

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VAN-YL-2006-0001

**TAVŞAN FEMUR'UNUN MORFOMETRİK VE
BİYOMEKANİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
OVARIEKTOMİNİN ETKİSİ**

HAZIRLAYAN: Araş. Gör. Figen SEVİL

DANIŞMAN: Doç. Dr. M. Erkut KARA

AYDIN-2006

ÖZ

Bu çalışmada altı aylık 24 adet Yeni Zelanda ırkı dişi tavşan kullanıldı. Hayvanlar iki gruba ayrıldı, bir gruba (12 adet) ovariektomi uygulanırken, diğer grupta (12 adet) karın boşluğu açılıp tekrar kapatılarak yalancı operasyon uygulandı. Operasyonu takiben ikinci ve dördüncü aylarda her gruptan altı adet hayvanın önce anestezi altında DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümü yapıldı. Daha sonra aynı hayvanların femur'ları diseke edilip çıkartılarak kemik yoğunluğu ölçümü tekrarlandı. Bu kemiklerin dış morfometrik verileri kumpas yardımıyla, kemik kesitine ilişkin morfometrik verileri ise bilgisayarlı tomografiden elde edilen kesit görüntülerinden AutoCAD programı yardımıyla alındı. Son olarak corpus femoris'te "üç nokta eğme testi" ve femur'un distalinden hazırlanan trabeküler kemik örneklerinde "indentasyon testi" uygulandı. Bu çalışma ile postmenopozal osteoporozla ilişkili tanı ve tedavi yöntemlerinde hayvan modeli olarak tavşan kullanacak araştırmacılar için gerekli olan kemik yoğunluğu, biyomekanik, morfometrik değerleri sunuldu.

Anahtar kelimeler: Tavşan, femur, kemik yoğunluğu, biyomekanik, morfometrik

ABSTRACT

In this study, 24 New Zealand rabbits at six months age were used. The 12 animals were ovariectomized and the other 12 animals were sham group. In two and four months after the operation bone mineral density was evaluated by DEXA (Ge Lunar DPX Pro) under the general anesthesia in the six animals from each group. Then the animals were sacrificed and the bone mineral density was reevaluated by DEXA on the femur. The morphometric measurements of femur were taken with the aid of digital calipers while the cross sectional measurements were taken with the aid of AutoCAD program by using images of computed tomography. For the biomechanical properties, the indentation test was applied to the cancellous bone samples from condylus femoris while the three-point bending testing was applied to the cortical bone of corpus femoris. The results of the study presented the bone mineral density, biomechanic and morphometric values of the femur for the researchers who may use the rabbits as an animal model in diagnosis and treatment methods for the primer osteoporosis.

Key words: Rabbit, femur, bone density, biomechanic, morphometric

İÇİNDEKİLER

ÖZ, ABSRACT	i
ÇİZELGELER LİSTESİ	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
KISALTMALAR	v
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLE İLGİLİ YAPILMIŞ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1 Kemik Dokunun Özellikleri	3
2.1.1 Kemiğin morfolojik özellikleri	3
2.1.2 Kemiğin fizyolojik özellikleri	6
2.1.3 Kemiğin biyomekanik özellikleri	11
2.1.3.1 Biyomekanikte kullanılan terminoloji	12
2.1.3.2 Kortikal ve trabeküler kemiğin biyomekanik özellikleri	16
2.1.3.3 Kemiğin biyomekanik özelliklerinin test edilmesi	18
2.1.3.3.1 Biyomekanik testler için örnek hazırlanması	18
2.1.3.3.2 Biyomekanik test metotları	20
2.1.3.3.2.1 Çekme (tensil) testi	20
2.1.3.3.2.2 Basma (compression) testi	21
2.1.3.3.2.3 Eğme (bending) testi	21
2.1.3.3.2.4 Burma (torsion) testi	22
2.1.3.3.2.5 Indentasyon testi	23
2.1.3.3.2.6 Diğer test metotları	23

2.2 Osteoporoz	24
2.2.1 Osteoporoz hakkında genel bilgi	24
2.2.2 Osteoporoz çalışmalarında kullanılan hayvan modelleri	25
2.2.2.1 Rat	26
2.2.2.2 Fare	27
2.2.2.3 Köpek	28
2.2.2.4 Domuz	28
2.2.2.5 Koyun	28
2.2.2.6 Primat	29
2.2.2.7 Kanatlı hayvanlar	29
2.2.2.8 Gelincik	29
2.2.2.9 Kedi	30
2.2.2.10 Kobay	30
2.2.2.11 Tavşan	30
2.2.3 Osteoporozda tanı yöntemleri	32
2.2.3.1 Biyokimyasal tanı yöntemleri	32
2.2.3.2 Kemiğin histolojik ve geometrik özelliklerinin incelenmesi	34
2.2.3.3 Kemik yoğunluğunun ölçülmesi	35
2.2.3.3.1 Röntgen	36
2.2.3.3.2 Kantitatif kompüterize tomografi (QCT)	37
2.2.3.3.3 Kantitatif ultrasonografi (QUS)	38
2.2.3.3.4 Magnetik rezonans (MR)	39
2.2.3.3.5 Tek fotonlu absorpsiyometri (SPA)	39
2.2.3.3.6 Çift fotonlu absorpsiyometri (DPA)	40
2.2.3.3.7 Tek enerjili X ray absorpsiyometri (SXA)	40
2.2.3.3.8 Çift enerjili X ray absorpsiyometri (DXA, DEXA)	40
3. MATERYAL VE METOT	43

3.1 Materyal	43
3.2 Metot	44
3.2.1 Operasyon	45
3.2.2 Biyokimyasal analizler	46
3.2.3 Kemik mineral yoğunluğu ölçümü	46
3.2.4 Kemik materyalin hazırlanması	50
3.2.5 Morfometrik ölçümler	51
3.2.6 Biyomekanik testler	54
3.2.7 Kemikte kül analizi	57
3.2.8 İstatistiksel yöntem	58
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	59
4.1 Araştırma Bulguları	59
4.1.1 Genel bulgular	59
4.1.2 Biyokimya bulguları	60
4.1.3 Kemik mineral yoğunluğu bulguları	61
4.1.4 Morfometrik bulgular	65
4.1.5 Biyomekanik test bulguları	68
4.1.6 Kemik kül analizi bulguları	70
4.2 Tartışma	72
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
6. ÖZET	88
7. SUMMARY	89
8. TEŞEKKÜR	90
9. KAYNAKLAR	91
10.ÖZGEÇMİŞ	103

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Cizelge numarası</u>	<u>Cizelge açıklaması</u>	<u>Sayfa numarası</u>
Çizelge 1	Genel biyomekanik terimleri	13
Çizelge 2	Yetişkin tavşan yemi içeriği	43
Çizelge 3	Canlı hayvanda ve diseke edilmiş femur'larda kemik yoğunluğu ölçümüne ilişkin %CV değerleri	50
Çizelge 4	İki aylık gruplarda hayvanların çalışma başlangıcı (1.Tartım), bir ay sonrası (2.Tartım) ve iki ay sonrası (3.Tartım)'ndaki canlı ağırlıkları (gr)	59
Çizelge 5	Dört aylık gruplarda hayvanların çalışma başlangıcı (1.Tartım), bir ay sonrası (2.Tartım), iki ay sonrası (3.Tartım), üç ay sonrası (4. Tartım) ve dört ay sonrası (5.Tartım)'ndaki canlı ağırlıkları (gr).	60
Çizelge 6	Operasyon öncesi ve iki ile dört aylık gruplarda elde edilen biyokimyasal değerler	61
Çizelge 7	İki aylık gruplarda canlı hayvanlardan alınan kemik mineral yoğunluğu (BMD), kemik mineral içeriği (BMC) ve kemik alanı (BA) ölçümleri.	62
Çizelge 8	İki aylık gruplarda diseke edilmiş kemiklerden alınan kemik mineral yoğunluğu (BMD), kemik mineral içeriği (BMC) ve kemik alanı (BA) ölçümleri	63
Çizelge 9	Dört aylık gruplarda canlı hayvanlardan alınan kemik mineral yoğunluğu (BMD), kemik mineral içeriği (BMC) ve kemik alanı (BA) ölçümleri.	64
Çizelge 10	Dört aylık gruplarda diseke edilmiş kemiklerden alınan kemik mineral yoğunluğu (BMD), kemik mineral içeriği (BMC) ve kemik alanı (BA) ölçümleri	65
Çizelge 11	İki aylık gruplarda digital kumpas ile alınan ölçümler	65
Çizelge12	İki aylık gruplarda tomografi kesit görüntülerinden alınan ölçümler	66

<u>Çizelge numarası</u>	<u>Çizelge açıklaması</u>	<u>Sayfa numarası</u>
Çizelge13	Dört aylık gruplarda digital kumpas ile alınan ölçümler	67
Çizelge14	Dört aylık gruplarda tomografi kesit görüntülerinden alınan ölçümler	67
Çizelge15	İki aylık gruplarda tomografi kesitlerinden hesaplanan atalet momenti değerleri	68
Çizelge 16	Dört aylık gruplarda dönemde tomografi kesitlerinden hesaplanan atalet momenti değerleri	68
Çizelge 17	İki aylık gruplarda üç nokta eğme testi sonucunda elde edilen veriler	69
Çizelge18	Dört aylık gruplarda üç nokta eğme testi sonucunda elde edilen veriler	69
Çizelge 19	İki aylık gruplarda indentasyon testi sonucunda elde edilen veriler	70
Çizelge 20	Dört aylık gruplarda indentasyon testi sonucunda elde edilen veriler	70
Çizelge 21	İki aylık gruplarda kemiklerden elde edilen küldeki kalsiyum, fosfor ve % kül miktarı değerleri	71
Çizelge 22	Dört aylık gruplarda kemiklerden elde edilen küldeki kalsiyum, fosfor ve %kül miktarı değerleri	71

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil numarası</u>	<u>Sekil açıklaması</u>	<u>Sayfa numarası</u>
Şekil 1	Tavşanda ovarium'un görünümü	45
Şekil 2	Kemik yoğunluğu ölçüm cihazı ve ön kol aparatı	47
Şekil 3	Tavşanlarda dansite çekim pozisyonu (A), ayaklarının sabitlenmesi (B).	47
Şekil 4	Anestezi altındaki tavşan femur'larında kemik yoğunluğu ölçümü	48
Şekil 5	Diseke edilmiş tavşan femur'larında kemik yoğunluğu ölçümü	49
Şekil 6	Femur'dan kumpas ile alınan ölçümler; Fmu : Femur'un maximum uzunluğu, Fu : Femur uzunluğu, Fpg : Femur'un proximal genişliği, Fdg : Femur'un distal genişliği.	51
Şekil 7	Kesit görüntülerinden Autocad yardımı ile yapılan ölçümler.; X eksenini (EÇ_X) ve Y eksenini (EÇ_Y) doğrultusunda endosteal çap, X eksenini (PÇ_X) ve Y eksenini (PÇ_Y) doğrultusunda periosteal çap, lateral'de (LC), medial'de (MC), cranial'de (CrC) ve caudal'de (CaC) substantia compacta'nın (korteks) kalınlığı ölçümleri.	52
Şekil 8	Kesit görüntülerinden cavum medullare (CMA), substantia compacta'nın alanı (SCA), total alan (TA) hesaplanması.	53
Şekil 9	Bir femurda kemiğin yüklenme ve mesnet noktaları	55
Şekil 10	Biyomekanik test cihazı (A), üç nokta eğme aparatı (B) ve femur'da üç nokta eğme testi (C).	55
Şekil 11	Biyomekanik test cihazı (A), indentasyon testinin uygulanması (B) ve test uygulanmış kemik örneğinin görünümü (C).	57

KISALTMALAR

ALP	Alkalen fosfatase
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
BA	Kemik alanı
BMC	Kemik mineral içeriği
BMD	Kemik mineral yoğunluğu
BMU	Kemik multicelluler ünitesi
BRU	Kemik remodelling ünitesi
BSU	Kemik strüktürel ünitesi
BV	Kemik hacmi
Ca	Kalsiyum
CTX	C- terminal telopeptit
CV	Varyasyon kat sayısı
DPA	Dual photon absorptiometry
DXA , DEXA	Dual energy X ray absorptiometry
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
HCl	Hidroklorik asit
HU	Hounsefield Unit
I	Atalet momenti
KBT, QCT	Kantitatif kompüterize tomografi
KUS, QUS	Kantitatif ultrasonografi
MR	Magnetik rezonans
NaCl	Sodyum klorür
NTX	N- terminal telopeptit
PMMA	Polymetilmetacrilat
RIA	Radioimmunoassay
SPA	Single photon absorbtometry
SXA	Single energy X ray absorptiometry

