seviyesinin azalması, serotonin dolayısıyla da melatonin sentezi azaltılmaktadır. Bu azalma sonucunda ise kadınlarda davranış bozuklukları, meydana gelmektedir (4). Sandyk ve arkadaşlarının yaptıkları araştırma sonuçlarına göre erken menopoz döneminde plazma melatonin seviyesinin düşmesi, hem postmenopozal osteoporozla yatınlığın bir göstergesidir hemde bu dönem de görülen depresyonun sebeplerindendir (67). Bu veriler sıçanlarda gözlemlediğimiz davranış bozukluklarının melatonin tedavisi sonrasında ortadan kaybolmasını desteklemektedir.

Morfometrik analizler sonucunda, overektomi uygulanan grupta trabekül sayılarında, korteks kalınlıklarında, trabekül kalınlıklarında ve osteoid hacminde hızlı ve belirgin bir azalma tespit ettik. Sandyk ve arkadaşlarına göre menopoz döneminde estrojene bağılı olarak melatonin seviyesinin düşmesi başlangıçta plazma kalsiyum seviyesinin düşmesine sebep olur. Kalsiyumun plazma seviyesinin düşmesiyle birlikte paratiroid hormonun plazma seviyesi hızla artar ve kan kalsiyum seviyesi yükselir. Bu olay postmenopozal osteoporozun hızlanmasına öncülük etmektedir. Bununla beraber postmenopozal dönemde ovarial hormonların eksikliği postmenopozal osteoporosis için birincil risk

faktörüdür. Bu dönemde meydana gelen estrogen düşüşü kemik yapısında önemli değişiklikler meydana getirir. Kemik yıkımında meydana gelen artışı takiben trabeküler ve kortikal kemik kayıpları, kemik iç mimarisinde yıkılma ve kırık riskinde artış görülür. Bu olay başlangıçta endokortikal resorpsiyondur. Kemik iliği hacminde artış ve kortikal genişlikte azalmaya öncülük eder. Bu dönemde görülen kemik kayıpları iskeletin bol miktarda trabeküler kemik içeren kısımlarında ve ağırlık taşıyan bölgelerinde daha fazladır. Bu nedenle vertebra ve el bilekleri erken dönemde sıklıkla tutulurken femur boynu daha geç dönemde tutulur (26, 33, 38, 42, 85). Aguado ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada menopozdan sonra görülen kortikal kemik kaybının aynı dönemdeki osteoporozlu kadınlarda sağlıklı kadınlara göre iki kat daha hızlı meydana geldiği gösterilmektedir (1). Tzaphlidou ve arkadaşları overektomi sonrası kortikal ve trabeküler kemikte benzer şekillerde bozulmalar olduğunu belirtmektedirler (83). Bu dönemde meydana gelen kemik kaybı, kemik turnoverında hızlanmaya yol açar. Estrojen eksikliğine ve yaşa bağlı olarak trabekül kalınlıkları azalır, osteoklast sayısı artar ve trabeküler yapıda kopmalar başlar (24, 33, 45, 85). Tüm bu veriler bizim osteoporoz grubunda elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir.

Çalışmamızda melatonin tedavisi uyguladığımız B ve C grubunda trabekül sayıları, trabekül kalınlıkları, trabekül alanları ve korteks kalınlıklarında overektomi (A) grubuna göre belirgin artışlar tespit ettik. Bu iki grubun osteoid hacmine baktığımızda ise A (ovx) grubuna kıyasla bir artış görüldü. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamsızdı. Roth ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada melatoninin osteoporoz üzerinde egzersizle artan bir etkisi olduğu, günlük 5-10 mg/kg/gün melatonin enjeksiyonunun overektomize sıçanlarda kemik volümünü arttırdığı ileri sürülmektedir (66). Melatonin insanlarda büyüme hormonu salınımını artırır. Sıçanlarda osteoblast metabolizmasının sirkadyen ritmini ve serum kortikosteroid seviyesini kontrol eder. Bu bulgular melatoninin kemik ve mineral metabolizmasını etkilediğini desteklemektedir. Nakade ve arkadaşları melatoninin in vitro ortamdaki osteogenik etkilerinin potansiyel osteoporoz ve kırık riskini azaltıcı bir ajan olabilmesini sağladığını ileri sürmektedirler (53). Ladizesky çalışmasında melatoninin kemik yeniden yapılanmasını düzenlediğini, normal insan kemik hücrelerinde proliferasyonu, osteoblastik hücreleri ve

prokollajen tip I-c-peptid üretimini arttırdığını bildirmektedir. Sıçanlarda pinealektomi sonrası skolyoz gelişimi melatoninin bu etkilerini desteklemektedir (40).

Sham (Sham operasyon+10mg/kg/gün ml) grubunda trabekül sayılarında ve femur trabekül alanlarında artış, vertebra trabekül alanlarında, trabekül kalınlıklarında ve korieks kalınlıklarında kontrol grubuna göre azalma görülmüştür. Osteoid hacmi. hem vertebra hemde femurda kontrol grubuna göre azalma göstermektedir. Ancak. bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Vakkuri çalışmasında melatonin hormonunun anti-estrogenik olduğunu bu yüzden estrogen seviyesini azalttığını fakat progesteron üretiminin uyarıcısı olduğunu belirtmektedir (86). Neonatal periyotta pineal bezi çıkarılan sıçanlarda gonadal olgunlaşma hızlı olmaktadır. Melatonin sentezi negatif feedback mekanizması ile ovaryum olgunlaşmasını engelleyebilir. Menopozda nokturnal melatonin salınımında hızlı yükselme, düşük estrogen varlığıyla ilişkilidir. Bu etkilerinin yanı sıra melatoninin estrogen sentezinde insan overlerinde anti-oksidan olarak destekleyici bir rolü vardır (56). Okatani ve arkadaşları çalışmalarında 40'lı ve 50'lili yaş gruplarında perimenopozal kadınlarda serum estrogen ve serum melatonin konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyonun bulunduğunu ve ayrıca postmenopozal kadınlarda günlük oral estrogen uygulamasının nokturnal melatonin salınımını baskıladığını ileri sürmektedirler (56, 57).

Gruplar arasında osteoblast ve osteoklast sayılarını değerlendirdiğimizde sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. Kumar ve arkadaşları osteoporozda osteoklastik aktivite de artış olsa bile osteoblastlar ve osteoklastlar arasında sayısal olarak belirgin bir orantısızlığın olmadığını ileri sürmüşlerdir (38). Väänänen, osteoklastların ve öncülerinin osteoporoziste ve estrogen eksikliğinde kemik yüzeyindeki sayılarının arttığını ileri sürmektedir. Osteoblastların ise estrojenden etkilenip etkilenmediğinin bilinmediğini veya artan osteoblastik aktivitenin. osteoklastik aktiviteye karşı bir yanıt olup olmadığını bilinmediğini ileri sürmektedir. İn vitro çalışmalarda estrogenin osteoblastlar üzerinde ılımlı bir etkisinin olduğu gösterilmiştir. Osteositler üzerindeki etkileri ise bilinmemektedir (85). Brincat'a göre estrogen eksikliğinde kollajen miktarının azalması osteoporozun patogeneğinde major bir rol oynar. Estrogen tedavisi ile kemik kütlelerinde ve kollajen miktarında meydana gelen artış

artan osteoblastik aktiviteyle bağlantılı olabilir (15). Roth ise in vitro ortamda melatoninin mikromolar konsantrasyonda insan kemik hücrelerinde mitogen rol oynadığını yayınında vurgulamaktadır (66). Ladizesky'de yaptığı çalışmasında Roth'un bulgularını desteklemekte ve differansiyasyonun erken aşamalarında bu hormonun kemik hücre proliferasyonunun stimülasyonunda önemli bir rol oynadığını ileri sürmektedir (40).

Hidroksiprolin kemik turnover markırlarından biridir. Kollajenin yapısında en fazla miktarda bulunan amino asittir. Osteoklastik aktivitenin artmasıyla birlikte yıkılan dokudan serbest kalan bu amino asit idrarla vucuttan atılmaktadır. Böbrek ve karaciğer hasarlarında idrardaki miktarları çabuk etkileneceği için dokudaki hidroksiprolin miktarı doku hasarının tespitinde çok daha sağlıklı sonuçlar vermektedir (24, 34). Kuyruk vertebraı ve sağ femurdan yaptığımız hidroksiprolin analizlerinde femurda gruplar arası çok az fark olmasına rağmen, femurda görülen bu küçük farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Vertebrada ise hiç fark bulunmadı.

Önceki çalışmalara baktığımızda; osteoporozun düşük kemik dansitesi ve kemik mimari bozukluklarıyla karakterize olan ve kemik kırıklarının arttığı bir hastalık olduğunu görmekteyiz. Doku mimarisinde oluşan bu değişiklikler sonucu oluşan kırık riskinin dual enerji X-ray absorpsiyometri (DXA) metoduyla tespit edilebileceği ileri sürülmektedir (5, 45, 50, 64) Radyografik görüntüleme tekniklerinde vucuttaki kemik kaybı ancak %50' ye ulaştığı zaman teşhis edilebilir. Oysa günümüzde kullanılan tek yada çift foton absorpsiyometrisi kemik mineral yoğunluğunu çok hassas olarak ölçebilir ve kayıpların miktarını bize verebilir (31). Kemik mineral dansitesi ölçümleri dual enerji X-ray absorpsiyometri (DXA) yöntemiyle yapılmıştır. Çalışmamızda overektomi uygulanan tüm gruplarda estrojen eksikliğine bağlı olarak kemik mineral dansiteleri düşük çıkmıştır. Tedavi sonrasında tekrarladığımız DXA ölçümlerinde melatonin tedavisinin kemik mineral dansitesinde anlamlı bir artış meydana getirmediğini gördük. Roth ve arkadaşları günlük 5-10 mg/kg/gün melatonin enjeksiyonunun overektomize sıçanlarda tibia'da kemik mineral dansitesini yükselttiğini ileri sürmektedirler (66). Bu verinin aksine Ladizesky overektomi

sonrası kemik mineral dansitesinin azaldığını ancak tedavi sonrası bir artışın bulunmadığını bildirmektedirler (40).

Bu çalışmada postmenopozal dönemdeki sıçanlarda davranış değişikliklerini, menopozun kemik dokusu üzerine olan etkilerini ve melatonin tedavisinin bu değişiklikler üzerine olan etkilerini araştırdık. Morfometrik analizler sonucu estrogen eksikliğinde kemik dokusunda meydana gelen bozukluklarının melatonin tedavisiyle doza bağımlı olmadan durduğunu ve hatta normal düzeye yaklaşan iyileşmeler olduğunu tespit ettik. Kemik yapısında meydana gelen bu olumlu düzelmelerin melatoninin güçlü antioksidan özelliğinden kaynaklandığını ve bu etkiyi de osteoklastlar üzerinden gösterdiğini düşünmekteyiz. Bu hormonun güçlü antioksidan etkisinin osteoklastların kemik yıkımında kullandığı enzimlerin inhibisyonuna sebep olabileceğini ve bu sayede de kemik yıkımını geriletebileceğini düşünmekteyiz.

Osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer ajanlara bakacak olursak en yaygın olarak uygulanan tedavi estrogen tedavisidir. Estrogen tedavisinin kemik dokusundaki harabiyeti yavaşlatmak veya durdurmak gibi pozitif etkileri vardır. Ancak hormon replasman terapisi postmenopozal dönemdeki kadınlarda kanamalara neden olabildiği gibi endometriyal karsinom ve meme kanseri riskini de arttırabilir. Osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer bir ajan olan bifosfonatlar osteoklastlara bağlı kemik yıkımını engellemelerine rağmen yüksek dozlarda kullanıldıklarında kemik mineralizasyonunu inhibe ederler. Postmenopozal osteoporozun tedavisinde kullanılan anabolik ajanlardan biri olan sodyum florid tedavi sonrasında kemik mineral dansitesinde artış sağlamasına rağmen nonvertebral kırık riskinde de bir artış göstermektedir (64). Melatonin tedavisinde ise korteks kalınlıklarında, trabekül kalınlıklarında ve sayılarında artış tespit etmemiz bu hormonun kemik mineral dansitesinde artışa neden olamamasına rağmen kemik yapısını güçlendirdiğini ve kırık riskini azalttığını göstermektedir.

Melatonin estrogen reseptörlerinin inhibisyonu ile meme kanseri hücrelerinin mitotik aktivitesini durdurmaktadır. Güçlü antioksidan etkisiyle de vücuttaki oksijen ve hidrojen radikallerinin inhibisyonundan da sorumludur. Aynı zamanda yaşlanmayı durdurucu bir hormon olması ve kardiyovasküler sistem

üzerinde tespit edilmiş hiçbir yan etkisinin bulunmaması nedeniyle yeterli klinik çalışmalar tamamlandığında pek çok hastalığın tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz..