1. GİRİŞ

Osteoporoz, kemik kütlesinde azalma ile aynı anda gelişen yapısal bozulmalar sonucu, kemik kırılabilirliğinde artış ile seyreden sistemik bir iskelet sistemi hastalığıdır (Ammann and Rizzolli, 2003; WHO, 2003; Egermann et al., 2005). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre sadece Avrupa, Japonya ve Amerika Birleşik Devletlerinde 75 milyondan fazla insanı etkileyen osteoporoz hastalığı, özellikle postmenopozal dönemde olmak üzere yıllık ortalama 2,3 milyon kırık olgusuna neden olan en önemli halk sağlığı sorunlarından birisidir (WHO, 2003). Son yıllarda osteoporoz tanı ve tedavisindeki gelişmeler büyük oranda ovariektomize hayvan modellerinin kullanılmasıyla ilişkilidir. Günümüzde kullanılan birçok hayvan modeli çalışma sonuçları insanlardaki verilerle uyum sağlamakla birlikte, postmenopozal osteoporozu tek başına tam olarak taklit edebilen bir hayvan modeli yoktur (An and Friedman, 1999). Çeşitli ortopedik çalışmalarda en fazla kullanılan hayvan olan tavşanlarda osteoporoz ile ilgili çalışmaların çok yetersiz olduğu konu ile ilgili tüm temel kaynaklarda belirtilmektedir (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner, 2001; Kimmel, 2002)

Deneysel çalışmalarda kullanılacak hayvan modelinin öncelikle standart verilerinin çok yönlü olarak ortaya konulması gerekmektedir. Aksi durumda hem yapılacak deneysel çalışmalarda elde edilen verilerin değeri tartışmalı olacak hem de bu amaçla kullanılacak hayvan ve sarf edilecek emek açısından gereksiz kayıplar ortaya çıkacaktır. Osteoporoz sonuçta kırıklara yol açan bir hastalık olduğu için konuya ilişkin çalışmalarda da temel parametre kemiğin dayanımı olmaktadır. Kemiğin dayanımını, kemik yoğunluğu ile birlikte kemiğin geometrik ve morfolojik özellikleri belirler. Bu tür çalışmalarda da kemik yoğunluğu ve biyomekanik özellikleri değerlendirilirken, kemiğin geometrik ve morfolojik özelliklerinin de birlikte değerlendirilmesi daha güvenilir sonuçları ortaya koymaktadır.

Yapılan literatür taramasında ovariektomize tavşan modeline ilişkin bu şekilde detaylı verilerin tam anlamıyla sunulduğu bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada ovariektomize tavşan femur'una ilişkin kemik yoğunluğu, biyomekanik, geometrik ve morfometrik özellikler incelenerek kontrol ve ovariektomi gruplarında oluşan farklılıklar incelenmiştir. Bu bilgiler işığında ileride osteoporoz tedavisinde kullanılacak ilaç ve osteoporozlu kemiklerde yapılacak ortopedik araştırmalarda kullanılabilmesi için ovariektomize tavşanlara ilişkin değerlerin sunulması amaçlanmıştır.

Not: Bu alışma ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (VTF-06011) tarafından desteklenmiştir.

2. KONU İLE İLGİLİ YAPILMIŞ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Kemik Dokunun Özellikleri

Kemik doku, dişlerin enamelum ve dentinum katmanlarından sonra organizmadaki en sert dokudur. Kemik, merkezi sinir sistemi, akciğerler, kalp ve kemik iliği gibi hayati organlar için koruyucu bir boşluk oluşturan, yumuşak dokulardan meydana gelmiş yapıları destekleyen ve kasların çalışması için kuvvetli bir kaldıraç vazifesi gören yapısal bir materyaldir. Ayrıca vücut sıvılarındaki kalsiyum, fosfor gibi bazı iyon konsantrasyonlarının sabit kalabilmesi için, bu iyonların kontrollü olarak serbest hale getirilebilmelerini veya depolanabilmelerini sağlar (Arda,1993; Özer ve arkadaşları, 1997).

2.1.1 Kemiğin morfolojik özellikleri

Kemik doku, mineralize olmuş hücreler arası temel madde ve özelleşmiş kemik hücrelerinden meydana gelen bir destek dokusudur. Diğer destek dokularda olduğu gibi, kemik dokusunda da hücreler azınlıktadır; dokunun esasını matriks adı verilen temel madde oluşturur. Temel maddenin organik kısmını kemik proteinlerinin yaklaşık %90-95'ini kapsayan tip I kollajen iplikler oluşturur. Geriye kalan %10'u, osteonectin, osteocalcin, phosphoproteinler, sialoprotein, büyüme faktörleri ve kan hücreleri gibi yapısal olmayan proteinlerin oluşturduğu şekilsiz temel maddeden meydana gelir. Kemik dokuya sertlik kazandıran inorganik maddeler ise kalsiyum fosfat (%80-85), kalsiyum karbonat (%10), kalsiyum florid, magnezyum florid, hidroksit ve sülfat bileşiklerinden (%5) oluşur. Kalsiyum ve fosfor, hidroksiapatit adı verilen iğne biçiminde kristalleri oluşturur. Organik maddelerinin yapısal komponenti olan kollajen iplik ağının aralarını inorganik maddelerin esasını oluşturan hidroksiapatit kristalleri doldurur ve bu şekilde kemik doku sertlik, dayanıklılık ve elastikiyet kazanır (Artan, 1988; Özer ve arkadaşları, 1997).

Kemik dokusunda dört tip kemik hücresi bulunur. Bunlar, osteoprogenitor hücreler, osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar'dır.

Osteojenik hücreler de denilen osteoprogenitör hücreler mitozla bölünüp çoğalarak osteoblastlara dönüşürler. Sekonder kemiklerin zarlarında ve bu kemiklerin içlerindeki Havers ve Volkman kanallarında inaktif durumda bulunurlar ve yaşlanıp yıkılan osteon yapısının yeniden şekillenmesi sırasında aktifleşip bölünerek osteoblastları meydana getirirler.

Osteoblastlar, kemik matriksinin organik bölümünü salgılar. Henüz kireçleşmemiş olan bu temel maddeye osteoid denir. Osteoblastlar salgıladıkları bu osteoid doku içinde kalır ve bu doku kireçleşince aktivitelerini azaltarak osteosit halini alırlar. Kemik yapımı süresince, şekillenmekte olan trabekül ve lamellerinin yüzeylerinde devamlı olarak bir osteoblast sırası bulunur (Özer ve arkadaşları, 1997).

Osteositler, kireçleşmiş matriksin lakuna adı verilen kavitelerinde bulunan, metabolik aktivitelerini azaltmış osteoblastlardır. Kemik matriksi kireçleşmiş olduğundan madde transportu osteositler üzerinden gerçekleşir. Osteositler ile kan kapillerleri arasındaki madde alış-verişi, matriks içindeki küçük kanalcıklar içinden geçen osteositlerin ince uzun stoplazmik uzantıları aracılığı ile sağlanır. Yaşlanıp ölen osteositlerin buldukları yerlerde matriks bozulmaya başlar ve osteoklastlar tarafından eritilip rezorbe edilir (Arda, 1993; Özer ve arkadaşları, 1997). Osteosit'lerin bir gerilme reseptörü olarak, aldıkları mekanik uyarıyı ilişkide oldukları osteoblast ve osteoklastlara aktardıkları düşünülmektedir (Kaplan et al., 1994; Ehrlich and Lanyon, 2002).

Osteoklastlar, yapılmış olan kemik dokuyu yıkıma uğratan makrofaj kökenli hücrelerdir. Kemiklerin yeniden şekillenmesi sırasında osteoklastlar trabeküllerin yüzeylerinde ya da kompakt kısımların iç yüzeylerinde yerleşerek buraları eritirler. Yerlerinde yeni kemik dokuları şekillenir. Böylece kemikler genişleyip uzayabilme olanağına kavuşurlar. Ayrıca açığa çıkan kalsiyum kana geçerek kanın kalsiyum miktarını gereken düzeyde tutulmasını sağlar (Kaplan et al., 1994; Özer ve arkadaşları, 1997).

Kemik dokusunun iki türü vardır. Bunlardan birincisi intrauterin hayatta ilk şekillenen primer veya olgunlaşmamış (woven bone) kemik dokusu'dur. Bunun

yerini daha sonra sekonder kemik dokusu veya olgunlaşmış kemik dokusu alır. Primer kemik dokusunda kollagen iplikler rastgele seyrederek ağlar oluştururlar, temel madde de mineral miktarı azdır ve doku daha fazla osteosit içerir (Arda,1993; Kaplan et al., 1994). Erişkinlerde çoğunlukla sekonder kemik dokusunun oluşturduğu olgun kemikler bulunur. Bu yapı insanda doğumdan bir ay sonra oluşmaya başlar dört yaşında büyük oranda tamamlanır (Kaplan et al., 1994). Sekonder kemik dokusunda kollajen lifler birbirine paralel veya bir vasküler kanal etrafında dairesel olarak yerleşerek kemik lamellerini şekillendirir. Bir lamelde bulunan kollagen iplikler komşu lameldekilere çapraz yönde ve spiraller yaparak seyredirler. Bu durum sekonder kemiklere büyük bir dayanıklılık kazandırır. Kemik doku makroskopik olarak iskeletin farklı bölümlerin de mekanik ihtiyaca göre trabeküler (spongioz- süngerimsi) kemik ve kortikal (kompakt) kemik olmak üzere iki farklı yapıda görülür (Özer ve arkadaşları, 1997). Düzensiz damar ağları ve düzenli lamellerden oluşan kortikal kemik özellikle uzun kemiklerin corpus'unda bulunur ve kompakt yapıdadır (Kaplan et al., 1994). Trabeküler kemik dışta kortikal bir kemik yapısı ve buna bağlı trabeküllerin şekillendirdiği bir ağdan oluşur. Bu ağ kemiğin bulunduğu bölgede mekanik yüklenmesine göre oryante olmuştur ve kemiğin dayanımını artırırken ağırlığını azaltır (Nickel et al.,1986; Kaplan et al., 1994 ;WHO, 2003).

Makroskopik olarak homojen görülen kompakt kemiklerde Havers ve Volkman kanalları bulunur. Havers kanalları kompakt kemiğin uzun eksenine paralel olarak, Volkman kanalları ise komşu havers kanallarını birbirine bağlayan kanallar şeklinde görülür. Kemiklerin yüzeylerindeki foramen nutritium'lardan giren kan damarları Volkman kanallarından geçerek daha derinlerdeki Havers kanallarına girerler. Trabeküllerin içinde Havers ve Volkman kanalları bulunmadığı için besin maddelerini, aralarını dolduran kemik iliğinde bol olarak bulunan kan damarlarından, kanaliküller ve bunların içinde bulunan osteositlerin stoplazmik uzantıları aracılığı ile alırlar (Özer ve arkadaşları, 1997).

Trabeküllerde kemik lamelleri birbirine paralel seyirlidirler. Kompakt kemikte ise lamellerin bir bölümü Havers kanalları etrafında iç içe yerleşmiş halkalar şeklindedir. Bu tür lamellere spesiyal lameller denir. Ortadaki Havers kanalı ile bunu

çevreleyen spesiyal lameller, Havers Sistemi yada Osteon diye isimlendirilen bir sistem kabul edilir ve kompakt kemikte dokunun çoğunluğunu bu osteonlar oluşturur (Kaplan et al., 1994; Özer ve arkadaşları, 1997; Jee, 2001). Her sistemin lamelleri dıştan içe doğru birbiri ardına oluşur. Bu nedenle gelişimini devam ettiren osteon'ların kanalları daha büyüktür. Osteonların aralarında kalan alanları ara (intersitisyel) lameller doldurur. Bunlar büyüme ve yeniden şekillenme sırasında yıkılan eski Havers sistemlerinden arta kalan lamellerdir (Arda, 1993). Kompakt kemiklerin dış ve iç yüzlerinde ise kemik yüzeylerini iç içe daireler halinde çepeçevre kuşatan sirkumferensiyal lameller bulunur. Dış yüzeydeki sirkumferensiyal lameller iç yüzeydeki sirkumferensiyal lamellerden sayıca daha fazladır (Özer ve arkadaşları, 1997). Volkman kanallarının dairesel lamelleri yoktur. Lamelleri delerek geçerler (Arda, 1993).

Kemiğin dış ve iç yüzleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan dışta periosteum içte endosteum denilen tabakalarla örtülüdür. Eklem yüzleri dışında, kemikler her taraflarından periosteum ile çevrilmişlerdir. Periosteum'un dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Tendo ve ligamentlerin oluşturduğu Sharpey lifleri periosteum ile birlikte matriks içine girerek bağdoku-kemik bağlantısını sağlar. Hücreden daha zengin periosteum'un iç tabakası mekanik faktörlerin de etkisiyle bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip tabakadır. Endosteum kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur ve periosteumdan çok daha incedir. Periosteum ve endosteum kemik dokusunun beslenebilmesini sağladığı gibi büyümesi ve onarımı için gerekli osteoblastların oluşumunu da sağlamaktır (Nickel et al.,1986; Arda, 1993).