Kemik mineral dansite ölçümleri günümüzde çok yaygın olarak dual enerji X-ray absorpsiyometri tekniği ile yapılmasına rağmen osteoporozun derecesinin belirlenmesinde çok hassa olmadığını ve bu ölçümlere ek olarak kemik iğne biyopsisinin yapılarak morfolometrik analiz ile vakaların değerlendirilmesinin osteoporoz teşhis ve tedavisinde daha etkili bir yöntem olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak,

- 1) Overektomi uygulanan osteoporoz grubunda trabekül sayılarında, korteks kalınlıklarında, trabekül kalınlıklarında ve osteoid hacminde hızlı ve belirgin bir azalma,
- 2) Melatonin tedavisi uyguladığımız B ve C grubunda trabekül sayıları, trabekül kalınlıkları, trabekül alanları ve korteks kalınlıklarında overektomi (A) grubuna göre belirgin artışlar,
- 3) B ve C grubunun osteoid hacmine baktığımızda ise A (ovx) grubuna kıyasla bir artış tespit edildi.
- 4) Sham grubunda trabekül sayılarında ve femur trabekül alanlarında artış, vertebra trabekül alanlarında, trabekül kalınlıklarında ve korteks kalınlıklarında ise kontrol grubuna göre azalma görüldü.
- 5) Osteoid hacmi ise hem vertebra hemde femurda kontrol grubuna göre azalma görüldü.
- 6) Osteoblast ve osteoklast sayılarını değerlendirdiğimizde gruplar arası anlamlı bir fark bulunmadı.
- 7) Overektomi uygulanan tüm gruplarda estrogen eksikliğine bağlı olarak kemik mineral dansiteleri düşük çıkmıştır. Tedavi sonrasında tekrarlanan DXA ölçümlerinde ise melatonin tedavisinin kemik mineral dansitesinde anlamlı bir artış meydana getirmediğini görüldü.
- 8) Kuyruk vertebra ve sağ femurdan yaptığımız hidroksiprolin analizlerinde femurda ve vertebrada gruplar arası bir fark bulunmadı.

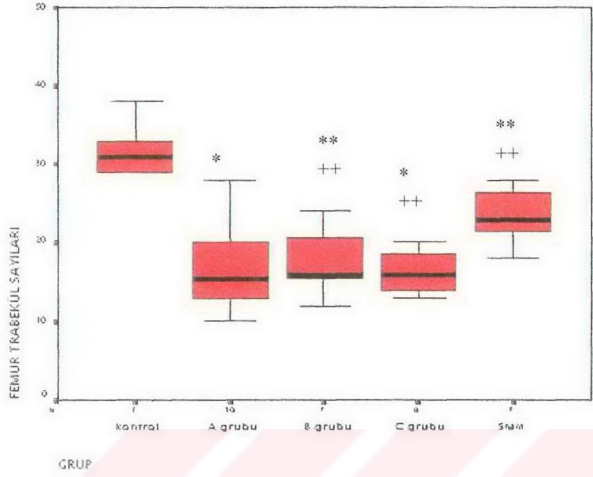
Melatonin, postmenopozal dönemde estrogen eksikliğine bağlı olarak meydana gelen kemik mineral dansitesinde azalmaya etkili olmadığı halde kemik

trabeküler ve kortikal yapısı üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı bu dönemdeki kadınlarda tedavi edici ajan olarak kullanılabilir. Bunun yanı sıra premenopozda ve normal over fonksiyonlarına sahip kadınlarda melatoninin anti-estrojenik etkisinden dolayı uygulanacak melatonin tedavisi kemik yapısında istenmeyen kötü sonuçlara neden olabilir. Günümüzde kemik mineral dansite ölçümlerinin çok yaygın olarak kullanılmasına rağmen kemik iğne biyopsisi ve morfometrik analizlerin de osteoporoz teşhisinde güvenilir sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz.



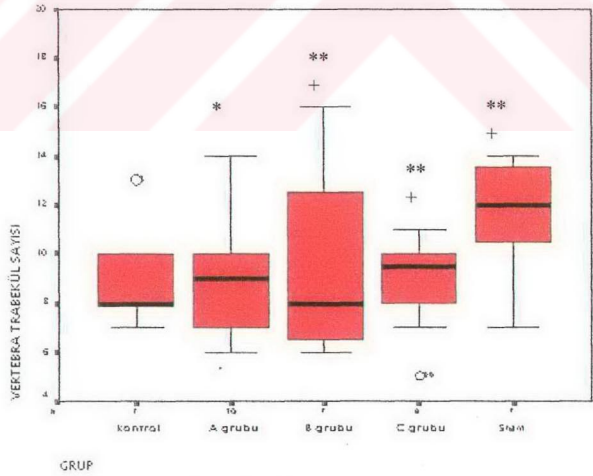
KISALTMALAR LİSTESİ

- **OB:** Osteoblast
- **OK:** Osteoklast
- **OS:** Osteosit
- **H:** Havers Kanalı
- **OP:** Osteoplast
- **O:** Osteoid
- **MK:** Mineralize Kemik Dokusu
- **MLT:** Melatonin
- **K Grubu:** Kontrol grubu
- **A Grubu:** Overektomi Grubu
- **B Grubu:** Overektomi+10mg/kg/gün mlt.
- **C Grubu:** Overektomi+30mg/kg/gün mlt.
- **S Grubu:** Sham Operasyon+10mg/kg/gün mlt.
- **TÖ:** Tedavi Öncesi
- **TS:** Tedavi Sonrası
- **T:** Trabekül
- **K:** Korteks
- **KL:** Kollajen Yapısı



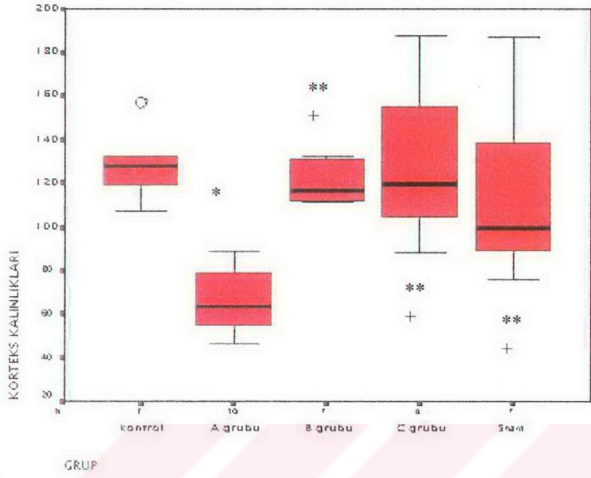
Şekil 3.1. Femur trabekül sayıları.

- * Kontrol grubuna göre anlamlı $p < 0,003$
- ** Kontrol grubuna göre anlamsız $p > 0,003$
- + A grubuna göre anlamlı $p < 0,003$
- ++ A grubuna göre anlamsız $p > 0,003$



Şekil 3.2. Vertebra trabekül sayıları.

- * $p < 0,003$
- ** $p > 0,003$
- + $p < 0,003$
- ++ $p > 0,003$



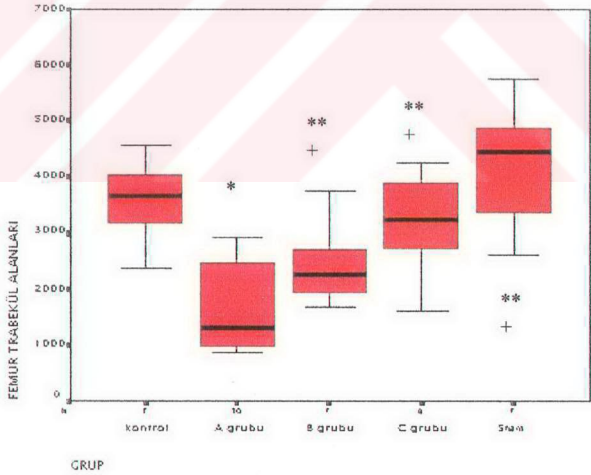
Şekil 3.3. Korteks Kalınlıkları.

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

++ $p > 0,003$



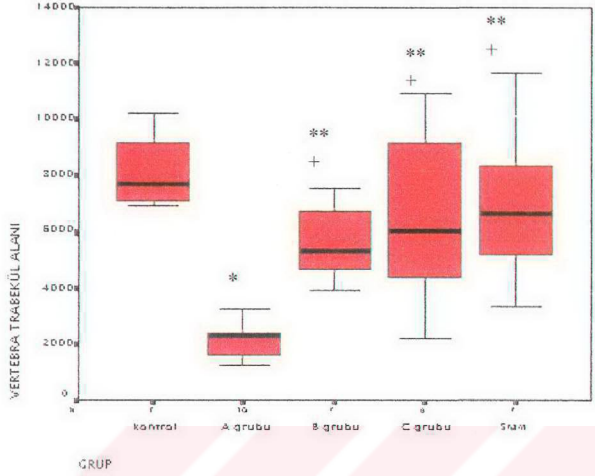
Şekil 3.4. Femur trabekül alanları.

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

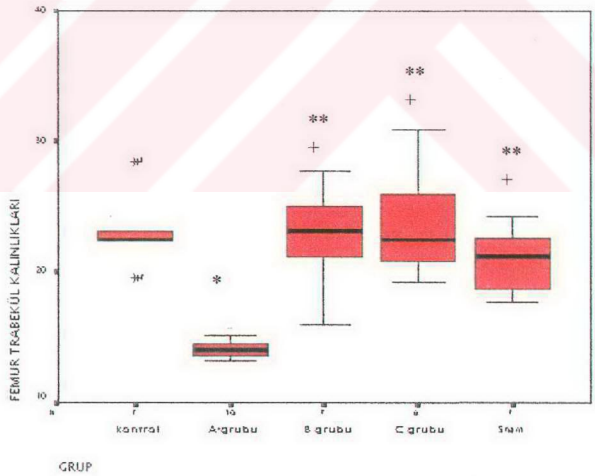
++ $p > 0,003$



Şekil 3.5. Vertebra trabekül alanları.

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

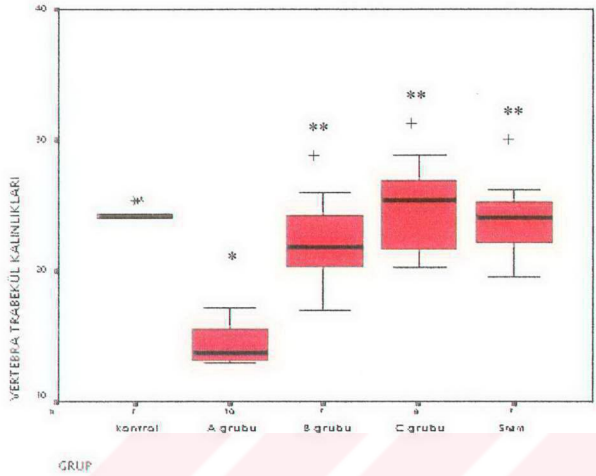
+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



Şekil 3.6. Femur trabekül kalınlıkları.

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



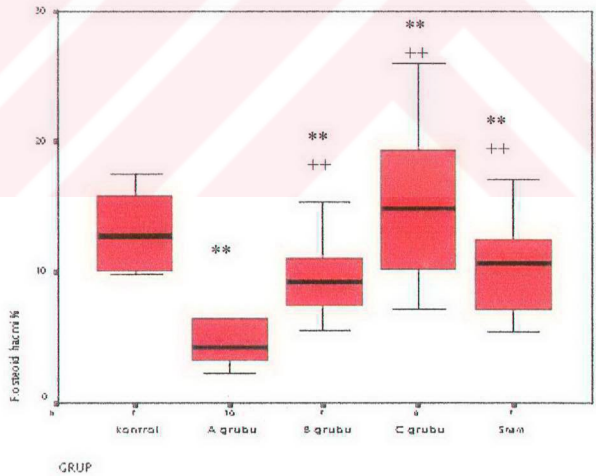
Şekil 3.7. Vertebra trabekül kalınlıkları.

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

++ $p > 0,003$



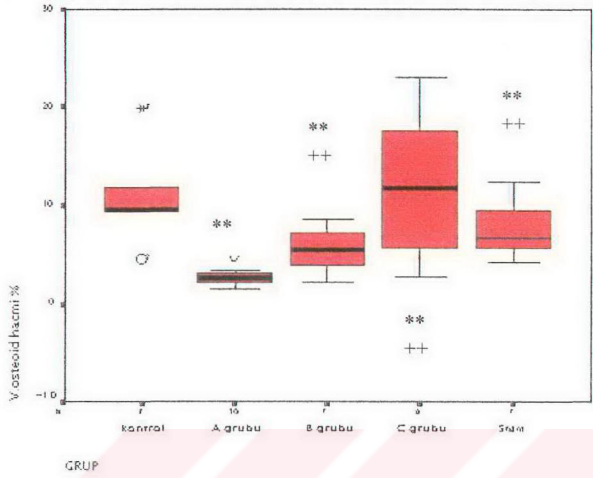
Şekil 3.8. Femur osteoid hacmi.