2.1.2 Kemiğin fizyolojik özellikleri

Kemik yaşam boyu aktif fizyolojiye sahip bir dokudur. Kemik, oluşumunu (osteogenezis) tamamladıktan sonra, şekillenir (modeling) ve daha sonra yaşam

boyunca mekanik ihtiyaçlara göre yeniden şekillenir (remodelling) (Kaplan et al., 1994; WHO, 2003; Jee, 2001).

Kemikler osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) şeklinde veya daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çöküşü ile (endokondral kemikleşme) oluşur (Arda, 1993).

Intramembranöz kemikleşme direkt olarak bağ dokusundan (mezenkim dokusu) kemiğin şekillenmesi olgusudur. Kafatasının yassı kemikleri intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Intramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır (Arda, 1993). Intramembranöz yolla kemik meydana gelecek olan alanlarda bulunan mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere dönüşür. Daha sonra bu hücreler de bölünerek osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini oluşturacak olan maddeleri (kollagen iplikler ve şekilsiz temel madde) sentezler ve bu maddelerin içinde gömülü kalır. Böylece mezenkim dokusu içinde kemiksi doku (osteoid) odakları şekillenir. Bu odakların aralarında kalan mezenkim dokusu içinde bol miktarda kapillar damarlar filizlenir. Bu damardan çıkıp osteoid dokuya giren kalsiyum ve fosfor iyonları, buralardaki osteoblastların salgıladıkları alkalin fosfataz aracılığı ile kalsiyum fosfat bileşikleri oluştururlar. Böylece osteoid kireçleşerek primer kemik dokusu halini alır. Makroskopik olarak değişik şekil ve büyüklüklerde görülen bu kemik parçacıklarına kemik trabekülleri denir (Özer ve arkadaşları, 1997). Şekillenen trabeküllerin yüzeylerine, osteoprogenitör hücrelerden yeniden oluşan osteoblastlar tek sıra halinde oturarak kemik lamelleri yapmaya başlar, bu yapımın üst üste tekrarlama sonucu primer kemik trabeküllerinin yüzeylerinde ve kenarlarında sekonder kemik yapısında katmanlar meydana gelir ve trabeküller kalınlaşıp uzarlar. Bu büyüme sonucu, komşu trabeküller birbiriyle kaynaşarak süngerimsi yapıda bir kemik oluştur (Özer ve arkadaşları, 1997). Intramembranöz kemikleşme insanda yaklaşık gebeliğin sekizinci haftasında başlar (Ross et al., 1989). Doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin gerek iç gerekse dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına nazaran belirgin bir üstünlük kazanır. Böylece iki

tabaka kompakt kemik ortaya çıkar ama aradaki kısım (diploe) süngerimsi yapısını korur (Arda, 1993).

Endokondral kemikleşme ekstremite kemikleri ve vertebraların oluşumunda görülür (Ross et al., 1989). Bu tür ossifikasyonda önce kemiğin hiyalin kıkırdaktan bir modeli oluşur ve kemikleşme sürecinde kıkırdak modelin yerini kemik dokusu alır. İlk olarak kıkırdak modelin diafiz bölgesinde perikondrium'daki mezenkim hücrelerinden osteoprogenitör hücreler oluştururlar. Bu hücreler de osteoblastlara farklılaşarak kemik lamelleri oluştururlar. Böylece kıkırdak modelin diafizinde, periosteum ile kıkırdak dokusu arasında intramembranöz kemikleşme ile bir kemik manşeti ortaya çıkar. Ortaya çıkan bu kemik manşetin çevrelediği kıkırdak dokusu beslenmediği için alkale fosfatazdan zengin olan kondrositler bozulur. Bu sırada periosteumda osteoklastlar belirir ve bu hücreler kemik manşetini delerek foramen nutritium'ları oluştururlar. Periosteumdaki kan damarlarının bir kısmı bu deliklerden girerek taslak içerisinde dallanırlar. Bu damarlardan çıkan kalsiyum ve fosfor iyonları kondrositlerden açığa çıkan alkale fosfatazın aracılığı ile birleşir ve sonucu diafizde bir primer kemikleşme merkezi ortaya çıkar. Osteoblastlar kireçleşmiş kıkırdak matriksi üzerine tek sıra halinde dizilerek kemik dokusu (primer spongios kemik dokusu) yapmaya başlarlar. Böylece ortaları kireçleşmiş kıkırdak matriksinden, yüzeyleri ise kemik dokusundan meydana gelmiş olan kemik trabekülleri ortaya çıkar (Özer ve arkadaşları, 1997). Bu olaylar sırasında, kıkırdak modelin epifizleri ile diafizi arasındaki bölgelerde bulunan kondrositler hızlı bir mitoz bölünme ile devamlı olarak çoğalıp alt alta dizilerek birbirlerine az çok paralel gruplar oluştururlar. Bu çoğalmalara bağlı olarak üreme kuşağını oluşturan kıkırdak taslağın boyu devamlı olarak uzar. Kemik manşet de gelişmesine devam edip epifizlere doğru uzayarak, kıkırdak hücreleri bölgesini dıştan sarar ve kondrositler irileşip ölmeye başlarlar aynen ilk kemikleşme merkezinde olduğu gibi, buralarda da önce kıkırdak matriksi, sonra da kemik trabekülleri meydana gelir. Endokondral kemikleşme epifizlere doğru ilerler ve bu yolla kemikler uzarken, bu uzama sırasında şekillenen trabeküller uç kısımlarından devamlı olarak yıkıma uğrarlar ve bu şekilde cavum medullare oluşmaya başlar (Özer ve arkadaşları, 1997).

Kemik büyümesi uterus başlar ve iskelet gelişimini tamamlayıncaya kadar devam eder (Kaplan et al., 1994). Doğumdan sonra epiphysis plaklarının kapanmasına kadar geçen süreçte kemikler uzunlamasına büyür ve enine genişleyerek normal dış şeklini alır. Bu süreç kemiğin büyümesi ve modellenmesi (şekillenmesi, biçimlenmesi) sürecidir (Mosekilde, 2005). Kemiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken (rezorpsiyon) aynı anda diğer bir bölümün yapımı (formasyon) ile ortaya çıkar ve bu süreçte kemik yapımı miktarı kemik kaybından daha fazladır. Böylece kemik büyürken şeklini korur. Kemiğin uzunlamasına büyümesinde endokondral kemikleşme epifizlere yaklaşıncaya, bu defa epifizlerin içlerinde kemikleşme merkezleri belirir. Bundan sonra eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında epifiz plağı denilen kıkırdak bir disk kalır. Bu şekilde kemikleşme sona erinceye kadar epifiz plaklarındaki kıkırdak hücreleri epiphysis yönüne doğru bölünüp çoğalarak devamlı şekilde kıkırdak dokusu yaparlar. Bu kıkırdak dokusu da, açıklanan yolla devamlı olarak yerini kemik dokusuna bırakır (Arda, 1993; Özer ve arkadaşları, 1997). Epiphysiyal plak tamamen kemikleşerek büyümesi sona erdiğinde kemik uzaması durur. Şekillenen kemiklerin genişleyip kalınlaşmaları için osteoklastlar kemiklerin özellikle iç yüzeylerinden rezorbe ederken, osteoblastlar da dış yüzeylerine ve kenar kısımlarına yeni kemik lamelleri eklerler. Kompakt kemik karakterindeki dış kısımlarında da kemikleşme sona erinceye kadar yapım ve yıkım olayları devam eder. Böylece hem kemikler kalınlaşır hem de cavum medullare genişler (Kaplan et al., 1994; Özer ve arkadaşları, 1997). Çocuklar da kemik süratle modellenir hatta yetişkinlere oranla küçük çocuklarda yenilenme 200 kez daha hızlı olabilir (Arda, 1993). Modellenen kemikte endokondral kemikleşmeye bağlı olarak yeni trabeküller oluşur. Ayrıca biçimlenen kemik yüksek oranda primer kemik dokusu kapsar, bunlar daha az kireçleşirler ve daha az katıdır (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Kemiğin modellenmesinde osteoblastlar ve osteoklastlar farklı kemik yüzeylerinde birbirinden bağımsız olarak çalışırlar. Bu durumda kemik formasyonu rezorpsiyondan daha fazladır (pozitif kemik dengesi) ve kemik kütlesi sürekli artar. Hormonlar ve mekanik yüklenmelerle kontrol edilen bu süreçlerde kemikler maksimum kemik kütlesine ulaşır ve son şeklini alırlar (Mosekilde, 2005). Maksimum kemik kütlesi (Peak bone mass) iskelet olgunluğa eriştiğindeki kemik

yoğunluğudur (WHO, 2003). İnsanda 20-25 yaşlarında maksimum kemik kütlesi değeri, bu süreçlerin sonucu olarak elde edilir. Maksimum kemik kütlesi normal olarak erkeklerde dişilere göre %20-25 oranında daha fazladır (Mosekilde, 2005).

Kemikler gelişimi tamamladıktan sonra, üzerine düşen mekanik yüklenmeleri karşılayabilmek için boyut, şekil ve yapısını değiştirebilme yani yeniden şekillenme (remodelling) yeteneğine sahiptir. Wolff yasası olarak bilinen bu olay mekanik yüklenmelerin olduğu bölgede kortikal ve/veya trabeküler kemiğin artması veya azalması şeklinde görülür (Kaplan et al., 1994; Frankel and Nordin, 2001). Yeniden şekillenme periostal yüzeylerde, endosteum'un bulunduğu medullar veya Havers kanalı yüzeylerinde ve trabeküler kemik yüzeyinde görülebilir (Kaplan et al., 1994; Milli ve Hazıroğlu, 2000). Periost yüzeyi yaşam süresince büyüme yüzeyi olur ve substantia compacta giderek çapını artırır. Endost-trabekül yüzeyi rezorptif özelliktedir ve giderek kemik iliği boşluğunun genişlemesine yol açar. Intrakortikal yenilenme ise normal olarak dengededir ve kemiğin yapısal bütünlüğünü korur. Genellikle yaş ile birlikte yenilenme oranı azalır. Kemik yıkımı kemik yapımından daha fazla olur (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Bu süreç hayat boyunca hem kortikal hem de trabeküler kemikte görülür. Kortikal kemikler yaklaşık %80 oranında kemik kütlesine, trabeküler kemikler ise %20 oranında kemik kütlesine sahiptir. Ancak kemiğin yeniden şekillenmesi bir yüzey fenomeni olduğu için daha fazla yüzeye sahip olan trabeküler kemik hayat boyunca kortikal kemikten 5-10 kat daha fazla modellenir (Kaplan et al., 1994). Erişkinde 1 yılda trabeküler kemiğin %25'i, kortikal kemiğin ise %3'ü yenilenmektedir (Mosekilde, 2005).

Hem kortikal hem de trabeküler kemik aynı hücresel aktivite döngüsü ile yeniden şekillenir. İlk olarak kemik osteoklastlar tarafından resorbe edilir. Sonra bu bölgede osteoblastik aktivite ile kemik formasyonu olur (Kaplan et al., 1994). Yeniden şekillenme süreci boyunca osteoblastlar ve osteoclastlar BMU (Bone multicellular Units) adı verilen ünitelerin içinde çalışır (Mosekilde, 2005). İskeletde farklı dönemlerde milyonlarca BMU bulunur (Ott, 2002). İnsanda bir BMU 'da kemiğin yeniden şekillenmesi yaklaşık 120 günlük sıklulardan oluşur. Bu sürenin ilk 20 gününde osteoklastik rezorbsiyon, diğer 100 günde ise osteoblastik kemik formasyonu gerçekleşir (Elçi, 2004). Yeniden şekillenme ile mikrokırıklar veya ölü

osteositlerin bulunduğu eski kemik yenilenerek maximum dayanım elde edilmiş olur (Mosekilde, 2005).

Normal şartlarda resorpsiyon ve bunu takiben formasyon yolu ile oluşan kemiğin yeniden şekillenmesi sürecinde kemik kütlesi değişmez (Kaplan et al., 1994). Yeniden şekillenme süreci büyüme uyumunu sağladığı gibi hareketin azaldığı bölgelerde kemik kütlesinde azalma, hareketin arttığı bölgelerde ise kemik kütlesinde artış görülür (Reece, 2005). Ayrıca bu süreç kalsiyum hemostasis'in devamını da sağlar. (Mosekilde, 2005).

Özet olarak, büyüme, şekillenme ve yeniden şekillenme süreçleri çalışma metotlarında farklılığa rağmen hepsi benzer hücreler ile idare edilir ve mekanik uyarımlara ve içsel faktörlere bağlıdır. Bu herhangi bir yaşta iskeletteki dayanım, dansite, boyut, şekil ve mekanik kullanıma bağlıdır (Mosekilde, 2005).

2.1.3 Kemiğin biyomekanik özellikleri

Kemik biyomekaniği kapsamı altında esas olarak kemiğin kırılabilirliği değerlendirilir. Kemik kırılabilirliği (fragility) tek başına kemiğin kırılma olasılığını belirten bir terimdir. Kırılabilirlik (brittleness) ise kolay kırılabilir yani daha kırılabilir bir kemiği ifade eder. Kemiklere uygulanan kuvvetin oluşturduğu mekanik enerji, kemiğin absorbe edebileceğinden daha fazla olursa ve bu kuvvet kemik gücünü aşarsa kırıklar gerçekleşir. Mineral yoğunluğu fazla olan bir kemik, kuvvetli ama sert olduğu için dıştan gelen mekanik enerjiyi yeterince absorbe edemez ve daha yüksek kuvvette fakat daha kısa sürede kırılır. Bir kemiğin kırılabilirliği (fragility) ve kolay kırılabilirliği (brittleness) kemiğin yoğunluğu, geometrisi (kemiğin mimarisi, çapı ve şekli..vb) ve genetik yapı ile ilişkilidir. Bu parametrelerin değişik oranlardaki bileşkesi normal bir kemikte kırılabilirliği tayin eder (Kutsal, 2004). Biyomekanik özellikler kemiğin fonksiyon ve yapısını yansıtan temel parametreler olarak kabul edilir (An and Friedman, 1999) ve biyomekanik testler bir kemiğin nasıl kırılabildiği konusunda bilgi verdiği gibi, çeşitli patolojik durumlarda; bir kemikte ne tür yapısal

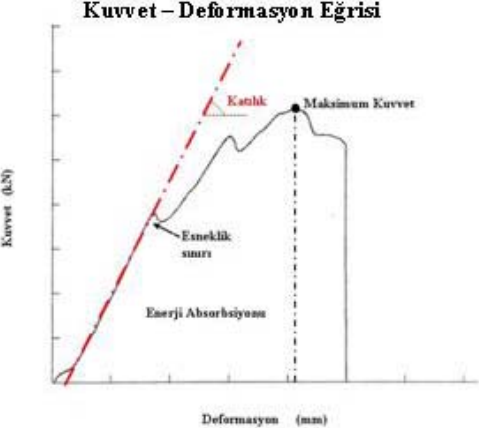
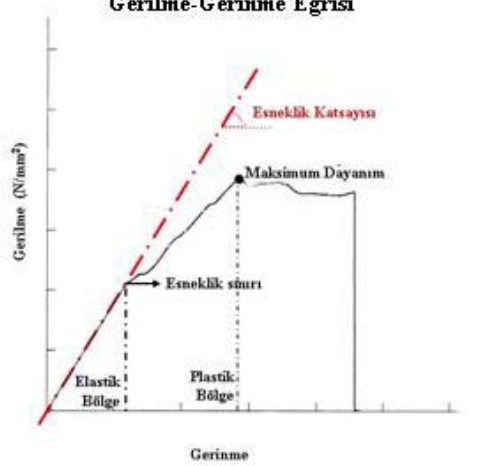
değişikliklerin kırılmayı kolaylaştırdığı, hangi tedavilerin ne tarzda ve kombinasyonda uygulanması gerektiği konusunda bilgi verir (Kutsal, 2004).

2.1.3.1 Biyomekanikte kullanılan terminoloji

Biyomekanik özelliklerin açıklanmasında kullanılan mühendislik terminolojisi aşağıda anlatılacak olan kemik dokunun biyomekanik özelliklerine ilişkin bölümlerin daha iyi anlaşılması için çizelge 1’de özet olarak açıklanmıştır.

Kemiğin yüklenme anındaki davranışı mekanik testler ile kayıt alınarak tespit edilebilir. Bir kemiğe herhangi bir yönden kuvvet uygulandığında kemikteki deformasyon ölçülebilir ve kuvvet-deformasyon eğrisi çizdirilebilir. Kemiğin biyomekanik özelliklerine ilişkin mekanik parametreler de mekanik testin uygulanması sonucu bilgisayar ortamında kayıtlanan kuvvet–deformasyon eğrisi temel alınarak elde edilebilir. (An and Friedman, 1999; Frankel and Nordin, 2001). Kuvvet–deformasyon eğrisi iki bölgeye ayrılır. Bu bölgeler elastik deformasyon ve plastik deformasyon bölgesi olarak tanımlanır. Bu iki bölge arasındaki sınır noktası elastik sınır noktası (yield point) olarak tanımlanır. Elastik deformasyon bölgesi içinde kemikteki deformasyon, artan kuvvet ile düzgün bir eğri çizer ve eğer kuvvet ortadan kaldırılırsa kemik orijinal formuna döner. Kuvvetin etkisi altındaki kemik, elastik sınır noktası (yield point) dışına çıktıktan sonra deformasyonun derecesi uygulanan yük ile orantılı değildir ve grafikte düzgün görüntüden uzak bu bölgeye plastik deformasyon bölgesi denir. Elastik sınır noktasını (yield point) aşan kuvvet uygulandığında kemikte trabeküler mikrokırıklar, lameller arasında kaymalar veya bunların kombinasyonu ile kemik yapısında kalıcı deformasyonlar (kırık) oluşur. Burada eğrinin en yüksek noktası kemiğin dayanabildiği maksimum kuvveti (ultimate force) yani kemiğin organ olarak dayanıklılığını verir, sonra eğride kemiğin tamamen kırıldığı kırılma kuvvet noktası görülür bu noktada yük artsa bile deformasyon sabittir. Plastik bölgenin büyüklüğü materyalin sünekliliğinin ölçüsüdür.

Çizelge 1. Tez içerisinde kullanılan biyomekanik terimler *

 <p>Kuvvet – Deformasyon Eğrisi</p>	Terim	Mühendislik Terminolojisi	Simge	Birim	Tanımı
 <p>Gerilme-Gerinme Eğrisi</p>	Maksimum kuvvet	(Ultimate force)	F_u	N	Kemüğün kırılmadan önceki taşıyabildiği maksimum kuvvettir. Organ düzeyinde dayanımı ifade eder.
	Maksimum dayanım	(Ultimate strength)	σ_u	MPa N/mm ²	Kemüğün maksimum kuvvet altında birim alanındaki gerilmesidir. Dokusal düzeyde dayanımı ifade eder.
	Gerilme	(Stress)	σ	N/mm ²	Yüklenme anında, kemüğün birim alanına düşen kuvvettir. Dokusal düzeyde dayanımı ifade eder.
	Katılık, rijitlik	(Stiffness)	S	N/mm	Kuvvet-deformasyon eğrisinin elastik bölgedeki eğimidir. Kemüğün organ düzeyinde katılığını gösterir.
	Esnelik kat sayısı	(Elastic Modulus)	E	MPa N/mm ²	Gerilme-gerinme eğrisinin elastik bölgedeki eğimidir. Kemüğün birim alanındaki katılığını verir.
	Şekil değiştirme	(Deformasyon)	δ	mm	Yüklenme altında kemüğün şekil değişimine miktarıdır. Organ düzeyinde deformasyonu ifade eder.
	Gerinme	(Strain)	ϵ		Yüklenme anında kemüğün birim alanındaki şekil değişimine miktarıdır. Dokusal düzeyde deformasyonu ifade eder.
	Enerji absorpsiyonu	(Work to failure)	U	mJ	Kemüğün kırılıncaya kadar absorbe edebildiği enerji miktarıdır. Organ düzeyinde enerji absorbe edilebilirliğini ifade eder.
	Tokluk	(Toughness)	u	MJ/mm ³	Kemüğün birim hacminin absorbe edebildiği enerji miktarıdır. Birim şekil değiştirme enerjisini gösterir.
	Esnelik sınır noktası	(Yield Point)			Kuvvet-deformasyon veya gerilme-gerinme eğrisinin elastik bölgeden plastik bölgeye geçtiği noktadır.

- Turner and Burr (2001) ve Turner (2002)'den yararlanılmıştır.

Bu bölge küçük olursa materyal kırılğan (britle) olarak değerlendirilir. Osteoporotik kemikler normal kemikten daha fazla kırılğandır (Turner and Burr, 1993). Sonuçta yük deformasyon eğrisinden elastik sınır noktası (yield point), maksimum kuvvet (ultimate force), kırılma kuvveti (breaking force) ve deformasyon direkt olarak elde edilebilir. Ayrıca elastik bölgedeki eğrinin eğimi kullanılarak kemiğin katılığı (stiffness) ve yük deformasyon eğrisinin altında kalan alandan kemiğin kırılıncaya kadar absorbe edebildiği enerji miktarı (work to failure) hesaplanır (An et al., 1996; An and Friedman, 1999; Hirano et al., 1999; Frankel and Nordin, 2001).

Kemiğin biyomekanik özelliklerinin değerlendirilmesinde kemiğin bir organ olarak tüm yapısal özellikleri ve kemiğin bir doku olarak materyal özelliklerinin göz önüne alınması gerekir (Mow et al., 1994). Kemiğin fonksiyonel olarak temel mekanik özellikleri dayanıklılık ve katılık'tır (An and Friedman, 1999). Kuvvet-deformasyon eğrisinde elde edilen maximum kuvvet ve katılık verileri de biyomekanik testlerin değerlendirilmesinde kullanılır. Ancak bu iki mekanik özellik, bir kemikteki yapısal değişiklikleri ifade eder ve onun organ düzeyinde (dışsal, extrinsic) biyomekanik özelliklerini gösterir (Turner, 2002). Bu değerler kemiğin geometrik özelliklerine bağlı olarak farklılık gösterir ve normal olarak daha büyük kemikler daha büyük dayanıklılık ve katılık gösterir. Bu nedenle deneysel çalışmalarda belirtilen bu değerlerin kemiğin morfometrik özelliklerine göre çeşitli formüller ile normalize edilerek kemiğin birim alanında dokusal (içsel – intrinsic) özelliklerinin değerlendirilmesi gerekmektedir (Turner and Burr, 1993; An et al., 1996; An and Friedman, 1999; Hirano et al., 1999; Turner, 2002; Kutsal, 2004).

İncelenen kemiğin dokusal düzeyde mekanik özelliklerini ortaya koymak için mühendislik formülleri ile deformasyon; gerilme (strain) ve kuvvet ise gerilme (stress)'ye dönüştürülerek gerilme-gerilme eğrisinden yoruma gidilir (Delahay, 2001). Gerilme, yüklenme anında, materyalin birim alanına düşen kuvvettir. Kuvvetlerin uygulama yönüne bağlı olarak basma (compressive), çekme (tensile) ve makaslama (shear) gerilmeleri olarak sınıflandırılır. Gerilme direkt olarak ölçülemez. Ancak büyüklüğü hesaplanır. Her santimetre kareye düşen Newton cinsinden kuvvet (N/cm^2) gerilmenin standardize edilmesinde kullanılan birimdir.

Kuvvet-deformasyon eğrisinde kemiğin kırıldığı andaki maksimum kuvvet (ultimate force) gerilme-gerinme eğrisinde maksimum dayanım (ultimate strength) olarak gösterilir. Gerinme ise bir yapının birim alanında oluşan deformasyondur. Basma veya çekme şeklinde uygulanan doğrusalkuvvetler altında materyalin boyunda uzama veya kısalma şeklinde deformasyon olurken, makaslama şeklinde uygulanan yüklenmede materyalde ise açılmal olarak deformasyon meydana gelir (Delehay, 2001). Gerinme ölçümsel bir parametre değildir. Kuvvet uygulanan yapının birim alanındaki yüzde deformasyon olarak ifade edilir. Kemiğe doğrusal kuvvetler uygulandığında, kemiğin boyunda deformasyon olduğunda aynı zamanda eninde de deformasyon şekillenir. Bu durumdaki çekme veya basma yüklenmelerinde cismin boyundaki değişim oranının enindeki değişim oranına bölümüne cismin poisson oranı denir (Turner and Burr, 1993). Bu oran kuvvet etkisi altındaki cismin davranışı hakkındabilgi verir ve kemiğin mekanik özelliklerine göre bilgisayar ortamında modellenmesine ilişkin çeşitli hesaplamalarda kullanılan bir değerdir (Turner and Burr, 1993; Delehay, 2001). Katılık (stiffness) olarak tanımlanan kuvvet-deformasyon eğrisinin eğimi, gerilme-gerinme eğrisinin eğiminde esneklik katsayısı (Elastik modulus) olarak tanımlanır (Turner and Burr, 1993). Esneklik katsayısı gerilmenin meydana getirdiği şekil değişikliği olarak tanımlanır ve materyalin sertliği arttığında esneklik katsayısı artar (Delehay, 2001). Esneklik katsayısı, çekme veya basma kuvvetlerinin bir cisme eksensel doğrultuda uygulandığı durumda young katsayısı olarak ifade edilir. Gelen kuvvet makaslama (shear) kuvveti ise makaslama katsayısı veya kesme katsayısı, cisme her yönden gelen kuvvetler varsa ve hacmi etkiliyorsa hacim katsayısı denir (Domaniç ve arkadaşları, 1974). Ayrıca gerilme-gerinme eğrisinde maximum dayanım noktasına kadar olan eğrinin altında kalan alanın büyüklüğü kemiğin kırılıncaya kadar absorbe edebildiği enerji miktarını yani tokluğunu (modulus of toughness) materyal özelliği olarak ifade eder. Tokluk, kemiğin biyomekanik özelliğinin değerlendirilmesi için önemli bir veridir. Çünkü tokluğu yüksek bir kemik kırılmaya karşı daha fazla dirençli ve deformasyon yeteneği daha yüksektir (Turner and Burr, 1993). Bu değer kemiğin geometrik özellikleri ve kuvvet-deformasyon eğrisindeki enerji absorpsiyon değerleri kullanılarak hesaplanır (Hirano et al., 1999).