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

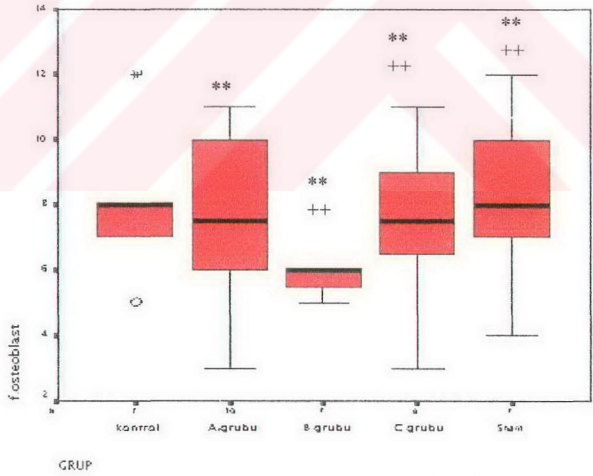
++ $p > 0,003$



Şekil 3.9. Vertebra osteoid hacmi.

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

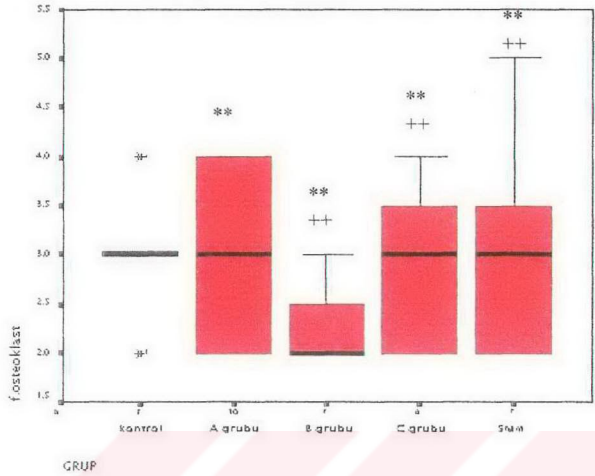
+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



Şekil 3.10. Femur osteoblast sayıları.

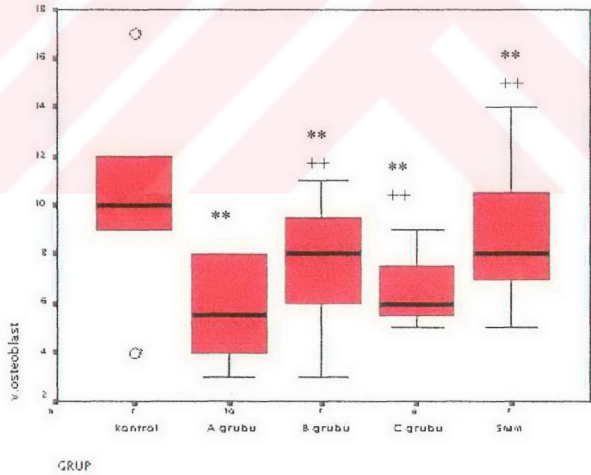
* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



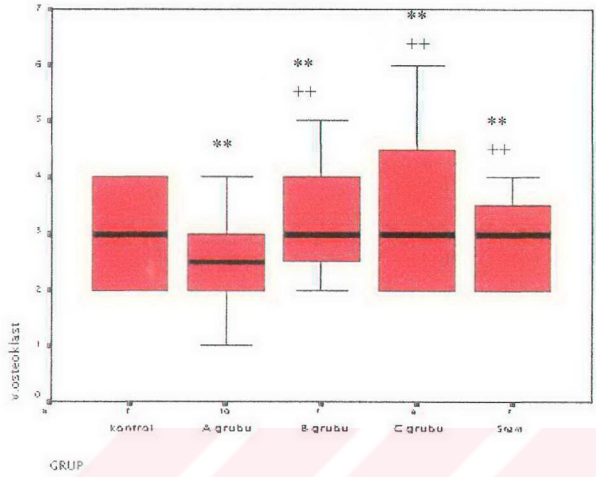
Şekil 3.11. Femur osteoklast sayıları.

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$
 + $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



Şekil 3.12. Vertebra osteoblast sayıları.

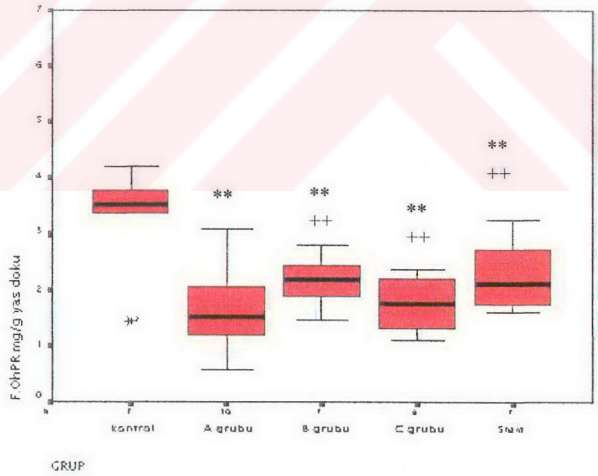
* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$
 + $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



Şekil 3.13. Vertebra osteoklast sayıları.

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

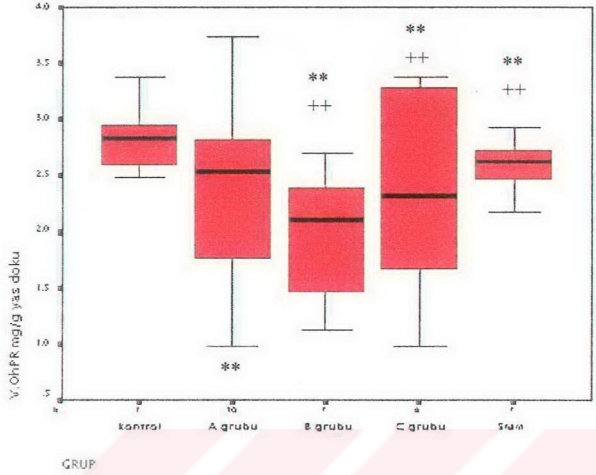
+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



Şekil 3.14. Femur hidroksiprolin analizi.

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



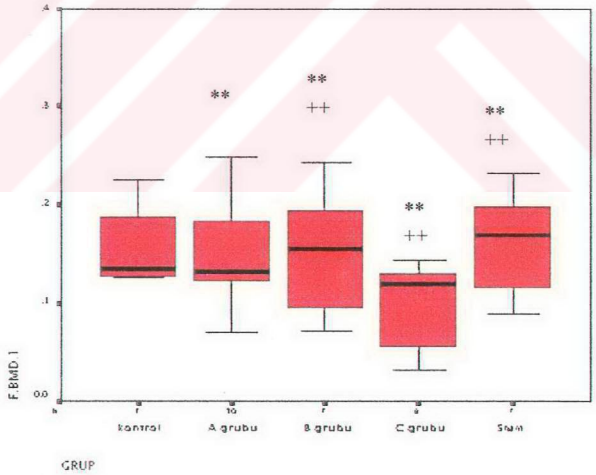
Şekil 3.15. Vertebral hidroksiprolin analizi.

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

++ $p > 0,003$



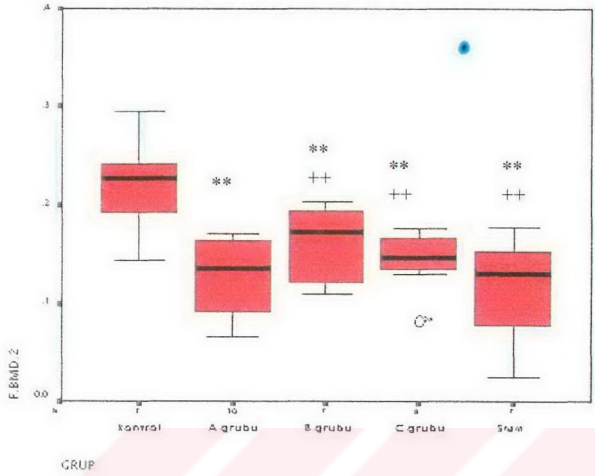
Şekil 3.16. Femur kemik mineral dansitesi (TÖ).

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

++ $p > 0,003$



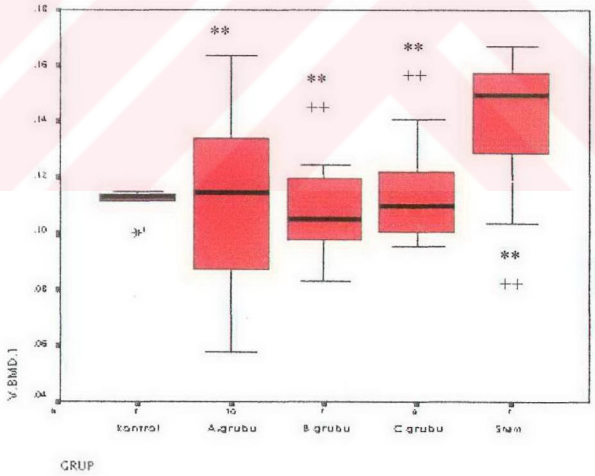
Şekil 3.17. Femur kemik mineral dansitesi(TS).

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

++ $p > 0,003$



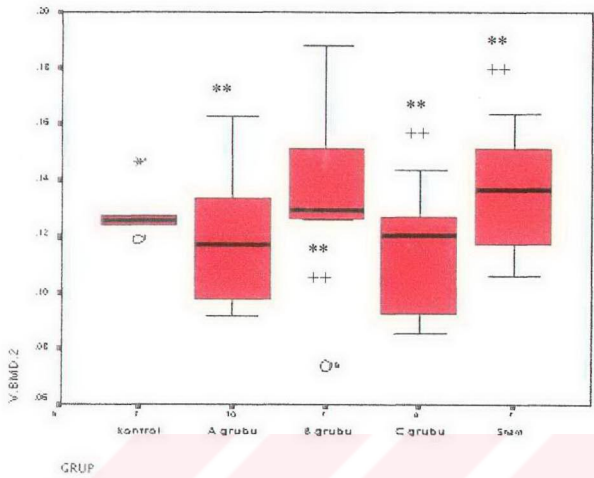
Şekil 3.18. Vertebra kemik mineral dansitesi(TÖ).

* $p < 0,003$

** $p > 0,003$

+ $p < 0,003$

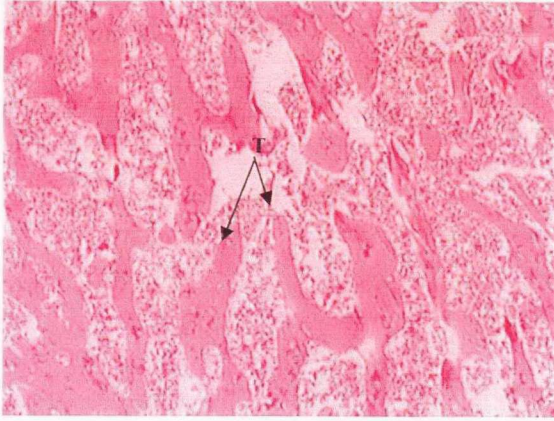
++ $p > 0,003$



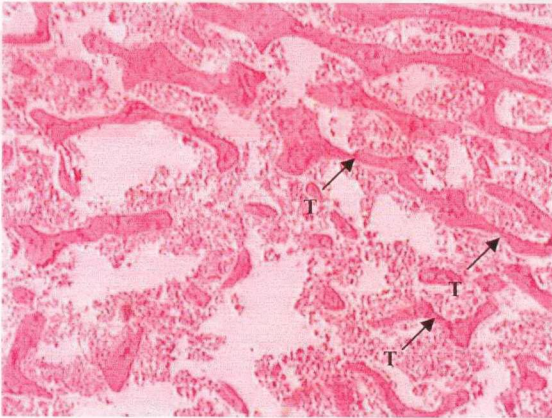
Şekil 3.19. Vertebra kemik mineral dansitesi(TS).

* $p < 0,003$ ** $p > 0,003$

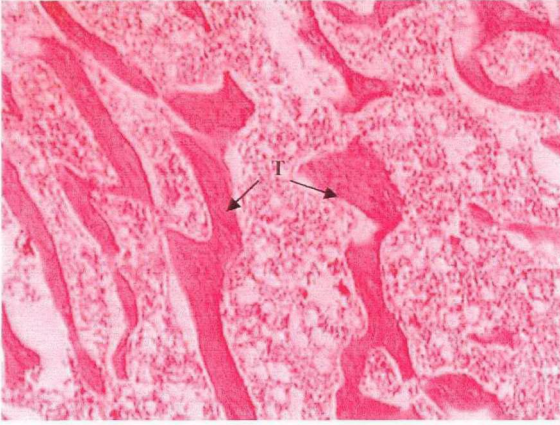
+ $p < 0,003$ ++ $p > 0,003$



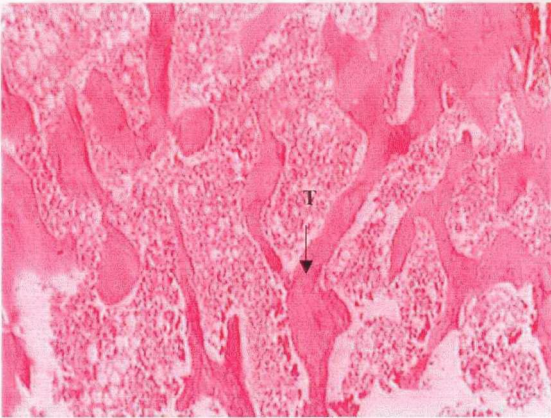
Şekil 3.20. Kontrol grubu femur dokusunda trabeküler yapılar görülmektedir. x10, H. E.