2.1.3.2 Kortikal ve trabeküler kemiğin biyomekanik özellikleri

Biyomekanik yönden kemik dokusu, organik matriks ve inorganik hidroksiapatit olmak üzere iki farklı komponenti olan kompozit bir materyaldir. Hidroksiapatit kristalleri kollagen fibrillerinin aralarına gömülür. Çok esnek ve zayıf bir materyalin içine sert ve kırılabilir bir madde gömüldüğünde daha güçlü ve dayanıklı bir materyal oluşturur. Kemiklerin temelinde de bu mekanik özellik vardır. Kemik hidroksiapatitden daha sünek (ductile) daha fazla enerji absorbe edebilen ve kollajenden daha serttir. Böylece daha büyük yüklenmelere izin verebilir. Kollagen hidroksiapatit fibrilleri bir tabaka veya lamel şeklinde belli bir yönde şekillenirler. Bu fibrillerin dizilişi çeşitli yönden yüklenmeleri karşılayacak düzeydedir. Makroskopik açıdan kemiğin dayanıklılığını belirleyen ana faktörler ise kemik yoğunluğu ve trabeküllerin oryantasyonudur (An and Friedman, 1999; Frankel and Nordin, 2001). Normal şartlarda kemiğin mekanik davranışı bir elastik materyal davranışına benzer. Fakat kemik herhangi bir inorganik materyale benzemez, kemik kendi kendini tamir edebilir, değişik yönlerden gelen kuvvetlere göre yeniden şekillenerek mekanik özelliklerini ve morfolojisini değiştirebilir (Mow et al., 1994; An and Friedman, 1999).

Kemik doku makroskopik olarak iskeletin farklı bölümlerinde mekanik ihtiyaca göre trabeküler (spongiöz -süngerimsi) kemik ve kortikal (kompakt) kemik olmak üzere iki farklı yapıda görülür (Özer ve arkadaşları, 1997). İskeleti oluşturan kemiklerin trabeküler ve kortikal kısımları aynı materyallerden oluşmalarına rağmen yapısal özellikleri çok farklıdır. Bu farklılıklar da biyomekanik özelliklerindeki farklılıkları ortaya çıkarır (Delehay, 2001).

Trabeküler kemik için dayanımı tanımlamak çok zordur. Çünkü trabeküler kemik, her birinin kendi dayanımı olan bireysel trabeküllerin birleşmesi ile oluşan bir materyal dayanımına sahiptir (An and Friedman, 1999). Bu şekilde trabeküler kemik anisotropik malzeme olduğu için yüklenmenin yönü çok farklıdır (Delehay, 2001). Her ne kadar değişik yöntemlerle bir trabekül üzerinde mekanik testler uygulanabilse de (An and Friedman, 1999; Turner and Burr, 2001) trabekül özelliklerinin tek tek ölçümü zor olduğundan trabeküler yapıdaki bir kemiğin test edildiği biyomekanik

çalışmaların çoğunda kemiğin yapısal özellikleri belirlenmektedir. Bu yapısal özellikler trabekülerin yönleri ve kemik dansitesine bağlı olarak çeşitli anatomik bölgelerde farklılık gösterir (Turner and Burr, 1993). Trabeküler kemik, mekanik olarak vertebralar, uzun kemiklerin epiphysis'leri ve diaphysisleri arasında olduğu gibi yükün aktarılmasında görev yapar. Buna ek olarak kuvvet etkisinin absorbe edilmesinde rol oynar. Bu mekanik özelliklerinden dolayı çekme kuvvetine, basma kuvvetine göre daha fazla dayanır. Trabekülün eksenine paralel kuvvetlerde deformasyon daha az olur (Delehay, 2001). Trabeküler kemik yoğunluğu çok fazla varyasyon gösterir ve bu durum özellikle kemiğin anatomik yeri ve yaşa bağlı olarak değişir. Çeşitli biyomekanik çalışmalar da gösterir ki kemiğin mekanik özellikleri kemiğin yoğunluğu ile direkt ilişkilidir. Genel olarak trabeküler kemiğin kortikal kemiğe göre dayanımı %40 (An and Friedman, 1999), esneklik katsayısı %10-30 daha azdır (Mow et al., 1994; An and Friedman, 1999; Delehay, 2001).

Kortikal kemik kompakt yapıda, kuvveti rahatlıkla aktaran mineralize yapılardan oluşmuştur (Delehay, 2001). Kompakt yapı trabeküler kemiğe göre kortikal kemiğin daha güçlü ve sert olmasını sağlar (An and Friedman, 1999). Lamellerin oluşturduğu osteon sistemleri kemiğe uzun eksen boyunca maksimum dayanıklılık sağlamaktadır. Kortikal kemik, deformasyonun derecesi kuvvetin uygulanma süresine göre değiştiği için biyomekanikte viskoelastik bir yapı olarak değerlendirilir (Mow et al., 1994; Delehay, 2001). Bununla birlikte özellikle düşük deformasyon oranlarında elastik özellik gösterir. Bu nedenle mekanik testlerde yüklenmenin hızı test edilen kemiğe uygun ve kontrollü olmalıdır (Turner and Burr, 1993). Ayrıca kortikal kemiğin mekanik özellikleri mekanik testin çeşidine göre değişir. Eğme, burma ve bası kuvvetlerine karşı dayanıklıdır (Mow et al., 1994). Kortikal kemiğin çekme dayanımı basma dayanımının yaklaşık 2/3'ü kadardır. Kortikal kemiğin mekanik özellikleri testte uygulanan kuvvetin yönüne göre değişir. Normalde ağırlığın bindiği yönde longitudinal kuvvetler uygulandığında esneklik katsayısı, transversal kuvvetlere göre yaklaşık iki kat daha fazladır (An and Friedman, 1999).

2.1.3.3 Kemiğin biyomekanik özelliklerinin test edilmesi

Kemik biyomekanik testi için, mekanik test makinesi, gerinme ölçen transuderler ve kayıt sistemleri kullanılır. Bu makineler test edilen kemik örneğine farklı oran ve büyüklükte yükler uygulayabilir.

2.1.3.3.1 Biyomekanik testler için örnek hazırlanması

Kemiğin mekanik özellikleri, uygulanan test esnasındaki varyasyonlara göre büyük değişim gösterir. Bu varyasyonlara sebep olabilen önemli faktörler test edilecek örneğin su oranı ve saklanma koşullarıdır. Doku otolizi kemiğin vücuttan uzaklaştırılmasından sonraki saatler içinde oluşur ve kemiğin mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkiler. Eğer kemik canlılığın bitimini takiben hemen test edilmez ise elde edilen değer absolut değil relative bir değerdir (Turner and Burr, 1993). Kemiğin çıkartılıp test edilmesine kadar olan süreçte, kemik örnekleri etanol, formalin veya glutraldehit gibi solusyonlar içerisinde saklanmasının kemiğin mekanik özelliklerinde değişikliklere neden olduğu çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Sedlin, 1965; Ashman, 1982; Turner and Burr, 1993). Ancak yapılan literatür tarmasında etanol'ün biyomekanik test örneklerinin saklanmasında kullanıldığı görülmüştür (Søgaard et al., 1995; Mashiba et al., 2001). Bazı araştırmacılar ise diseke edilen kemikleri direkt -20,-25° C'de dondurmaktır (Namba et al., 1987; Jørgensen et al., 1991; Zohman et al., 1992; Turner et al., 1997; Bernardis and Ziv, 2000; Moran et al., 2000; Heybeli ve arkadaşları, 2001; Martin et al., 2004). Günümüzde mekanik test için kemik örneğin uzun süre korumada önerilen ve uygulanan en iyi metot, örnekleri fizyolojik tuzlu su emdirilmiş gazlı bezler içerisinde -20° C'de dondurmaktır (Turner and Burr, 1993). Yapılan çeşitli çalışmalara göre bu yöntemle kemik örneklerinin en fazla sekiz ay saklanması, bu süreden sonra kemiğin mekanik özelliklerinin önemli derecede olumsuz etkilenebileceği belirtilmiştir (Roe et al., 1988). Bazı kompleks çalışmalarda kemiklerin tekrar tekrar dondurulup çözülmesi gerekebilir. Bu durumda da çeşitli

kemik örneklerinin 4-8 defa dondurulup çözdürülmesinde mekanik yönden olumsuz etkilerinin olmadığı belirtilmiştir (Linde and Sørensen, 1993; Kang et al., 1997). Her koşulda kemiğin fizyolojik tuzlu su içerisinde dondurulması ve çözdürülmesi önerilmektedir (An et al., 1996). Çünkü kemiğin şekil değiştirebilme kabiliyeti kemiğin su oranına göre değişir. Mekanik test sırasında kemiğin su oranı normal olduğunda kortikal kemik elastik davranış gösterir. Canlı ortamda normal nemliliğinde kemik en yüksek enerji absorbe edebilme yeteneğine sahiptir. Kemik kuru olduğu durumda daha sert ve kırılıgandır (Delehay, 2001). Mekanik testlerde de su oranı az olan kemiğin esneklik katsayısı ile dayanıklılığı artacak ve enerji absorpsiyonu azalacaktır. Azalan enerji absorpsiyonu yüzünden kuru kemik yaş kemikten daha kırılıgandır. Evans ve Lebow (1951) insan femur'unda yaptıkları çalışmada kuru kemiklerde esneklik katsayısı %17, maksimum çekme dayanıklılığın %31 arttığını fakat enerji absorbe edebilme yeteneğinin %55 azaldığını göstermişlerdir. Aynı zamanda kemiğin su oranına göre deformasyon şekli ve derecesi de değişir (Park and Lakes, 1986). Bu nedenle kemiklerin fizyolojik tuzlu su içinde saklanması önerilmektedir (Turner and Burr, 1993; Moran et al., 2000; Heybeli ve arkadaşları, 2001).

Biyomekanik test sonuçlarını etkileyen diğer önemli bir faktör de kemik örneklerinin test edilmesi sırasındaki sıcaklıktır. Çünkü kemiğin mekanik özellikleri çevre sıcaklığı tarafından etkilenir. Bu amaçla kemik örneklerinin 37°C'de test edilmesi önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda oda sıcaklığında test edilen esneklik katsayısının, 37°C'de test edilen örneklere göre daha yüksek çıktığı gösterilmiştir (Turner and Burr, 1993; Heybeli ve arkadaşları, 2001). Ancak pratikte bu durum her zaman uygun olmayabilir. Bu durumda dikkat edilmesi gereken ortam sıcaklığının değişik test zamanları sırasında farklılık gösterebileceğidir. Bu yüzden biyomekanik ölçümler için 37°C'de sıcaklık kullanılmıyorsa oda sıcaklığının tüm testler için sabit tutulması ve test edilecek kemik örneklerinin 37°C tuzlu su içerisinde tutulması gerekmektedir (Turner and Burr, 1993).

Eğer test edilecek kemiğin iki ucundan yük uygulanacaksa, bu uçların makina çenesine uyumu için polimetilmetacrilat (Namba et al., 1987; Zohman et al., 1992; Bernardis and Ziv, 2000; Kolbeck et al., 2003), polyester (Markel et al., 1994),

sanfix (Turan ve arkadaşları, 2000), epoxy (Aerssens et al., 1993; Bostrom et al., 1996) ve kemik çimentosu (Waris et al., 2002) gibi materyallere gömülebilir.

2.1.3.3.2 Biyomekanik test metotları

Vücuttaki biyolojik yapılarda kombine kuvvetler oluşur ve bu kuvvetlerin dağılımı çok komplekstir. Kırıkların bir çoğunda da aynı şekilde tek bir çeşit kuvvet ile oluşmaz (Delehay, 2001). Kemiklerin biyomekanik özellikler ile test edilmesinde de öncelikle kemiğin fizyolojik olarak yüklenme durumu dikkate alınır. Kemik örneklerinin test edilmesinde kullanılan mekanik testler uygulanan kuvvetin çeşidine göre aşağıdaki gibi açıklanabilir (Turner and Burr, 1993).

2.1.3.3.2.1 Çekme (tensil) testi

Çekme testi, mühendislikte bir örneğin materyal özelliklerinin belirlenmesi için en uygun yöntemdir (An and Friedman, 1999). Çekme testi, kemik özelliklerinin ölçümü için de en geçerli metotlardan birisidir. Hem kortikal hemde trabeküler kemik örneklerinin test edilmesinde kullanılır (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999). Bu yöntem ile çekme kuvveti uygulanması sonucu oluşan çekme yükü materyalin uzun eksenini boyunca uzamaya, materyalin gerilmesine ve kesit alanında azalmaya neden olur. Kullanılacak kemik örnekleri, özellikle trabeküler yapıdaki kemikler çalışılıyorsa, en azından 4-8 mm genişliğinde olmalı ve makine için dikkatlice hazırlanmalıdır. Çekme kuvveti uygulanan örneklerde gerinme büyük oranda test edilen örneğin merkezinde oluşur. Bu nedenle bu uygulamalarda en doğru gerinme ölçümü test edilen örneğin orta noktasına bir transuder tutturularak yapılabilir. Bu testte gerilme, uygulanan kuvvetin kemiğin ortasından alınan kesit alanına oranı şeklinde hesaplanır. Çekme testi uygulanırken kuvvet çift eğme momentine neden olmadan uygulanabilirse bu test kemiğin mekanik özelliklerinin en doğru şekilde ölçülmesini sağlayacaktır (Turner and Burr, 1993; Delehay, 2001). Özellikle trabeküler kemiklerde test için örneklerin hazırlanmasındaki zorluklar,

örneklerin makinanın çenesine tutturulması problemi, her zaman test edilecek örneğin büyüklüğünün yeterli olamaması nedeni ile çekme testi basma testine göre daha az kullanılmaktadır (An and Friedman, 1999).

2.1.3.3.2.2 Basma (compression) testi

Basma testi hem kortikal hem de trabeküler kemiğin mekanik özelliklerini ortaya koymak için en fazla kullanılan testtir (An and Friedman, 1999). Bir materyale basma kuvveti uygulandığında çekme yükünün tam tersi bir etki yaparak cismin boyunda kısalma, sıkışma ve kesit alanında artmaya neden olur. Özellikle trabeküler kemik örneklerinin test edilmesinde daha küçük örnekler çalışılabildiği için basma testi sık kullanılan bir mekanik yöntemdir. Bu yöntemde kemik örneklerinin yüzeyleri düz olmaz ise sonuçlarda büyük hatalar görülebilir. Ayrıca bu test sırasında kemik örneğindeki gerinme kemiğin her iki ucunda ve ortasında aynı anda oluştuğu için sonuçların değerlendirilmesi zordur. Çekme testinde daha geçerli sonuçlar alınmasına rağmen (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999), basma testinin de bazı avantajları vardır. Basma testinde çalışılan test örneklerinin çekme test örnekleri kadar büyük olmalarına ihtiyaç yoktur, bu durum özellikle trabeküler kemik test edildiği zaman büyük avantajdır. Ayrıca basma testi için kemik uçlarının hazırlanması çok zor değildir, sadece kuvvet uygulanacak yüzeyin düz bir şekilde hazırlanması yeterlidir (Turner and Burr, 1993; Delehay, 2001). Eğer trabeküler bir kemik bölümünde basma testi uygulanacaksa hazırlanan örneğin uzunluğu çapının iki katı olmalıdır (An and Friedman, 1999). Basma testi hayvan modellerinde de özellikle vertebra (Søgaard et al., 1995; Turner et al., 1997; Hirano et al., 1999; Mashiba et al., 2001) ve collum femoris'in (Turner et al., 1997) test edilmesinde kullanılmıştır.

2.1.3.3.2.3 Eğme (bending) testi

Bu test özellikle küçük hayvanlarda, çekme ve basma testlerinin zorluklarından dolayı uzun kemiklerin mekanik özelliklerinin değerlendirilmesi için kullanılmaktadır (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999; Delehay, 2001). Kemik bir tarafından sabitlenip diğer tarafından basma veya çekme kuvveti uygulandığında eğilme yüklenmesi oluşur. Bu yüklenmede cismin eğilme sonucunda oluşan dış bükey tarafı çekme yükü uygulanmış gibi, iç bükey tarafı ise basma yükü uygulanmış gibi davranır. Genellikle ilk olarak dış bükey tarafta hasar oluşur çünkü kortikal kemik çekmeye basmadan daha az dayanıklıdır (Turner and Burr, 1993; Delehay, 2001). Eğme testi üç nokta ya da dört nokta da kuvvetler kullanılarak uygulanır. Üç nokta eğme testinin çok daha kolay uygulanabilmesi yanında orta kesiti yakınında yüksek makaslama stresleri oluşabilmesi gibi dezavantajları vardır. Dört nokta eğme testinde daha kusursuz eğme meydana gelir. Ancak bu test kesitler hazırlanarak düzgün yüzeylerin oluşturulduğu kemik örneklerinde yapılabilir. Tüm kemiğin test edildiği durumlar için uygun değildir. Bu yüzden üç nokta eğme testi rodent kemiklerinde mekanik özellik ölçümü için daha fazla kullanılır (Turner and Burr, 1993).

2.1.3.3.2.4 Burma (torsion) testi

Bu test genellikle uzun kemiğin tümünün test edildiği bir uygulamadır. Özellikle büyük kemiklerin test edilmesinde kullanılır. Kemik uçlarının test cihazının çenesine tuturulabilmesi için çeşitli materyallere gömülmesi gerekmektedir (Namba et al., 1987; Zohman et al., 1992; Markel et al., 1994; An and Friedman, 1999; Bernardis and Ziv, 2000; Turan ve arkadaşları, 2000). Burma testi makaslama kuvvetleri altındaki kemiği test etmek için kullanılır (Turner and Burr, 1993). Bu test sırasında kemiğe bükme (burma) momenti uygulanır ve bu kemik üzerinde makaslama kuvvetleri etkisi ile oluşur. Burma kuvvetleri eğme kuvvetlerinden farklıdır. Burma momenti, etki eden noktaya olan uzaklık ile değişiklik göstermez. Bu test sırasında makaslama gerilmeleri yuvarlak kemik bölümünün merkezinde sıfırdır (Turner and Burr, 1993; Delehay, 2001). Bu test çeşitli hayvanı modellerinde

eğme testinden sonra en fazla kullanılan yöntemdir (Namba et al., 1987; Aerssens et al., 1993; Markel et al., 1994; Bostrom et al., 1996; Peng et al., 1997; Bernardis and Ziv, 2000; Kolbeck et al., 2003)

2.1.3.3.2.5 Indentasyon testi

Bu test yukarıda belirtilen diğer testler gibi genel kullanımı olmayan, özellikle rat, tavşan gibi küçük hayvanların trabeküler kemiklerinin biyomekanik özelliklerini ortaya koymak için kullanılan bir çeşit basma testidir. Test edilecek örneğin karşılıklı iki yüzeyi bir birine paralel olacak şekilde belirli kalınlıklarda kesilir. Örnek makineye yerleştirildikten sonra ucu 2-5 mm çapında hazırlanmış silindirik yapıda bir çelik indentor ile trabeküler kemiğe basma kuvveti uygulanır. Kolay yapılabilir test olduğu için son yıllarda sıklıkla kullanılan bir metottur (An et al., 1996; An and Friedman, 1999).

2.1.3.3.2.6 Diğer test metotları

Bazı özel kemik bölümlerinin test edilmelerinde yukarıda belirtilen genel testler dışında mikrotestler, tam makaslama testleri, yorgunluk testi (Turner and Burr, 1993), vida sıyrma testi (An and Friedman, 1999) gibi bazı özel testler de kullanılmaktadır.

Ayrıca çok sık kullanılmamakla birlikte bazı ultrasonik metotlar da belirtilmiştir. Bu yöntemde de farklı malzeme yapısının, sesi farklı derecede yansıtmasından yararlanılarak kemiklere ilişkin çeşitli biyomekanik parametreler hesaplanabilmektedir (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999; Turner and Burr, 2001; Pressel et al., 2005).

2.2 Osteoporoz

Osteoporoz, kemik kitlesinde azalma ile birlikte kemik dokusunda gelişen mikroyapısal bozulmalar sonucu, kemik kırılabilirliğinde artış ile seyreden sistemik bir iskelet sistemi hastalığıdır (Ammann and Rizzolli, 2003; WHO, 2003; Egerman et al., 2005).

2.2.1 Osteoporoz hakkında genel bilgi

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre sadece Avrupa, Japonya ve Amerika Birleşik Devletlerinde 75 milyondan fazla insanı etkileyen osteoporoz hastalığı, yıllık ortalama 2,3 milyon kırık olgusuna neden olan en önemli halk sağlığı sorunlarından birisidir (WHO, 2003). Osteoporozun hem kendisi hem de en önemli komplikasyonu olan kırıkların tedavisine yönelik olarak yapılan yatırımlarla, iş gücü kaybının maliyeti yüzyılımızda ülkelerin önemli sorunu olarak gündeme gelmiştir (Koloğlu, 1998; WHO, 2003).

İleri yaşlarda kemik kütlesinde azalma görülse de her bireyde osteoporoz görülmez. Osteoporoz'un oluşumunda maksimum kemik kütlesinin miktarı ve kemik kaybının hızı önemli iki faktördür. Bireyin maksimum kemik kütlesine ulaştığı yaşamının yaklaşık ilk 1/3'lük kısmının sonundan itibaren çeşitli faktörlere bağlı olarak kemik kayıpları oluşur. Yaşam boyu aktif bir doku olma özelliğini koruyan kemik dokusunda, yapım ve yıkım olayı dokunun devamlılığı için bir denge halindedir. Bu denge yıkım yönünde olduğu zaman kemik kaybı hızı artar. Kemik kaybının hızını arttıran faktörler normal yaşlanma süreci, genetik çevre ve beslenme şartları, bazı kronik hastalıklar ve menapozdur (Kaplan et al., 1994). Osteoporoz kadınlarda erkeklere göre 3 kat daha fazla görülür. Çünkü kadınlar daha düşük düzeylerde maksimum kemik kütlesine sahiptir ve menapoz sonrası görülen hormonal değişiklikler bu hastalığın oluşumunu hızlandırır (WHO, 2003). Menapoza bağlı östrojen yetersizliği primer osteoporoz nedeni olarak bildirilmektedir (Kaplan et al., 1994; Koloğlu, 1998; WHO, 2003). Östrojen yetersizliği ile BMU'ların

oluşumunda artış görülür, rezorbe edilen kemik kadar yerine yeni kemik konulmadığı için BMU'lar tamamlanamaz ve kemik kütlesi azalır (Ott, 2002). Östrojenler sadece maksimum kemik yoğunluğunun oluşmasında değil bunun korunmasında da önemlidir. Östrojen ve mekanik yüklenmeler osteositlerin apoptosis'ini azaltarak osteosit popülasyonunu güçlendirir ve osteoklast apoptosis'ini artırarak rezorpsiyon kapasitesini azaltır. Ayrıca periosteal hücrelerin bölünmesini ve kemiklerde matriks sentezini artırır (Ehrlich and Lanyon, 2002). Menopoz ile birlikte östrojen yetersizliğine bağlı olarak, kemik yapım ve yıkım arasındaki dengenin negatif yönde hızlı bir şekilde bozulmasından dolayı osteoporozdan gelişir (Kaplan et al., 1994; Koloğlu, 1998; WHO, 2003). Kemik kayıp hızının dengeli olduğu yaşlılığa bağlı osteoporozda ise trabeküler ve kortikal kemik kaybı da dengededir (Atik, 1998; Lin and Lane, 2004).

2.2.2 Osteoporoz çalışmalarında kullanılan hayvan modelleri

Yirminci yüzyılın son dönemlerinde osteoporoz tanı ve tedavisindeki ilerleme ve gelişmeler büyük oranda uygun hayvan modellerinin kullanılmasıyla ilişkilidir (An ve Friedman, 1999). Kemik biyopsi uygulamalarındaki zorluklar, osteoporozun yavaş gelişen bir hastalık olması ve tedaviye yanıtın geç alınması yanında yaşam şekli, sigara, alkol, diyet gibi birçok faktörden etkilenmesi nedeniyle osteoporoz'a ilişkin çalışmalar için insanlarda homojen deney grupları oluşturulabilmesi çok zordur. Bundan dolayı genellikle uygun bir hayvan modeli ile homojen gruplar oluşturularak farklı tanı ve tedavi yöntemleri rahatça çalışılabilir (An and Friedman, 1999; Turner, 2001; Egermann et al., 2005). Hayvan modellerinde osteoporoz oluşturmak için ovariektomi uygulanması (Aerssens et al., 1993; Peng et al., 1994; Peng et al., 1997; Yang et al., 1997; Cao et al., 2001; Oberg et al., 2003; Egermann, 2005), ovariektomi ile birlikte kalsiyum- fosfor diyeti uygulanması (Tresguerres et al., 2002; Egermann, 2005), kortikosteroid uygulanması (Gafni et al., 2002; Egermann, 2005), kemikleri çeşitli yöntemlerle hareketsizleştirmek (Egermann, 2005) gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Kadınlarda menopozla birlikte görülen

östrojen eksikliğine bağlı kemiklerde zayıflama olgusunun hayvan modeli genellikle cerrahi işlemle ovariektomi uygulanarak gerçekleştirilir. Bu tür cerrahi yaklaşımlar ile doğal menopoz durumundaki kemiklere ilişkin belirgin farklılıklar yoktur. Östrojen eksikliği ile birlikte farklı kemik bölümlerinde kemik kaybı hızlanır. Trabeküler ve endokortikal kemik kaybı, kemik döngüsünün artışı ve geçici negatif kalsiyum dengesi ile birlikte görülür. Menopozdaki veya ovariumları inaktif dişilerde de östrojen tedavisi uygulandığında kemik döngüsü yavaşlar, kemik kaybı ile birlikte kemiğin kırılabilirliği de azalır. Günümüzde kullanılan birçok hayvan modeli verileri insanlardaki verilerle uyum sağlamakla birlikte tam olarak postmenopozal osteoporozu tek başına taklit edebilen bir hayvan modeli yoktur. Bu nedenle Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) postmenopozal osteoporoz tedavisinde kullanılacak bir ilacın prelinik testlerinde, ovariektomi uygulanmış ratlarda ve intrakortikal yeniden şekillenme de oluşturulabilen daha büyük bir hayvan modelinde dansitometrik, histomorfometrik, biyokimyasal ve biyomekanik testlerinin sonuçlarını zorunlu olarak istemektedir (An and Friedman, 1999; Turner, 2001; Kimmel, 2002). Ayrıca Uluslararası Standart Organizasyonu (ISO) bir ortopedik biyomateryalin doku ve kemik uyumunun değerlendirilmesi için rat modelini önermemekte, sadece tavşan, koyun ve köpek modelini önermektedir (Fini et al., 2004).