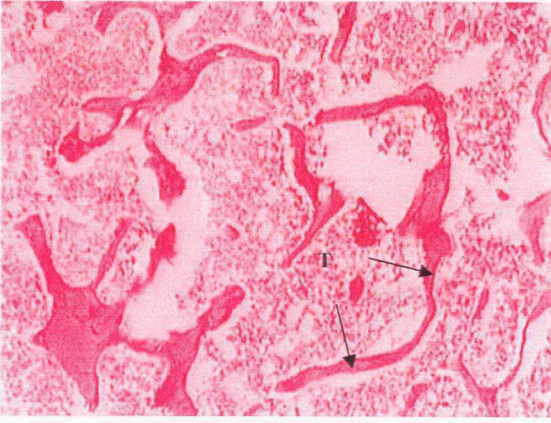
Şekil 3.21. Overektomi uygulanan sıçanlarda osteoporozaya bağlı olarak femur trabekül kalınlıklarında ki incelme, trabekül sayılarında ve trabekül alanlarında ki azalma görülmektedir. x10 ,H. E.



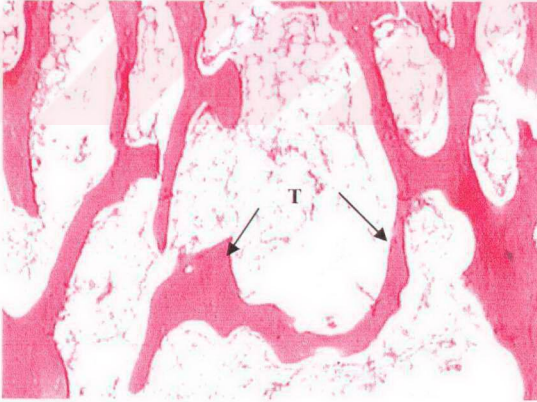
Şekil 3.22. B grubunda 10 mg/kg/gün (mlt) tedavisi sonucunda femurda trabeküler yapılarda ki değişiklikler. X10, H. E.



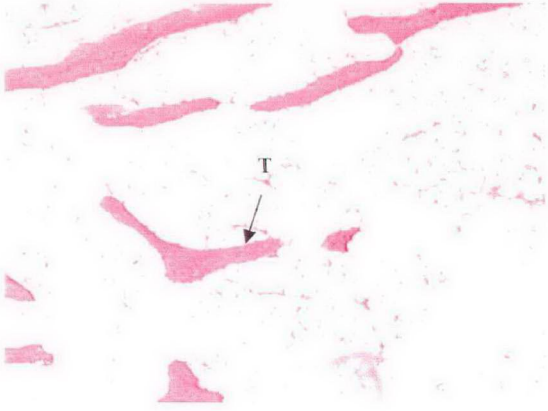
Şekil 3.23. C grubunda 30 mg/kg/gün mlt. enjeksiyonu sonrası femur yapısında meydana gelen iyileşme. x10, H. E.



Şekil 3.24. Sham operasyonu grubunda femurda mlt tedavisi sonucu trabeküler yapıdaki incelmeler görülmektedir. $\times 10$, H. E.



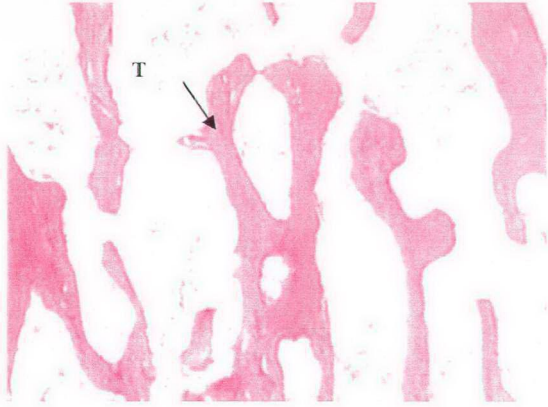
Şekil 3.25. Kontrol grubu vertebra trabekül yapısı. $\times 10$, H. E.



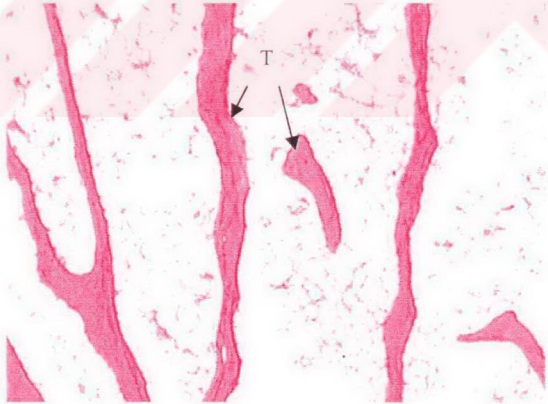
Şekil 3.26. Osteoporoz grubunda vertebra trabekül yapısı.
x10, H. E.



Şekil 3.27. B grubunda 10mg/kg/gün mlt tedavisi sonrasında
vertebra trabekül yapısı. x10, H. E.



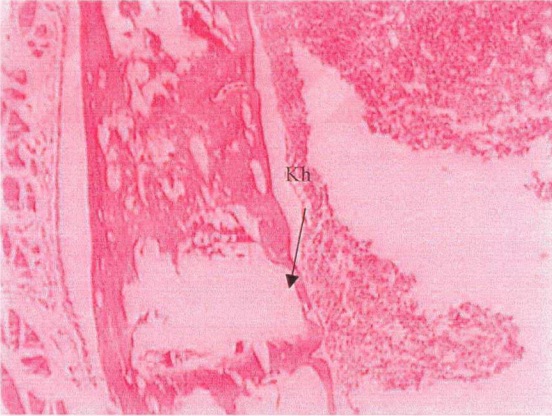
Şekil 3.28. C grubunda vertebra trabekül yapılarında tedavi sonrası görülen değişiklikler. x10, H. E.



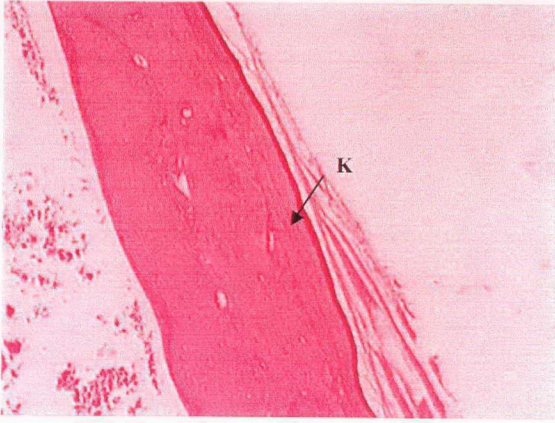
Şekil 3.29. Sham grubu vertebra trabekül yapısı. x10, H. E.



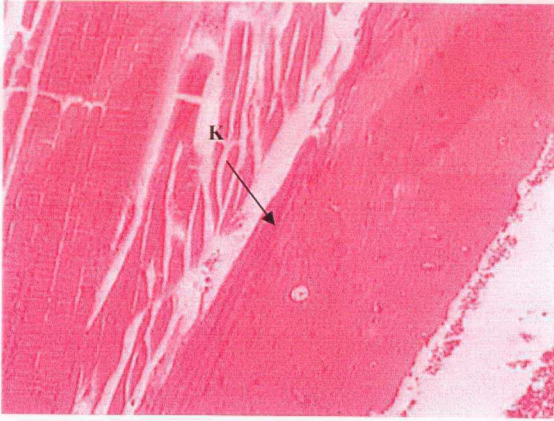
Şekil 3.30. Sağlıklı erişkin bir sıçanda kortikal (K) yapı.
x10, H. E.



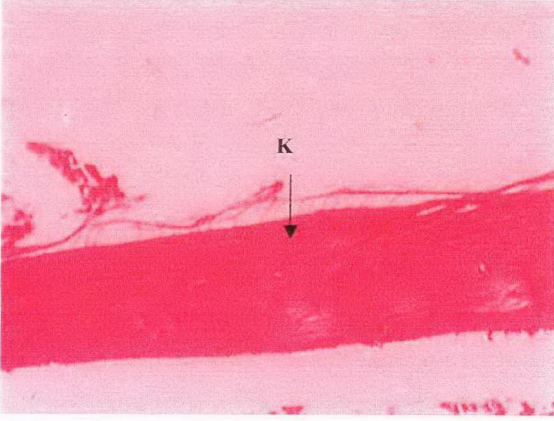
Şekil 3.31. Ovx sonrası femur diafizinde meydana gelen korteks
harabiyeti (Kh). x10, H. E.



Şekil 3.32. Grubu B tedavisi sonrası korteks yapısı. x10, H. E.



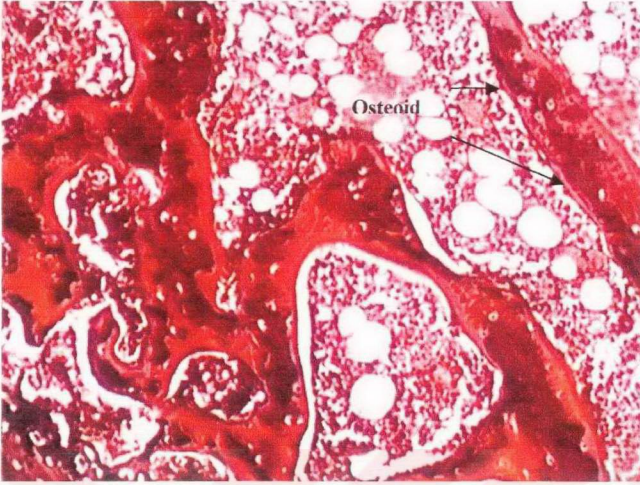
Şekil 3.33. C grubunda tedavi sonrası meydana gelen korteks kalınlaşması. x10, H. E.



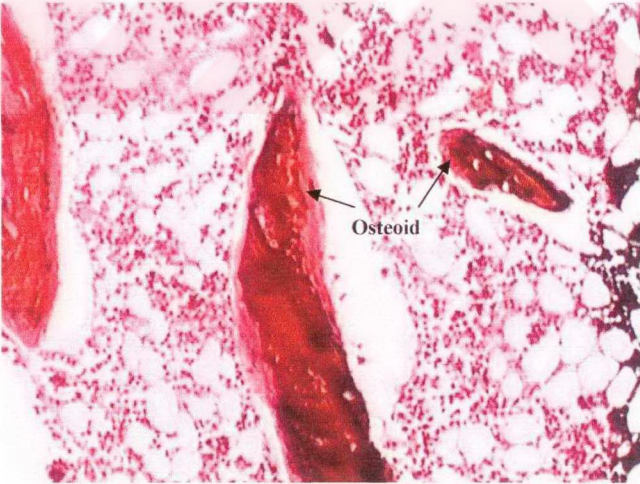
Şekil 3.34. Sham grubunda tedavi sonrası korteks yapısı.
x10, H. E.



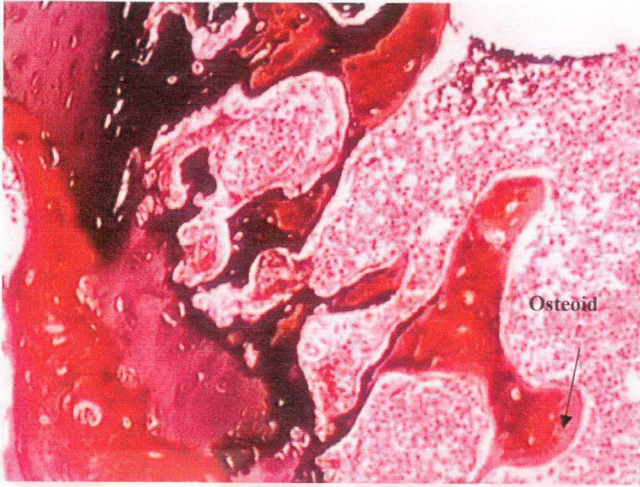
Şekil 3.35. Kontrol grubu femur dokusunda siyah boyanmış mineralize doku çevresinde pembe boyalı osteoid görülmektedir. x20, AgNO₃ ve H. E.



Şekil 3.36. Ovx sonrası femurda osteoid kalınlığında oluşan azalma.
X20, AgNO₃ ve H. E.



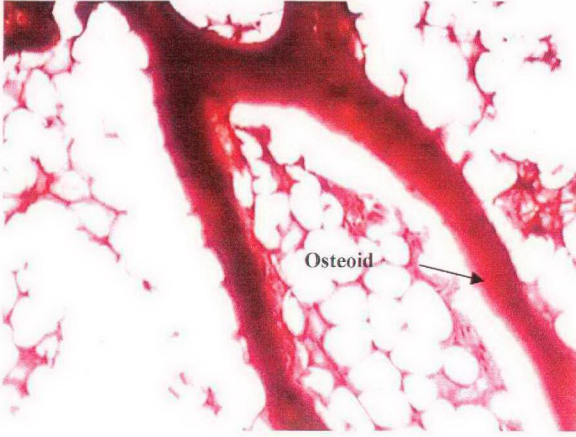
Şekil 3.37 Mlt tedavisi sonrasında osteoid yapısı. x20 AgNO₃ ve H. E.