Deneysel çalışmalarda hayvan modelinin uygunluğu; hayvanın ekonomik değeri, rahatlıkla temin edilebilir olması, bakım ve çalışılma kolaylığı, üzerinde yapılacak işlemlerin geçerliliği ve uygulanabilirliği ile değerlendirilir (An and Friedman, 1999) Bu özellikleri göz önüne alınarak osteoporoz çalışmalarında kullanılan hayvan modelleri de aşağıda sırasıyla değerlendirilmiştir.

2.2.2.1 Rat

Rat, temin ve bakımının kolay olması, hızlı gelişen ve iyi tanımlanmış bir iskelet sistemine sahip olması ve ovariektomi uygulanmış ratlarda östrojen eksikliğinin ve tedavisinin belirtileri insan iskeletine benzerlik gösterdiği için, genellikle bu tür çalışmalarda en fazla kullanılan laboratuvar hayvanıdır (An and

Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner 2001). Dişi ratlarda kemik büyüme kırkırdaklarının kapanması 6.-8. aylarda tamamlanır ve maksimum kemik kütlesine 10 aylık yaşta ulaşırlar (An and Friedman, 1999). Ovariektomiye takiben ratlarda longitudinal kemik büyümesi kısa bir süre için hızlı bir şekilde artar. Bu durum yapılacak çalışma sonuçlarını olumsuz etkileyecek ise 9-12 aylık yaşlarda rat kullanarak veya longitudinal büyümenin büyük oranda azaldığı lumbal vertebra gibi kemik bölümleri kullanılarak minimize edilebilir (Turner, 2001). Bellino (2000) ise bu yaş aralığını 6-10 ay olarak belirtmiştir. Osteoporozla ilişkin deneysel çalışmalarda genelde 6-9 aylık dişi ratlar kullanılır ve bu hayvanlarda ovariektomi sonrası 6.-8. haftalarda östrojen tedavisine başlanabilir (Kimmel, 2002). Bazı araştırıcılar ise ovariektomi sonrası ilaç tedavisine geçilmesi için üç aylık bir süre önermektedir (Aldini et al. 2001). Dansitometrik, biyokimyasal, histomorfometrik ve mekanik testler kolaylıkla uygulanabilir. Ancak ovariektomi sonucu bazen doğal menopozun çalışılması için uygun olmayan aşırı bir östrojen eksikliği oluşabilir (Kimmel, 2002). Tekrarlayan veya çok fazla kan ve/veya kemik örnekleri alınması gereken çalışmalarda bu hayvanların kullanılması zordur (Rodgers et al., 1993; Turner, 2001). Ovariektomize ratlarda kortikal kemiğin Havers sistemlerinde kemik kaybı oluşmadığı için intra-kortikal yeniden şekillenmenin değerlendirilememesi (Mosekilde, 1995; An and Friedman, 1999; Turner, 2001), tibia'nın proksimal ucu gibi bazı kemik bölümlerinde kemik döngüsünün insana göre çok hızlı olması (Mosekilde, 1995) gibi dezavantajları da vardır. Ayrıca kırık tedavisi veya implant uygulaması gibi çeşitli ortopedik çalışmalar için ratların kemik büyüklüğü de yeterli değildir (Egerman et al., 2005).

2.2.2.2 Fare

Fare osteoporoz çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir hayvan türüdür. Östrojenin insan ve fare iskeletindeki etkileri benzerdir (An and Friedman, 1999). İnsandan farklı olarak ratlarda olduğu gibi bazı fare ırklarında ovariektomi sonrası kortikal kemik kaybı oluşmasa da (Edwards et al., 1992; Bellino 2000), bu tür

çalışmalar için transgenic (SAM/P6- senescence accelerated mouse) fare ırkları geliştirilmiştir. Ancak fareden alınacak kemik örneği miktarı histomorfometrik çalışmalar için yeterli olabilse de, çalışılacak kemik örneklerinin büyüklüğü rutinde kullanılan cihazlara uygun olmadığı için kemik yapısı ve dayanıklılığına ilişkin çalışmalar yetersizdir (An and Friedman, 1999; Bellino 2000).

2.2.2.3 Köpek

Erişkin köpekler, intra-kortikal yeniden şekillenmenin görülmesi nedeni ile yaşlanmaya bağlı olarak osteopeni oluştuğu için yaşlanma ile ilgili osteoporoz çalışmalarında güvenilir bir modeldir. Ancak ovariektomi ile östrojen eksikliği çalışmaları için uygun bir model değildir. Çünkü ovariektomi sonrası köpeklerdeki kemik kaybına ilişkin çelişkili bilgiler vardır (Shen et al., 1992; An and Friedman, 1999; Bellino, 2000 Turner, 2001; Kimmel, 2002). Ayrıca günümüzde çok sayıda köpek kısırlaştırıldığı halde postmenopozal insandaki gibi kırık olgularının çok fazla görülmemesi dikkat çekicidir (Egerman et al., 2005). Bundan dolayı FDA ovariektomize köpek modelini önermemektedir (An and Friedman, 1999).

2.2.2.4 Domuz

Domuzda ovarioektomi sonucu kemik kütlelerinde azalmalar tespit edilmişse de (Bellino, 2000), bu kemik kaybı ve yapısal hasarlar çok düşüktür (An and Friedman, 1999). Postmenopozal osteoporoz çalışmalarında büyük hayvan modeli olarak domuz kullanılabilmesi için daha fazla sayıda deneysel çalışma yapılması gerekmektedir (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000). Ancak bakım-beslenmesindeki zorluklar ve ekonomik nedenlerden dolayı kullanılması zordur (An and Friedman, 1999; Bellino 2000 ; Turner, 2001).

2.2.2.5 Koyun

Koyun, gerek ekonomik olması, kolay bulunabilirliği ve çalışma rahatlığı açısından gerekse osteoporoz modeli olarak uygunluğu açısından diğer büyük hayvan modellerine göre daha fazla tercih edilmektedir (Bellino, 2000; Turner 2001 ; Newton et al., 2004). Ancak günümüzde ovariektomize koyun modeli ile ilgili çalışmalar yeterli sayıda değildir. Bu nedenle model olarak kullanılabilmesi için erişkin koyunlarda ovariektomi ve kalsiyum eksikliği ile ilgili daha fazla çalışmaların yapılması önerilmektedir (Bellino, 2000; Turner, 2001; Egerman et al., 2005).

2.2.2.6 Primatlar

Primatların uygun bir hayvan modeli olması yanında (An and Friedman, 1999; Turner, 2001; Turner et al., 2001), maliyetlerinin çok yüksek olması, kolay bulunamaması ve rahat çalışılmaması nedeniyle de hayvan sayısı fazla tutulamadığı için yeterli sayıda çalışma yoktur (Turner, 2001; Turner et al., 2001; Bellino and Wise, 2003). Bu nedenlerle diğer hayvan modelleri denendikten sonra, son deneysel çalışmaların yapıldığı hayvanlardır (Turner, 2001).

2.2.2.7 Kanatlı hayvanlar

Kanatlı hayvanlar osteoporoz çalışmaları için uygun bir model değildir, çünkü iskelet yapılarındaki değişiklikler insanlardaki osteoporoz ile benzer değildir (An and Friedman, 1999).

1.2.2.8 Gelincik

Gelincik, intrakortikal yeniden şekillenme göstermesi ve ratlarda olduğu gibi ovariektomi sonrası kemik kaybı görülmesi nedeni ile postmenopozal osteoporoz için hayvan modeli olarak uygun olabileceği belirtilmektedir. Ancak fare ve ratta olduğu gibi iskelet sisteminin büyüklük olarak ortopedik çalışmalar için uygun olmaması

(Turner, 2001) ve ovariektomize gelincik modeline ilişkin yeterli sayıda çalışma olmaması nedeniyle çok fazla tercih edilmemektedir (An and Friedman, 1999; Turner, 2001; Kimmel, 2002).

2.2.2.9 Kedi

Kedi, insanlarla iç içe yaşayan hayvan olduğu için deneysel model olarak kullanımı zordur, ayrıca kedilerde ovariohisterektomi çok fazla uygulanmasına rağmen spontan kırık olgularının çok yoğun olarak gözlenmemesi nedeniyle osteoporoz çalışmalarında nadiren model olarak kullanılır (An and Friedman, 1999; Turner, 2001; Kimmel, 2002).

2.2.2.10 Kobay

Kobay, hem fare ve ratta olduğu gibi alınabilecek örneklerin yetersiz kalması hem de ovariektomi sonrası kemik kütlesindeki değişikliklerin yetersiz olması nedeniyle osteoporoz çalışmalarında tercih edilen bir hayvan değildir (An and Friedman, 1999; Turner, 2001; Kimmel, 2002).

2.2.2.11 Tavşan

Tavşan, ekonomik olması, çalışma kolaylığı, genetik olarak homojen ırkların rahatlıkla bulunabilmesi gibi nedenlerle diğer ortopedik çalışmalarda en fazla kullanılan deney hayvanı olmasına rağmen (An and Friedman, 1999; Turner, 2001), osteoporoz ile ilgili tavşan modelinin kullanıldığı çalışmalar çok azdır (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000; Norris et al., 2001; Turner, 2001). İnsan kemik fizyolojisine ilişkin çalışmalarda tavşanın uygun bir model olduğu, kemik gelişimi ve maksimum kemik yoğunluğu profillerinin insanlardakine benzediği belirtilmiştir (Norris et al., 2001). Osteoporoz oluşumunda önemli bir rolü olan (An and Friedman,

1999) maksimum kemik yoğunluğuna ilişkin çalışmalarda, iskelet sistemi daha çabuk geliştiği için tavşan, ratlara göre daha uygun bir hayvan modeli olduğu belirtildiği halde bu tür çalışmalar için normal değerler (kemik yoğunluğu, kemik mineral içeriği vb.) ok azdır (Norris et al., 2001). Tavşanda seksüel olgunluğu takiben kemik gelişimi hızla tamamlanır ve yaklaşık 6.-7. ayda epifiz plakları kapanır ve tavşanda kemik gelişimi insanda olduğu gibi primer olarak seks hormonlarına bağlıdır (Gilsanz et al., 1988; Lerner and Kuhn, 1997; Norris et al., 2001). Tavşanlarda düşük kalsiyum diyeti (Norris et al., 2001), paratiroid hormon (Hirano et al., 1999; Hirano et al., 2000; Mashiba et al. 2001) ve steroid (Gafni et al., 2002) etkili osteoporoz için önceden belirtilmiş bir hayvan modelidir. Yapılan literatür taramasında bir araştırmada ovariektomi uygulanmış Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda operasyonu takiben beş ile sekizinci aylarda kemik mineral yoğunluğu, kl içeriği ve kemik dayanıklılığı incelenmiştir (Yang et al., 1997). Mori et al. (1997), ovariektomi ve ovariektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uyguladıkları tavşanlarda yaptıkları implant denemesinin yanında operasyonu takiben altı aylık döneme kadar kemik mineral yoğunluğu değerlerini vermişlerdir. Ovariektomize tavşan modeline ilişkin diğer bir çalışmada ise altı aylık Japon tavşanında ovariektomi uygulanmış operasyonu takiben nc ayda corpus mandibula'da sadece kemik mineral yoğunluğu incelenmiştir (Cao et al; 2001). Hansen et al. (2001), ovariektomiyi takiben 6 hafta sonra tavşan kemiklerinin metaphysis'lerinde vasküler değişikliklerin başladığını tespit etmiştir. Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada ise sekiz aylık Yeni Zelanda tavşanlarında ovariektomi ile birlikte kortikosteroid uygulamak sureti ile osteoporoz modeli oluşturulmuştur. Çalışmada sadece lumbal vertebralar, art. genu bölgesi ve tibia'nın korteksinden kemik mineral yoğunluğu ölçümleri alınmıştır (Castenada et al., 2005)

Ovariektomi uygulanmış tavşanlarda yapılmış dört adet deneysel araştırma tespit edilebilmiştir. Ovariektomize beş-altı aylık tavşanlarda Ilizarov external fiksator uygulanarak distraction osteogenesis üzerine osteoporoz etkisinin çalışıldığı bir deneysel çalışmada kallusun daha osteoporotik olduğu ve yeni kemik oluşumunun yavaş olduğu tespit edilmiştir (Arslan ve arkadaşları, 2003). Diğer bir çalışmada ise erişkin dişi tavşanlarda ovariektomi sonrası osteoinductive bir

maddenin kemik yapımı üzerine etkisi incelenmiştir (Oberg et al., 2003). Mori et al. (1997) ise erişkin Japon tavşanda ovariektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uygulamış ve tibia üzerine uyguladıkları implantın uyumunu histolojik yöntemlerle ve kemik dansitesi ölçümü ile değerlendirmişlerdir. Tresguerres et al. (2002) üç aylık Yeni Zelanda tavşanında Mori et al. (1997)'ın kullandığı yöntemle osteoporoz oluşturarak tibia üzerinde implant denemesi yapmış ve histolojik yöntemler ve kemik dansitesi ölçümü ile değerlendirmiştir.