Şekil 3.38. C grubunda tedavi sonrası osteoporoz grubuna göre oluşan osteoid yapısındaki değişiklikler. x20, AgNO₃ ve H. E.



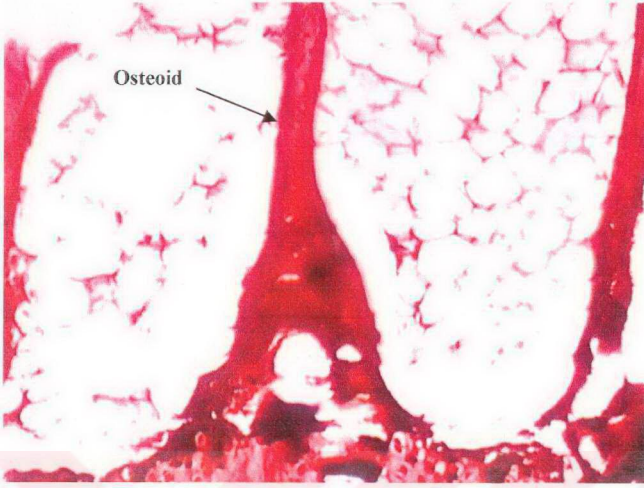
Şekil 3.39. Sham grubunda mlt tedavisi sonrasında osteoid hacminde meydana gelen azalma. X20, AgNO₃ ve H. E.



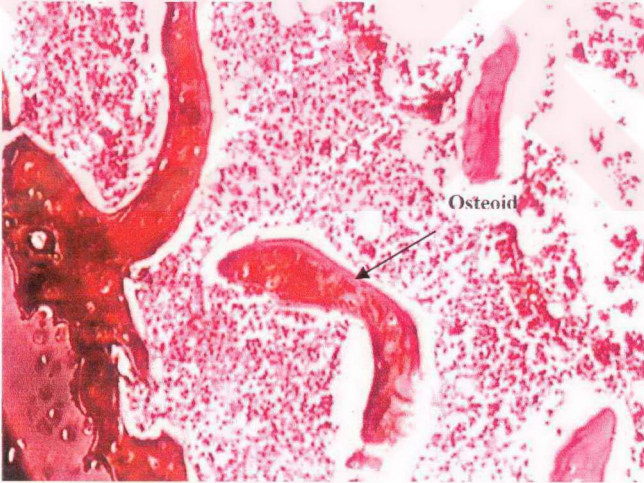
Şekil 3.40. Kontrol grubu vertebra preparatlarında osteoid yapısı. x20, AgNO₃ ve H. E.



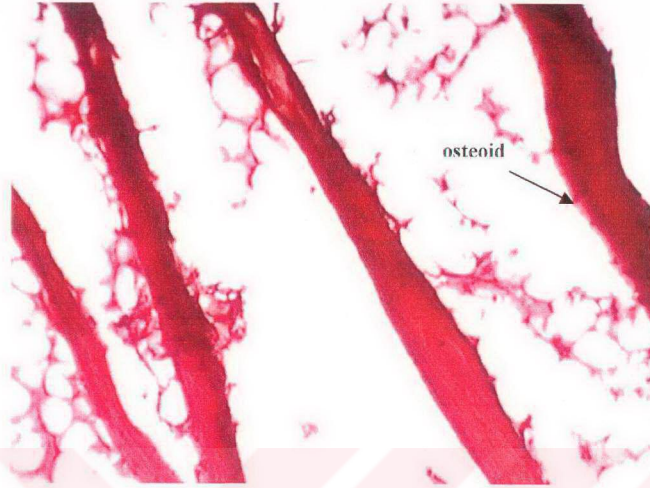
Şekil 3.41. Osteoporoz grubunda osteoid hacminde kontrol grubuna göre belirgin bir azalmanın meydana geldiği görülmektedir. x20, AgNO₃ ve H. E.



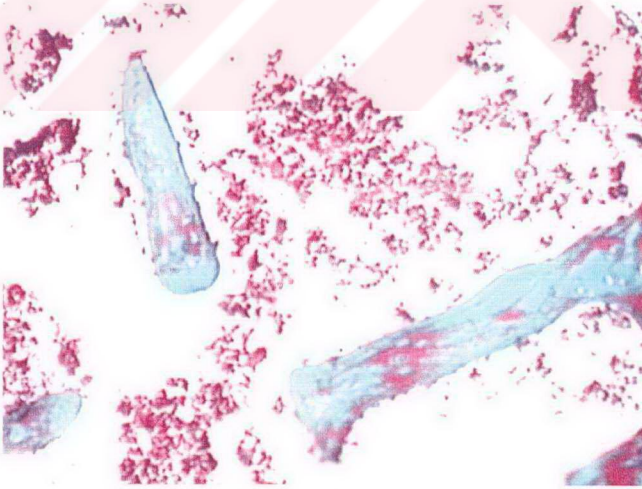
Şekil 3.42. Tedavi sonrası B grubu osteoid yapısı. x20, AgNO₃ ve H. E.



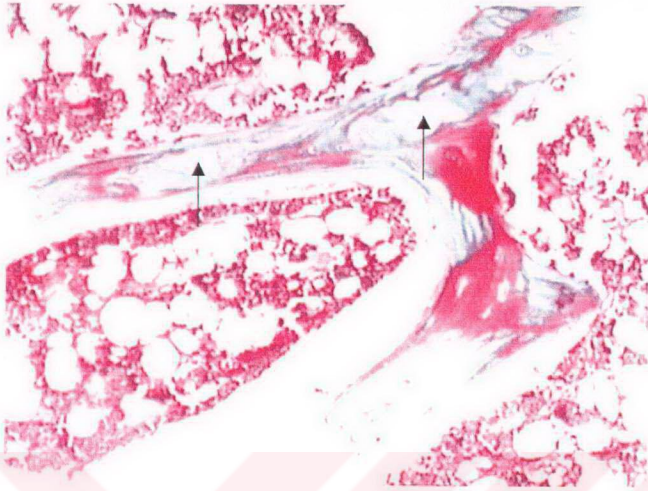
Şekil 3.43. C grubunda mlt tedavisi sonrasında osteoid hacminde artış görülmektedir. x20, AgNO₃ ve H. E.



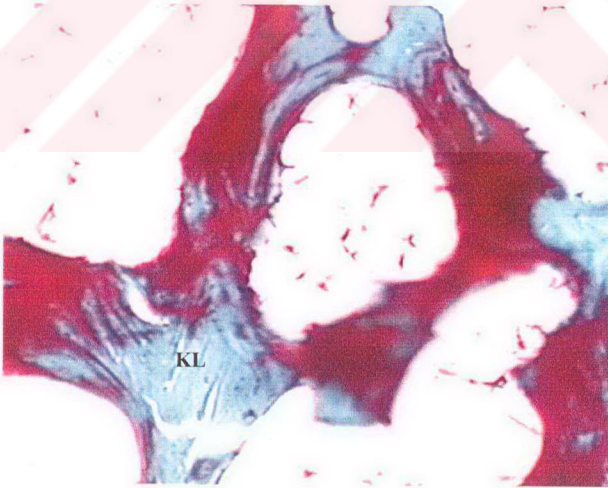
Şekil 3.44. Sham grubunda kontrol grubuna göre tedavi sonrasında osteoid hacminde ki azalma. x20, AgNO₃ ve H. E.



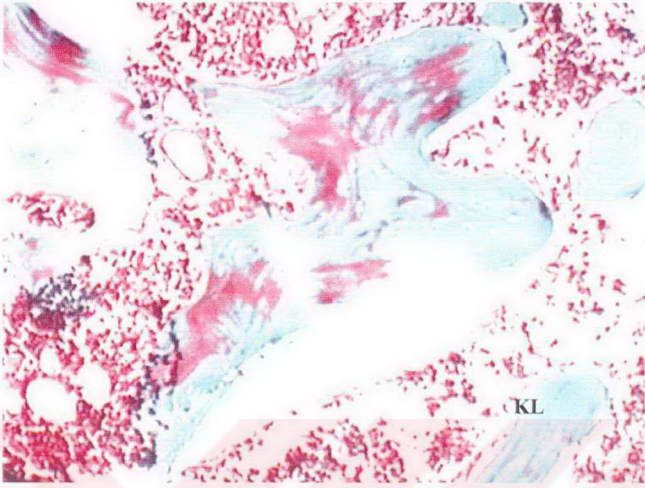
Şekil 3.45. Kontrol grubu vertebra kemik yapısı. x20, Masson trichrom.



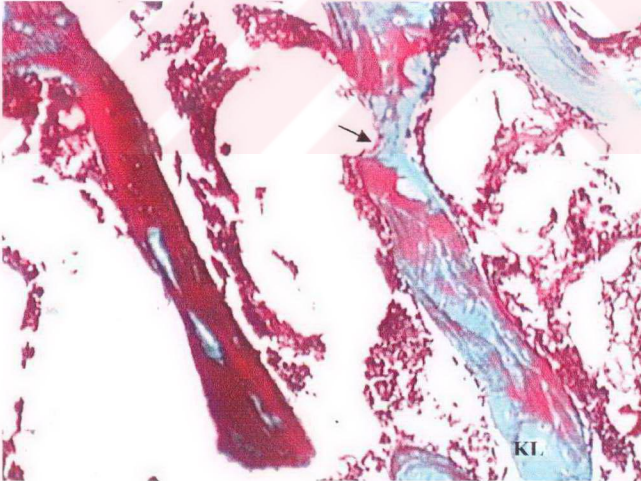
Şekil 3.46. Osteoporoz grubu femur yapısı. Oklar trabeküler yapıda ovx sonrası meydana gelen yapısal bozuklukları göstermektedir. x20, Masson trichrom.



Şekil 3.47. B grubuna uygulanan mlt tedavisinin femurda ki sonucunda kollajen yapısı (KL). x20, Masson trichrom.



Şekil 3.48. Tedavi sonrası C grubunda kollajen lifler (KL). x20, Masson trichrom.



Şekil 3.49. Sham grubunda tedavi sonrası görülen trabeküler bozulmalar Ok trabekül harabiyetini, (KL) kollajen miktarının azalmasını göstermektedir. x20, Masson trichom

Tablo
3.1.Morfometrik
ölçüm sonuçları

VERTEBRA TRABEKÜL					
SAYISI					
KONTROL	A	B	C	SHAM	
	GRUBU	GRUBU	GRUBU		
10,00	9,00	6,00	11,00	12,00	
7,00	6,00	7,00	9,00	14,00	
13,00	7,00	8,00	9,00	7,00	
8,00	14,00	13,00	7,00	14,00	
8,00	18,00	6,00	10,00	11,00	
	8,00	12,00	10,00	13,00	
	9,00	16,00	5,00	10,00	
		6,00	10,00		
	9,00				
	10,00				

FEMUR TRABEKÜL				
SAYILARI				
KONTROL	A	B	C	SHAM
	GRUBU	GRUBU	GRUBU	
29,00	15,00	16,00	15,00	20,00
31,00	13,00	12,00	17,00	23,00
38,00	26,00	21,00	20,00	25,00
29,00	16,00	24,00	14,00	23,00
33,00	13,00	20,00	13,00	18,00
	10,00	16,00	19,00	28,00
	18,00	15,00	14,00	28,00
	20,00		18,00	
	28,00			
	13,00			

KORTEKS KALINLIKLARI				
KONTROL	A	B	C	SHAM
	GRUBU	GRUBU	GRUBU	
132,74	61,68	168,97	132,00	84,34
156,95	88,78	116,83	155,84	187,01
119,40	64,52	132,36	102,87	138,65
107,52	75,04	129,97	153,89	76,10
127,84	51,59	112,18	167,47	100,06
	55,03	111,26	107,37	94,71
	46,68	112,41	88,24	137,95
	79,09		106,49	
	62,90			
	84,85			

VERTEBRA TRABEKÜL
ALANI

KONTROL	ALANI			SHAM
	A GRUBU	B GRUBU	C GRUBU	
10195.33	1264.30	5162.50	8296.40	6716.00
9198.00	2375.88	7536.00	10017.79	5192.43
7120.75	2838.33	7273.25	6749.20	9956.00
7691.25	2291.80	6186.00	5385.29	6692.40
6917.60	2365.13	5337.60	2221.00	3387.50
	1645.64	3938.50	4379.33	11675.75
	1408.57	4248.75	4377.50	5165.67
	3217.40		10896.33	
	2299.00			
	2189,56			

FEMUR TRABEKÜL
ALANLARI

KONTROL	ALANLARI			SHAM
	A GRUBU	B GRUBU	C GRUBU	
4018.43	2901.38	2454.86	3957.00	4461.6
3175.92	2452.55	3755.00	4271.73	4571.29
3669.08	1045.38	2002.93	3327.92	2593.22
2353,45	2664.63	1690.1	3147,92	2622.2
4556,00	868.04	1868.35	2806.22	5169.63
	962.16	2250.93	2634.60	5761.14
	1729.64	2928.00	3811.78	4103.00
	1438.1		1596.5	
	1149.20			
	983.62			

VERTEBRA TRABEKÜL KALINLIKLARI

KONTROL	A GRUBU	B GRUBU	C GRUBU	SHAM
24,16	14,87	21,83	27,22	25,26
24,21	13,16	23,18	25,00	19,56
25,40	15,48	25,41	22,49	20,29
24,34	15,54	16,93	25,72	25,24
24,14	13,00	21,36	20,27	26,13
	13,26	25,99	26,57	23,95
	13,24	19,25	20,83	24,13
	13,86		28,91	
	13,57			
	17,27			

FEMUR TRAPEKÜL KALINLIKLARI

KONTROL	A GRUBU	B GRUBU	C GRUBU	ŞAHM
28,42	13.36	15.88	19.19	21.57
23.16	13.79	27.61	22.21	21.17
22.52	14.53	23.18	21.45	19.22
22,40	16.17	24.57	22.84	23.93
19,52	14.35	21.91	28.13	18.22
	13.26	20.31	30.89	24.29
	15.14	25.45	23.71	17.82
	13.62		20.21	
	14.26			

FEMUR OSTEODİ HACMİ

Grup adı	min+unmin	min	ost V	os V	% osteoid hacmi
Kontrol	7130	6400	721	0,101122	10,11220196
	34277	28291	5986	0,174636	17,46360533
	8231	7168	1063	0,129146	12,91459118
	30036	27075	2961	0,098582	9,858170196
	34221	28806	5415	0,158236	15,82361708
A Grubu	26120	21889	4231	0,161983	16,19831547
	6433	6195	238	0,036997	3,699673558
	12839	12437	402	0,031311	3,131084975
	13482	13035	447	0,033155	3,31553182
	19056	17985	1071	0,056203	5,620277078
	57868	54164	3704	0,064008	6,400774176
	19277	18346	931	0,048296	4,829589666
	48300	47178	1122	0,02323	2,322981366
	19684	18987	697	0,035409	3,540946962
	19235	16480	2755	0,143228	14,32284897
B Grubu	30602	28923	1679	0,054866	5,486569505
	16737	15762	975	0,058254	5,825416741
	18299	16024	2275	0,124324	12,43237335
	19397	16411	2986	0,153941	15,39413311
	39451	35635	3816	0,096728	9,672758612
	19992	18150	1842	0,092137	9,213685474
	29699	26941	2758	0,092865	9,286507963
C Grubu	21102	18508	2594	0,122927	12,29267368
	5462	4042	1420	0,259978	25,997803
	15564	14278	1286	0,082627	8,262657415
	39770	36924	2846	0,071561	7,15614785
	19908	16217	3691	0,185403	18,54028531
	24084	19215	4869	0,202167	20,21674141
	13470	11603	1867	0,138604	13,86043059
	14496	12198	2298	0,158526	15,85264901

S Grubu

32187	30455	1732	0,053811	5,381054463
16342	13562	2780	0,170114	17,01138172
1857	1643	214	0,11524	11,52396338
29182	26859	2323	0,079604	7,96038654
11441	10716	725	0,063369	6,336858666
35548	31737	3811	0,107207	10,72071565
11441	9916	1525	0,133293	13,32925444

VERTEBRA OSTEOD
HACMI

Grup adı	min+unmi	min	ost	ost V	% Osteoid hacmi
Kontrol	13113	11561	1552	0,118356	11,83558301
	12114	11555	559	0,046145	4,614495625
	19064	17237	1827	0,095835	9,583508183
	9543	8645	898	0,0941	9,410038772
	13364	10710	2654	0,198593	19,85932356
A Grubu					
	28306	27342	964	0,034056	3,405638381
	88553	84270	4283	0,048367	4,836651497
	14425	13979	446	0,030919	3,091854419
	5501	5352	149	0,027086	2,708598437
	6149	6013	136	0,022117	2,211741747
	9993	9848	145	0,01451	1,451015711
	22295	21940	355	0,015923	1,592285266
	18068	17685	383	0,021198	2,119769759
	6094	5941	153	0,025107	2,510666229
	12622	12247	375	0,02971	2,971003011
B Grubu					
	18029	16958	1071	0,059404	5,940429308
	45049	44079	970	0,021532	2,153210948
	3479	2934	545	0,156654	15,6654211
	28271	27256	1015	0,035903	3,590251494
	12761	12068	693	0,054306	5,430608886
	8273	7563	710	0,085821	8,582134655
	15604	14941	663	0,042489	4,248910536
C Grubu					
	14730	14283	447	0,030346	3,034623218
	17122	14640	2482	0,144396	14,4959701
	63732	58389	5343	0,083835	8,383543589
	21529	20951	578	0,026848	2,684750801
	30076	25467	4609	0,153245	15,32451124
	26146	23789	2357	0,090148	9,014763253
	7270	5590	1680	0,231087	23,10866575
	21879	17571	4308	0,196901	19,69011381
S Grubu					
	5760	4711	1049	0,182118	18,21180556
	9632	8445	1187	0,123235	12,32350498
	9139	8762	377	0,041252	4,125177809
	36898	34782	2116	0,057347	5,73472817
	14004	13053	951	0,067909	6,790916881

10583	10000	583	0,055088	5,508834924
20322	18941	1381	0,067956	6,795590985

FEMUR	OB	OK	VERTEB	OB	OK
KONTROL			KONTROL		
	12,00	2,00		10,00	2,00
	8,00	3,00		4,00	2,00
	7,00	3,00		12,00	3,00
	5,00	4,00		17,00	4,00
	8,00	3,00		9,00	4,00
A GRUBU			A GRUBU		
	8,00	4,00		4,00	3,00
	3,00	2,00		3,00	2,00
	7,00	2,00		4,00	2,00
	11,00	4,00		8,00	3,00
	8,00	4,00		6,00	1,00
	7,00	2,00		6,00	1,00
	6,00	3,00		8,00	3,00
	10,00	2,00		8,00	4,00
	6,00	4,00		4,00	2,00
	10,00	3,00		5,00	3,00
B GRUBU			B GRUBU		
	5,00	2,00		11,00	3,00
	7,00	2,00		7,00	2,00
	6,00	3,00		9,00	2,00
	5,00	2,00		10,00	3,00
	6,00	2,00		8,00	5,00
	6,00	2,00		3,00	4,00
	6,00	3,00		5,00	4,00
C GRUBU			C GRUBU		
	10,00	3,00		11,00	2,00
	8,00	3,00		6,00	2,00
	3,00	4,00		6,00	2,00
	7,00	3,00		6,00	5,00
	11,00	2,00		5,00	3,00
	8,00	4,00		9,00	4,00
	7,00	2,00		6,00	3,00
	6,00	2,00		5,00	6,00
S GRUBU			S GRUBU		
	12,00	5,00		8,00	2,00
	10,00	2,00		9,00	2,00
	8,00	2,00		5,00	2,00
	10,00	3,00		6,00	4,00
	4,00	2,00		12,00	3,00
	7,00	3,00		14,00	3,00
	7,00	4,00		8,00	6,00

HİDROKSİPROLİN ANALİZ SONUÇLARI

grup adı	agrlık	ABS analiz	analizKÖR kör	KÖR dışı kör	Kör	Net absorbans	Faktör	µg/g yas dokü	OhPR mg/g yas dokü
F-K	0,37	0,39	0,03	0,36	0,02	0,34	1538,54	4180,83	4,18
	0,35	0,17	0,04	0,13	0,02	0,11	499,11	1438,36	1,44
	0,39	0,39	0,06	0,32	0,02	0,30	1387,44	3530,37	3,53
	0,33	0,34	0,04	0,30	0,02	0,28	1101,91	3369,74	3,37
	0,38	0,42	0,04	0,39	0,02	0,36	1447,99	3780,66	3,78
F-A	0,63	0,27	0,05	0,22	0,02	0,20	906,64	1450,63	1,45
	0,57	0,26	0,06	0,20	0,02	0,18	824,22	1435,92	1,44
	0,55	0,20	0,04	0,16	0,02	0,14	636,48	1153,05	1,15
	0,54	0,29	0,04	0,25	0,02	0,23	1044,01	1919,14	1,92
	0,41	0,24	0,03	0,20	0,02	0,18	833,38	2052,66	2,05
	0,53	0,20	0,04	0,16	0,02	0,14	631,90	1201,33	1,20
	0,33	0,18	0,04	0,13	0,02	0,11	517,43	1558,52	1,56
	0,50	0,14	0,05	0,09	0,02	0,07	297,64	594,08	0,59
	0,18	0,29	0,05	0,24	0,02	0,22	1016,54	5775,78	5,78
	0,28	0,24	0,03	0,21	0,02	0,19	851,69	3085,85	3,09
F-B	0,33	0,23	0,05	0,18	0,02	0,16	728,06	2192,95	2,19
	0,54	0,23	0,04	0,19	0,02	0,17	778,43	1446,90	1,45
	0,39	0,30	0,04	0,26	0,02	0,24	1089,80	2787,22	2,79
	0,39	0,32	0,04	0,28	0,02	0,26	1034,28	2638,47	2,64
	0,42	0,28	0,03	0,25	0,02	0,23	910,96	2153,57	2,15
F-C	0,46	0,34	0,06	0,28	0,02	0,26	1030,30	2230,09	2,23
	0,41	0,24	0,05	0,19	0,02	0,17	672,28	1623,87	1,62
	0,52	0,24	0,04	0,21	0,02	0,19	847,12	1632,21	1,63
	0,39	0,25	0,04	0,21	0,02	0,19	879,17	2260,07	2,26
	0,43	0,18	0,04	0,14	0,02	0,12	549,48	1286,84	1,29
	0,42	0,15	0,03	0,12	0,02	0,10	467,06	1109,40	1,11

F-S	0.54	0.21	0.04	0.18	0.02	0.16	718,90	1336,25	1,34
	0.40	0.24	0.04	0.21	0.02	0.19	856,27	2162,31	2,16
	0.40	0.27	0.04	0.23	0.02	0.21	952,43	2357,50	2,36
	0.48	0.26	0.04	0.22	0.02	0.20	906,64	1904,71	1,90
	0.59	0.35	0.03	0.32	0.02	0.30	1177,49	1999,13	2,00
	0.41	0.26	0.05	0.21	0.02	0.19	751,84	1829,30	1,83
	0.45	0.41	0.03	0.37	0.02	0.35	1396,28	3116,69	3,12
	0.48	0.46	0.03	0.43	0.02	0.41	1611,09	3328,70	3,33
	0.48	0.39	0.04	0.35	0.02	0.33	1304,78	2695,83	2,70
	0.43	0.43	0.04	0.39	0.02	0.37	1459,93	3427,06	3,43
V-K	0.37	0.37	0.04	0.32	0.02	0.30	1201,36	3220,79	3,22
	0.47	0.35	0.04	0.31	0.02	0.29	1153,62	2470,28	2,47
	0.49	0.37	0.05	0.32	0.02	0.30	1382,86	2833,73	2,83
	0.37	0.48	0.04	0.44	0.02	0.42	1936,92	3374,42	3,37
	0.41	0.32	0.04	0.28	0.02	0.26	1195,12	2950,91	2,95
	0.52	0.36	0.04	0.32	0.02	0.30	1359,96	2600,31	2,60
	0.45	0.31	0.04	0.27	0.02	0.25	1126,43	2481,13	2,48
	0.47	0.17	0.05	0.12	0.02	0.10	462,48	979,83	0,98
	0.51	0.37	0.06	0.31	0.02	0.29	1341,65	2635,85	2,64
	0.54	0.48	0.06	0.42	0.02	0.40	1849,92	3458,51	3,44
V-A	0.40	0.39	0.04	0.35	0.02	0.33	1488,18	3729,76	3,73
	0.56	0.42	0.06	0.37	0.02	0.35	1584,33	2819,10	2,82
	0.59	0.32	0.06	0.26	0.02	0.24	1103,54	1883,17	1,88
	0.54	0.27	0.05	0.22	0.02	0.20	892,91	1668,98	1,67
	0.44	0.33	0.06	0.27	0.02	0.25	1131,01	2553,08	2,55
	0.44	0.31	0.05	0.26	0.02	0.24	1098,96	2509,04	2,51
	0.50	0.26	0.05	0.21	0.02	0.19	888,33	1762,55	1,76
	0.49	0.35	0.04	0.31	0.02	0.29	1314,17	2704,06	2,70
	0.35	0.25	0.05	0.21	0.02	0.19	739,91	2114,02	2,11
	0.54	0.24	0.07	0.17	0.02	0.15	600,68	1120,67	1,12
V-B	0.44	0.32	0.05	0.27	0.02	0.25	982,57	2248,43	2,25

	0.54	0.29	0.07	0.22	0.02	0.20	783.67	1448.55	1.45
	0.53	0.29	0.07	0.22	0.02	0.20	791.62	1485.22	1.49
	0.53	0.42	0.07	0.36	0.02	0.34	1336.61	2517.15	2.52
	0.49	0.42	0.05	0.37	0.02	0.35	1616.39	3319.07	3.32
	0.58	0.19	0.05	0.14	0.02	0.12	563.22	979.51	0.98
	0.52	0.44	0.05	0.39	0.02	0.37	1685.07	3253.03	3.25
	0.65	0.37	0.05	0.31	0.02	0.29	1341.65	2051.45	2.05
	0.52	0.34	0.05	0.30	0.02	0.28	1259.23	2421.59	2.42
	0.54	0.33	0.05	0.28	0.02	0.26	1190.54	2221.16	2.22
	0.73	0.27	0.04	0.23	0.02	0.21	943.27	1292.16	1.29
	0.55	0.47	0.05	0.43	0.02	0.41	1863.65	3376.18	3.38
	0.58	0.58	0.04	0.54	0.02	0.52	2068.56	3572.64	3.57
	0.47	0.40	0.04	0.36	0.02	0.34	1332.63	2841.43	2.84
	0.48	0.38	0.04	0.34	0.02	0.32	1268.98	2621.86	2.62
	0.49	0.60	0.04	0.55	0.02	0.53	2112.32	4302.07	4.30
	0.54	0.58	0.04	0.55	0.02	0.52	2084.47	3896.21	3.90
	0.61	0.44	0.04	0.40	0.02	0.38	1491.75	2445.49	2.45
	0.46	0.51	0.04	0.47	0.02	0.45	1782.14	3899.66	3.90
	0.40	0.43	0.03	0.40	0.02	0.38	1523.57	3789.99	3.79

V-C

V-S

ÖZET

İn vitro ve in vivo çalışmalarda melatoninin osteoblast ve osteoklast hücre aktivasyonunda ve kemik yapımını düzenlediği ileri sürülmektedir. Çalışmalarda bu hormonun osteoporoz üzerindeki etkileri biyokimyasal ve dansitometrik olarak gösterilmiştir.

Bu bulgulardan hareketle overektomili sıçanlarda eksojen melatonin tedavisinin kemik yapısı ve yapılanması üzerine olan etkilerini histomorfometrik olarak araştırmak için toplam 45 adet dişi sıçanı kontrol grup (gr) (K, n=5); A gr (n=10 overektomi-ovx); B gr (n=10 ovx+10mg/kg/gün melatonin-mlt); C gr (n=10 ovx+30mg/kg/gün mlt); S gr (n=10 sham operasyon+10mg/kg/gün mlt) olmak üzere 5 gruba ayırdık. Operasyondan 8 hafta sonra ve 12. haftada kemik mineral dansite (KMD) ölçümleri yapıldı. 12. haftada vertebra ve femurdan hidroksiprolin analizleri yapıldı. Femur ve L₄-L₅ vertebralardan Hematoxilen-Eosin ve Masson trichrom ile boyanarak hazırlanmış preparatlar ışık mikroskobunda incelendi. Histomorfometri, trabeküler kalınlık (TK), trabeküler alan (TA), korteks kalınlığı (KK), osteoid hacmi (OH), birim alana düşen osteoblast (OB) ve osteoklast (OK) sayıları yarı otomatik görüntü analiz sistemiyle ölçüldü.

A grubunda femur ve vertebrada TK ve TA buna ek olarak femurda KK kontrol grubuna göre önemli bir azalma, B ve C grubunda ise A grubuna kıyasla bir yükselme görüldü (p<0,003). B ve C grubunun sonuçları kontrol grubuna yakındır (p>0,003). TK, TA, KK, OH melatonin tedavisi alan B ve C grupları arasında bir fark bulunamadı. S grubunda TK, TA A, B ve C grubuna göre yüksek (p<0,003); kontrol grubuna göre ise biraz düşüktü. Femur ve vertebrada ovx'ı takiben birim alana düşen trabekül sayısı azalma, mlt tedavisi sonucunda ise istatistiksel olarak anlamsız bir artma olduğu görüldü. (p>0,003). Hidroksiprolin analizi ve birim alana düşen OB ve OK sayılarında gruplar arasında fark bulunmadı. Ovx sonrası KMD' de belirgin bir azalma görüldü, mlt tedavisi ise sonuçları değiştirmedi. Bu sonuçlar melatoninin osteoblastik aktivite artışında bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, melatoninin kemik dokusunda meydana getirdiği olumlu etkileri anti-oksidan özelliğinden dolayı osteoklastların kemik yıkımında,

kullandığı enzimleri inhibe ettiğini düşünmekteyiz. Melatonin postmenopozal osteoporozun tedavisinde kullanılabileceğini ancak, normal ovaryum fonksiyonlarına sahip kadınlarda kontrendike olabileceğini düşünmekteyiz. Kemik iğne biyopsisini ve morfolometrik analizlerin osteoporozun teşhisinde yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.



SUMMARY

The results of the in vitro and in vivo studies indicated that melatonin influences osteoblast (OB) and osteoclast (OC) activation and bone formation. Initial studies demonstrated that exogene application of this hormone prevents osteoporosis in biochemical and densitometric analysis.

To investigate the histomorphometric effects of melatonin on bone formation and remodeling on ovariectomized rats, total of 45 female rats with control group (gr) (C, n=5); A gr (n=10 ovariectomy-ovx); B gr (n=10 ovx+10mg/kg/day); C gr (n=10 ovx+30mg/kg/day); S gr (n=10 sham operated+10mg/kg/day) were used. Bone mineral density (BMD) measurements were taken at 8. week post operation and repeated at 12. weeks later. Hydroxyproline analysis were made on vertebrae and femurs at 12. week. Hematoxyline-Eosine and Masson's trichrom dyed cross sections prepared from the femurs and L₁-L₅ vertebrae were examined through the light microscope. Histomorphometry, trabecular thickness (TT), trabecular area (TA), cortex thickness (CT), osteoid volume (OV), osteoblast (OB) and osteoclast (OC) numbers per area was done with a semiautomatic image analysis system.

In TT and TA in the femur and vertebra additionally in the femur CT a noticeable decrease in the A gr's compared to control gr's; an increase in the B and C gr's compared to A gr's was observed ($p < 0.003$). The values of B and C gr's were close to control gr ($p > 0.003$). We could not find any difference of TT, TA, CT, OV between B and C gr's receiving melatonin treatment. In the S gr TT, TA were higher than A, B and C gr's ($p < 0.003$); slightly lower than the control gr. While the trabecular numbers per area in femur and vertebra following ovariectomy were decreasing, it was increasing during melatonin treatment. This increase was statistically meaningless ($p > 0.003$). No meaningful difference among groups in the analysis of hydroxyproline and in the OC and OB numbers per area was registered. A significant decrease in BMD was caused by ovariectomy, however, the conclusion was that melatonin treatment did not change the results. These data show that melatonin was not effective on the increase of osteoblastic activity.

Finally, we think that these positive effects occurring in the bone tissue is displayed through inhibition of osteoclastic enzymes by melatonin, which is a strong anti-oxidant. In conclusion, melatonin can be used as a treatment agent in

postmenopausal osteoporosis, however, it is counterindicative with women having normal ovary functions. Bone needle biopsy is a useful application in diagnosing of osteoporosis.



KAYNAKLAR:

1. Aguada, F., Revilla, M., Villa, L.F., Rico, H., 'Cortical bone resorption in osteoporosis', *Calcif Tissue Int* 60 (1997), s. 623-326.
2. Amin, A.S., Zaky, M., El-Beshbeshy, A.M., 'Colorimetric estimation of melatonin in pharmaceutical formulation', *Mikrochimica Acta*,135, (2000), s. 81-85.
3. Anderson, J.M., Bancroft, J.D., High, O.B.B., Bourne, L.D., Bradbury, P.,et all,'Theory and Practice of Histological Techniques', USA: Churchill Livingstone 1990, s. 21-342.
4. Atastü, T., Özekinci, Ü., Hekin, N., Menopoz-Tedavisi ve Kanser, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2001, s. 13-565.
5. Bagi, C.M., DeLeon, E., Ammann, P., Rizolli, R., Miller, S.C., 'Histology of the proximal femur in rats:impact of ovariectomy on bone mass, structure, and stiffness', *Anat Rec*, 245, 4, (1996) s. 633-644.
6. Baldock, P., Moore, R.J., Durbridge, T.C., Morris, H.A., 'Comparison of three methods for estimation of bone resorption following ovariectomy in the distal femur and the proximal tibia of the rat', *Bone*, 24, 6, (1999), s. 597-602.
7. Başdemir, G., İliyak Kemikte Yaşa Bağlı Değişiklikler, Uzmanlık Tezi (1988), 33-36 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı İzmir.
8. Beck, W.W., NMS-Obsterics and Gynecology, USA:William & Wilkins, 1997, s.391-408.
9. Bergman, I., Loxely, R., "Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline", *Analytical Chemistry*, 35, 12 (1963), s. 1961-1965.
10. Berkow, R., Bondy, P.K., Dilts, P.V., Douglas, R.G., Drossman, D.A., et all, 'The Merck Manual', Rahway, N.J:Merck & Co INC, 1992, s. 1357-1366.
11. Zlaicher, W., Speck, E., Imhof, M.H., Gruber, D.M., Schneeberger, C., Sator, M.O., Huber, J.C., 'Melatonin in postmenopausal females', *Arch Gynecol Obstet*, 263, (2000),s. 116-118.

12. Borel, J.P., Maquart, F.X., Randoux, A., 'Hormonal control of the metabolism of collagen', *Pathol Biol (Paris)*, 32, 7, (1984) s. 795-812.
13. Bord, S., Horner, A., Beavan, S., Compston, J., 'Estrogen receptors α and β are differentially expressed in developing human bone', *The Journal of Endocrinology & Metabolism*, 88, 5, (2001), s. 2309-2314.
14. Braun, E.B., Dekalsifiye Kesitlerin Hazırlanması, Ed. Aktener, O., Cengiz, T., İzmir: Ege Üniversitesi Basım Evi, 1984, s. 29-100
15. Brincat, M., Galca, R., Baron, Y.M., Xuereb, A., 'Changes in bone collagen markers and in bone density in hormone treated and untreated postmenopausal women', *Maturitas J of The Climacteric & Postmenopause*, 27, (1997), s. 171-177.
16. Burger, L.L., Dalkin, A.C., Aylor, K.W., Workman, L.J., Haisenleder, D.J., Marshall, J.C., 'Regulation of gonadotropin subunit transcription after ovariectomy in the rat: Measurement of subunit primary transcription reveals differential roles of GnRH and inhibin', *Endocrinology*, 142, 8, (2001), s. 3435-3442.
17. Burguera, B., Hofbauer, L.C., Thomas, T., Gori, F., Evans, G.L., Khosla, S., Riggs, B.L., Turner, R.T., 'Leptin reduces ovariectomy-induced bone loss in rats', *Endocrinology*, 142, 8, (2001), s. 3546-3553.
18. Cagnacci, A., Arangino, S., Angiolucci, M., Melis, G.B., Tarquini, R., Renzi, A., Volpe, A., 'Different circulatory response to melatonin in postmenopausal women without and with hormone replacement therapy', *J Pineal Res*, 29, (2000), s. 152-158.
19. Champe, P.C., Harvey, R.A., *Biochemistry*, Philadelphia: J.B. Lippincott, 1997, s. 265-268.
20. Chen, J.L., Yao, W., Frost, H.M., Li, C.Y., Setterberg, R.B., Jee, W.S.S., 'Bipedal stance exercise enhance antiresorption effects of estrogen and counteracts its inhibitory effect on bone formation in sham and ovariectomized rats', *Bone*, 29, 2, (2001), s. 126-133.
21. Everts, V., Delaissé, J.M., Korper, W., Jansen, D.C., Tigchelaar-Gutter, W., Saftig, P., Bertsen, W., 'The bone lining cell: its role in cleaning howship's lacunae and initiating formation', *Journal Of Bone And Mineral Research*, 17, (2002), s. 77-90.

22. Fawcet, D.W., Jensch, R.P., Concise Histology, USA: Chapman & Hall, 2001, s. 70-79
23. Gartner, L.P., Hiatt, J.L., Color Textbook of Histology Canada: W.B. Saunders Company, 2001, s. 134-154.
24. Göksoy, T., Osteoporozda Tanı Ve Tedavi, İstanbul:Bi:medya Grup, 2000, s. 33-44, 307-430.
25. Gridley, M.F., Laboratuvar El Kitabı, Ed. Aker, O.N., Ankara: Örnek Matbaası, 1954, s. 48-50
26. Guyton, A.C., Hall, J.E., Medical Physiology, Canada: W.B. Saunders, 1996, s. 938-943, s. 989-998
27. Ilanyu, T., Chotanaphuti, T., Arai, K., Tanaka, T., Takahashi, H.E., 'Histomorphometric assessment of bone changes in rats with type II collagen-induced arthritis', Bone, 24, 5, (1999), s. 485-490.
28. Johnson, K.E., Histology and Embryology, USA: A Wiley Medical Publication, 1984, s. 53-57
29. *Jones III, H.W., Wentz, A.N., Burnett, L.S., Novak's Textbook of Gynecology, Baltimore: Williams & Wilkins, 1988, s. 397-429.
30. Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O., Basic Histology, Lange Medical Book, 8. edition, 1998, s. 132-148.
31. *Kabalak, T., Yılmaz, C., Tüzün, M., Endokrinoloji El Kitabı, İzmir: İzmir Güven & Nobel Tıp Kitabevleri, 2001, s. 263-368.
32. Kabuto, H., Yokoi, I., Ogawa, N., 'Melatonin inhibits iron-induced epileptic discharges in rats by suppressing peroxidation', Epilepsia, 39, 3 (1998), 237-243.
33. Kalu, D.N., 'Evolution of the pathogenesis of postmenopausal bone loss', Bone, 17, 4, (1995), s. 135S-144S.
34. Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, Missouri: Mosby, 1996, s. 528-554.
35. Kauppila, A., Kivela, A., Pakarinen, A., Vakkuri, O., 'Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity', Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 65, 5, (1987), s. 823-828.
36. Khastgir, G., Studd, J., Holland, N., Alagband-Zadeh, J., Fox, S., Chow, J., 'Anabolic effect of estrogen replacement on bone in postmenopausal

- women with osteoporosis: Histometric evidence in a longitudinal study', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86, 1, (2001), s. 289-295.
37. Knott, L., Bailey, A.J., 'Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function, and clinical relevance', *Bone*, 22, 3, (1998), s. 181-187.
38. Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., *Basic Pathology*, Canada: W.B. Saunders Company, 1992, s. 682-684.
39. Kusuzaki, K., Kageyama, N., Shinjo, H., Takeshita, H., Murata, H., Hashiguchi, S., Ashihara, T., Hirasawa, Y., 'Development of bone canaliculi during bone repair', *Bone*, 27, 5, (2000), s. 655-659.
40. Ladizesky, M.G., Cutrera, R.A., Boggio, V., Somoza, J., Centrella, J.M., Mautalen, C., Cardinali, D.P., 'Effect of melatonin on bone metabolism in ovariectomized rats', *Life Science*, 70, (2001), s. 557-565.
41. Leeson, T.S., Leeson, C.R., Paparo, A.A., *Text Atlas of Histology*, Canada: W.B. Saunders Company, 1988, s. 168-189.
42. Liberman, U.A., Weiss, S.R., Bröll, J., Minne, H.W., Quan, H., et al., 'Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis', *The New England Journal of Medicine*, 333, 22, (1995), s. 1437-1443.
43. Lin, A.M., Ho, L.T., 'Melatonin suppresses iron-induced neurodegeneration in rat brain', *Free Radical Biology & Medicine*, 28, 6, (2000), s. 904-911.
44. Manolagas, S.C., 'Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanism and implication for the pathogenesis and treatment of osteoporosis', *Endocrine Reviews*, 21, 2, (2000), s. 115-137.
45. Martel, C., Sourla, A., Pelletier, G., Labrie, C., Fournier, M., Picard, S., Li, S., Stojanovic, M., Labrie, F., 'Predominant androgenic component in the stimulatory effect of dehydroepiandrosterone on bone mineral density in the rat', *Journal of Endocrinology*, 157, (1998), s. 433-442.
46. Martinet, L., Guardiola-Lemaitre, B., Mocaer, E., 'Entrainment of circadian rhythms by S-20098, a melatonin agonist, is dose and plasma concentration dependent', *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 54, 4, (1996), s. 713-718.

47. Martinez, M.E., Medina, S., del Campo, M.T., Sánchez-Cabezudo, M.J., Munuera, L., 'Effect of polyethylene on osteocalcin, alkaline phosphatase and procollagen secretion by human osteoblastic cells', *Calcified Tissue International*, 62, (1998), s. 453-456.
48. Mazzuoli, G., Acca, M., Pisanì, D., Diacinti, D., Scarda, A., Scarnecchia, L., Pacitti, M.T., D'Erasmus, E., Minisola, S., Bianchi, G., Manfredi, G., 'Annual skeletal balance and metabolic bone marker changes in healthy early postmenopausal women: Results of a prospective study', *Bone*, 26, 4, (2000), s. 381-386.
49. Mocchegiani, F., Santarelli, L., Tibaldi, A., Muzzioli, M., Bulian, D., Cipriano, K., Olivieri, F., Fabris, N., 'Presence of links between zinc and melatonin during the circadian cycle in old mice: effects on thymic endocrine activity and on the survival', *Journal of Neuroimmunology*, 86, (1998), s. 111-122.
50. Mori, H., Genant, H.K., 'Statement on the diagnosis and management of osteoporosis from the consensus development conference at the second international conference on osteoporosis, Osaka 1997', *J Bone and Mineral Metabolism*, 16, (1998), s. 206-214.
51. Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W., Harper's *Biochemistry, USA: Appleton & Lange*, 1990, s. 387-394.
52. Murphy, M.G., Weiss, S., McClung, M., Schnitzer, T., Cerchio, K., Connor, J., Kruppa, D., Gertz, B.J., 'Effect of alendronate and MK-677 (a growth hormone secretagogue), individually and in combination, on markers of bone turnover and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women', *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86, 3, (2001), s. 1116-1125.
53. Nakade, O., Koyama, H., Aji, H., Yajima, A., Kaku, T., 'Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro', *Journal of Pineal Research*, 27, (1999), s. 106-110.
54. Ohta, T., Azuma, Y., Eguchi, H., Arita, M., Hosoda, K., Tsukamoto, Y., Nakamura, T., 'Measurement of intact rat osteocalcin in osteoblast (ROS17/2,8) cells and in ovariectomized rats with a sandwich enzyme immunoassay', *Calcified Tissue International*, 59, (1996), s. 283-290.

55. Okatani, Y., Morioka, N., Wakatsuki, A., 'Changes in nocturnal melatonin secretion in perimenopausal women: Correlation with endogenous estrogen concentration', *J Pineal Res*, 28, (2000), s. 111-118.
56. Okatani, Y., Hayashi, K., Watanabe, K., Morioka, N., Sagara, Y., 'Effect of estrogen on melatonin synthesis in female peripubertal rats', *J Pineal Res*, 24, (1998), s. 67-72.
57. Ostrowska, Z., Kos-Kudła, B., Marek, B., Swietochowska, E., Górski, J., 'Assessment of the relationship between circadian variations of salivary melatonin levels and type I collagen metabolism in postmenopausal obese women', *Neuroendocrinology letters*, 22, (2001), s. 121-127
58. Ostrowska, Z., Kos-Kudła, B., Swietochowska, E., Marek, B., Kajdaniuk, D., Górski, J., 'Assessment of the relationship between dynamic pattern of nighttime levels of melatonin and chosen biochemical markers of bone metabolism in a rat model of postmenopausal osteoporosis', *Neuroendocrinology Letters*, 22, (2001), s. 129-136
59. Parfitt (Chairman), A.M., Drezner, M.K., Glorieux, F.H., Kanis, J.A., Malluche, H., Meunier, P.J., Ott, S.M., Recker, R.R., 'Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols, and units', *Journal of Bone and Mineral Research*, 2, 6, (1987), s. 595-609.
60. Perinpanayagam, H., Zaharias, R., Stanford, C., Brand, R., Keller, J., Schneider, G., 'Early cell adhesion events differ between osteoporotic and non-osteoporotic osteoblasts', *J Orthop Res*, 19, 6, (2001), s. 993-1000.
61. Rasmussen, D.D., Mitton, D.R., Larsen, S.A., Yellon, S.M., 'Ageing-dependent changes in the effect of daily melatonin supplementation on rat metabolic and behavioral responses', *J Pineal Res*, 31, (2001), s. 89-94.
62. Reiter, R.J., 'The ageing pineal gland and its physiological consequences', *BioEssays*, 14, 3, (1992), s. 169-175.
63. Reppert, S.M., 'Maternal melatonin: a source of melatonin for the immature mammal', *Melatonin Rhythm Generating System Int Symp*, Bethesda, 1981, (Karger, Basel 1982), s. 182-192.
64. Rosen, C.J., Bilezikian, J.P., 'Anabolic therapy for osteoporosis', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86, 3, (2001), s. 957-964.

65. Ross, M.H., Romrell, L.J., *Histology A Text And Atlas*, USA: Williams & Wilkins 1989, s. 141-178.
66. Roth, J.A., Kim, B.G., Lin, W.L., Cho, M., 'Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation', *The Journal of Biological Chemistry*, 274, 31, (1999), s. 22041-22047.
67. Sandyk, R., Anastasiadis, P.G., Anninos, P.A., Tsagas, N., 'Is postmenopausal osteoporosis related to pineal gland functions?', *Intern J Neuroscience*, 62, (1992), s. 215-225.
68. Sarrafzadeh, A.S., Thomale, U.W., Kroppenstedt, S.N., Unterberg, A.W., 'Neuroprotective effect of melatonin on cortical impact injury in the rat', *Acta Neurochirurgica*, 142, (2000), s. 1293-1299.
69. Sasaki, N., Sudah, Y., 'X-ray pole figure analysis of apatite crystals and collagen molecules in bone', *Calcif Tissue Int*, 60, (1997), s. 361-367.
70. Schmid, H.A. 'Decreased melatonin biosynthesis, calcium flux, pineal gland calcification and aging: a hypothetical frame work', *Gerontology*, 39, (1993), s. 189-199.
71. Scott, R.J., Hammond, C.B., Disara, P.J., Spellacy, W.N., 'Danforth's *Obstetrics and Gynecology*', Philadelphia: J.B. Lippincott, 1990, s 861-865.
72. Seeley, R.R., Stephens, T.D., Tate, P., *Anatomy & Physiology*, USA: The McGraw-Hill Companies, 1998, s. 155-175.
73. Snell, S.R., *Clinical Neuroanatomy for Medical Students*, USA: Lippincott-Williams & Wilkins, 2000, s. 240-245.
74. Sommerfeldt, D.W., Rubin, C.T., 'Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton', *Eur Spine J*, 10, (2001), s. S86-S95.
75. Speroff, L., Glass, R.H., Kase, N.G., *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1989, s.121-163
76. Speroff, L., Glass, R.H., Kase, N.G., *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1989, s.51-89.
77. Stavros, C.M., 'Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanism and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis', *Endocrine Reviews*, 21, 2, (2000), s. 115-137.
78. Stevens, J.C., Marsh, M.S., *An Atlas of Osteoporosis*, USA: Atlas Medical Publishing Ltd, 1999.

79. Stevenson, J.C.,Lowe, J. S., Human Histology, Spain: Mosby, 1997, s. 234-247
80. Sugden, D., 'Phychofarmacological effects of melatonin in Mouse and rat', The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 227, 3, (1983), s. 587-591.
81. Takeda, S., Karsenty, G., 'Central control of bone formation', J Bone Miner Metab, 19 (2001), s. 195-198.
82. Tekelioğlu, M.,Genel Tıp Histolojisi, İstanbul: Beta Basın Yayın Dağıtım A.Ş, 1998, s. 144-152
83. Tzaphlidou, M., Kafantari, H., 'Influence of Nutritional factors on bone collagen fibrils in ovariectomized rats', Bone, 27, 5, (2000), s. 635-638.
84. Üstündağ, B.,Canatan, H., 'melatonin:Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici', Fırat Tıp Dergisi, 1, (1999), s. 502-512.
85. Väänänen, H.K., Härkönen, P.L., 'Estrogen and bone metabolism', Maturitas J of The Climacteric & Postmenopause, 23, suppl, (1996), s. S65-S69.
86. Vakkuri, O., Kivelä, A., Leppäluoto, J., Valtonen, M., Kauppila, A., 'Decrease in melatonin precedes follicle-stimulating hormone increase during perimenopause', European Journal of Endocrinology, 135, (1996), s. 188-192.
87. Williams, P.L., Warwick, R., Dyson, M., Bannister, L.H., Gray's Anatomy, New York: Churchill Livingstone, 1989, s. 268-336, s. 1013-1457.
88. Wolden-Hanson, T., Mitton, D.R., McCants, R.L., Yellon, S.M., Wilkinson, C.W., Matsumoto, A.M., Rasmussen, D.D., 'Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat', Endocrinology, 141, 2, (2000), 487-497.
89. Worth, B., Endocrine Pathology, London: Williams & Wilkins, 1982, s. 133-153.
90. Wynsberghe, D.V., Noback, C.R.,Carola, R., Human Anatomy and Physiology, USA: McGraw-Hill, 1995, s. 156-215
91. Young, B., Heath, J.W., Wheater's Functional Histology, Sydney: Churchill Livingstone, 2000, s. 175-188.

92. Yurtsevsen, M., Aktuđ, H., S.M.Y.O. için Laboratuar Uygulama Kitabı, İzmir: Bornova Can Matbaası, 2002, s. 9-11.
93. Yuwiler, A., 'Sympathetic innervation of the pineal gland: effect of thyroxine and cortisol', Melatonin Rhythm Generating System Int Symp, Bethesda, 1981, (Karger, Basel 1982), s. 42-61.



ÖZGEÇMİŞ

10. 03. 1975 Kayseri’de doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi İstanbul’da yaptım.

1992 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandım. 1997 yılında Biyolog ünvanı ile mezun oldum.

1997-1999 yılları arasında Bristol Myers-Squibb İlaçları İnc.’te Tıbbi Satış Mümessiliği yaptım.

1999 yılında evlilik nedeniyle İzmir’e yerleştim. Aynı yıl Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalının açmış olduğu yüksek lisans sınavını kazanarak, bir yıl Ege Üniversitesi Yabancı Diller Bölümünde İngilizce hazırlık okudum.

2000 yılında yüksek lisans eğitimine başladım. Halen aynı Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.