Her ne kadar östrus siklusu ve ovulasyon zamanının insandakine benzememesi bir dezavantaj olarak belirtilse de (Bellino, 2000; Kimmel, 2002) ovariektomi uygulanmış tavşan modelinde osteoporozla ilişkin yapısal değişikliklerin olduğu yukarıda da belirtilen kısıtlı sayıda çalışmada görülmektedir. Ayrıca konu ile ilgili derleme ve kaynak kitaplarda da ovariektomi uygulanmış tavşan modeline ilişkin çalışmaların çok yetersiz olduğu (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner, 2001; Kimmel, 2002) ve çeşitli ortopedik çalışmalarda en fazla kullanılan hayvan olan tavşanın, osteoporoz modeli olarak kullanıldığı çalışmaların bu kadar az olmasının şaşırtıcı olduğu belirtilmektedir (Bellino, 2000, Turner, 2001). Tavşanın osteoporoz modeli olarak kullanıldığı deneysel çalışmaların azlığı da tavşan modeline ilişkin normal değerlerin sunulduğu çalışmaların yetersizliğinden kaynaklanmaktadır (Bellino, 2000).

2.2.3 Osteoporozda tanı yöntemleri

Hekimlikte osteoporozun tanısında kullanılan yöntemler biyokimyasal tanı yöntemleri, radyolojik tanı yöntemleri, kemik yoğunluğu ölçümü ve histolojik yöntemler olarak sınıflandırılabilir (Atik, 1998).

2.2.3.1 Biyokimyasal tanı yöntemleri

Osteoporozda biyokimyasal tanı yöntemleri, esas olarak kemik döngüsündeki yapım (formasyon) ve yıkım (rezorpsiyon) ürünlerine ilişkin parametrelerin

incelenmesidir. Kemik matriksinin yapım ve yıkım hızı; yapım ve yıkımdan sorumlu hücrelerin alkalen fosfataz ve asit fosfataz gibi enzimatik aktivitelerin ölçümü veya yapım ve yıkım sırasında dolaşıma salınan kemik matriks elemanlarının serum düzeylerinin ölçümü ile değerlendirilir (Koloğlu, 1998).

Kemik yapımını gösteren biyokimyasal parametreler alkalen fosfataz, osteokalsin ve tip I kollajenin propeptitleridir.

Alkalen fosfatazın kemik, karaciğer, bağırsakta, böbrek ve plasenta da izoenzimleri bulunur. Sağlıklı bireylerde %50'si kemik kökenlidir. Serum total alkalen fosfataz aktivitesi en sık kullanılan kemik yapım parametresi olmakla birlikte, vücutta sadece kemikte bulunmadığından kemik döngüsünün değerlendirilmesinde duyarlılığı ve yorumlanması zordur (Alper ve arkadaşları, 1997; Atik, 1998; Koloğlu, 1998; Allen, 2003). Bu nedenle kemiğe özgü alkalen fosfataz ölçümlerinin değerlendirilmesi daha doğru olur. Bu ölçüm ise kimyasal inhibisyon, jel elektroforezi ve ısı inaktivasyonu ile yapılabildiği gibi, radioummunoassay (RIA) ve Enzim-bağlı immunoassay (ELISA) testleri ile geçerli bir şekilde yapılabilir (Allen, 2003).

Osteokalsin, sadece osteoblastlar tarafından sentez edilen bir proteindir. Kemik döngüsünün hızlandığı durumlarda osteokalsin aktivitesi artar. Kemik yıkım ve yapımının dengede olduğu durumlarda kemik döngüsü hızını, dengenin bozulduğu olgularda ise yapımı gösteren bir biyokimyasal parametredir (Koloğlu, 1998). Serum osteokalsin seviyesi RIA ve ELISA ile tespit edilebilir (Allen, 2003).

Tip I kollajen propeptitleri, yeni kemik oluşumunda tip I kollojenin sentezini gösteren serum amino-terminal ve karboksi-terminal propeptitleridir (Allen, 2003). Osteoporozda bu değerler düşer (Atik, 1998). Bu parametreler serumda RIA ve ELISA ile tespit edilebilir (Allen, 2003).

Kemik yıkımını gösteren biyokimyasal parametreler tip I kollajenin telopeptitleri, pridinoline ve deoxypridinoline, hydroxiprolineline'dir.

Tip I kollajen telopeptitleri, tip I kollojenin yıkımı ile ilişkili olarak artan N-terminal telopeptit (NTX) ve C-terminal telopeptit (CTX)'dir. Kemik rezorpsiyonu ile bu parametrelerin değeri artar. Serum ve idrarda ELISA yöntemi ile ölçülebilmektedir (Koloğlu, 1998; Allen, 2003).

Osteoklastik kemik rezorpsiyonu sonucu gene kollajenin yıkımı ile pridinolin ve deoksidridinolin ortaya çıkan diğer yıkım ürünleridir. Bu parametreler ELISA testi ile kontrol edilebilir. Pridinolin serum ve idrarda bakılabilirken, deoksidridinolin sadece idrarda bakılabilir (Allen, 2003).

Kollajen yıkımı ile ortaya çıkan diğer bir parametre olan hidroksiprolin, idrarda kolorimetrik yöntemler (Koloğlu, 1998) veya ELISA ile (Allen, 2003) bakılabilir.

Kalsiyum ve fosfor değerleri kemik döngüsünün değerlendirilmesinde kullanılan parametreler olmasına rağmen geçerliliği yukarıda bahsedilen parametrelere göre çok azdır (Koloğlu, 1998). Osteoporozda serum Ca ve P değerleri normal veya normale yakındır. 24 saatlik idrarda Ca atılımı hafifçe yükselebilir (Atik, 1998).

2.2.3.2 Kemiğin histolojik ve geometrik özelliklerinin incelenmesi

İnsan hekimliğinde crista iliaca'dan biyopsi alınarak osteoporozun histomorfometrik değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Günümüzde kemik döngüsüne ilişkin çeşitli biyokimyasal yöntemler ve kemiğin mikro yapısının incelenebildiği yeni tekniklerin gelişmesi nedeniyle genellikle bu yöneme, ayırıcı tanılarda ihtiyaç duyulmaktadır (Shields and Chesnut, 2001). İnvaziv bir girişim olmasının yanı sıra kısıtlı merkezlerde yapılır (Atik, 1998).

Osteoporosis'e ilişkin bir ilaç denemesi yapılacaksa, kullanılan hayvan modelinde histolojik verilerin de olması gerekmektedir. Hayvan modellerinin kullanıldığı deneysel çalışmalarda ise çeşitli histolojik ve histomorfometrik metotlar sıklıkla kullanılmaktadır. Genellikle ortopedik bir deneysel çalışmada kemikteki histolojik değişikliklerin kantitatif değerlendirilmesi birinci aşamadır (An and Friedman, 1999). Konu ile ilişkin birçok hayvan modeli çalışmasında da, dekalsifiye edilmemiş kemikten elmas uçlu mikrotomlar ile alınan kesitlerden hazırlanan örnekler, özellikle "American Society of Bone and Mineral Research" tarafından

bildirilen kemik dokudaki histomorfometrik değerlendirme kriterlerine göre incelenmiştir (Aerssens et al., 1993; Hirano et al., 1999; Hirano et al., 2000; Aldini et al. 2001; Mashiba et al., 2001; Giardino et al., 2004)

Çeşitli deneysel çalışmalarda kemiğin gerek geometrik özellikleri gerekse histomorfometrik özellikleri kemikte oluşan yapısal değişiklikleri değerlendirmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Nakamura et al., 1992, Hirano et al., 2000, Moran et al., 2000; Pysklywec et al., 2000; Reddy and Lakshmana, 2003). Bu tür çalışmalarda özellikle kemiklerden histolojik, anatomik veya radyolojik yöntemlerle kesit görüntüleri elde edilir. Bu görüntülerde kemiğin çapları, toplam alanı, substantia kompakta ve cavum medullare alanları, trabeküler kemik alanı gibi ölçümsel değerler kullanılmaktadır. Ayrıca, özellikle uzun kemiklerin corpus'undan alınan kesit görüntülerinde kemiğin iç ve dış çapları kullanılarak atalet momenti değeri hesaplanır. Atalet momenti, kesit görüntüde kemiğin çeşitli eksenlerine (X ve Y eksen) göre hesaplanabilir ve bu değer kemiğin sadece morfometrik özelliklerine bağlı olarak belirtilen eksenlerdeki eğilmeye karşı dayanımını verir. Bu eksenlerden hesaplanan değerlerin toplamına eşit olan "Polar atalet momenti" ise kemiğin merkezinde burma kuvvetlerine karşı olan dayanımını verir (Ann and Friedmann, 1999; Hirano et al., 2000; Turner and Burr, 2001). Atalet momenti değeri biyomekanik yöntemlerle test edilen bir kemiğin esneklik kat sayısı ve dayanım gibi dokusal düzeyde biyomekanik değerlerin hesaplanmasında kullanıldığı gibi (Nakamura et al., 1992; Peng et al., 1997; Hirano et al., 2000; Moran et al., 2000; Pysklywec et al., 2000; Reddy and Lakshmana, 2003) mekanik test uygulamadan kemiğin mekanik özelliklerinin değerlendirilmesinde de sıklıkla kullanılmaktadır (An et al.,1996; Pyskleywec et al., 1999; Hirano et al., 2000; Bagi et al., 2006).

2.2.3.3 Kemik yoğunluğunun ölçülmesi

Kemiğin yoğunluğu, kemiğin fizyolojik ve patolojik durumunun önemli bir göstergesidir. Bu nedenle kemik mineral yoğunluğu bireylerde kırık riskini ortaya koyan önemli ölçülerden biri olarak kabul edilmektedir. Kemikte kül miktarı ve

içeriğinin belirlenmesi kemik yoğunluğuna ilişkin destekleyici bilgi verse de (Mosekilde, 1995; Peng et al., 1997) günümüzde iskeletin farklı bölümlerinde kemik yoğunluğunun kolaylıkla saptanabildiği çeşitli görüntüleme yöntemleri bulunmaktadır. Osteoporoz tanısı ve tedavinin takibinde kemik yoğunluğu ölçümü gerek klinik uygulamada gerekse araştırmaların yürütülmesinde önemli bir yöntemdir (Tüzün, 1999; WHO, 2003).

Kemik doku hacmi, mineral ve hücre yoğunluğunu ölçmek için kullanılan çeşitli yöntemler aşağıda anlatılmıştır.

2.2.3.3.1 Röntgen

İnsan hekimliğinde standart röntgenlerde kemik kaybının ortaya konması için total kemik kütlelerinin en az %30'unun kaybolması gerekmektedir. Osteoporozlu röntgenlerde kortikal kemikte substantia compacta'nın incelendiği cavum medullare'nin genişlediği ve endocortikal yüzeyde düzensizlikler görülebilir. Trabeküler kemikte ise trabeküllerin aralıklarının genişlediği, enine trabeküllerin kaybolduğu daha fazla ağırlık taşıyan boyuna trabeküllerin kalınlaştığı görülebilir (Greenspan, 2004).

Bunun dışında röntgen yardımı ile osteoporoz tanısına yardımcı olmak için bazı indeksler geliştirilmiştir. Bu indekslerden birisi femur'un proksimal bölümündeki trabekülasyonların sınıflandırıldığı "Singh indeks"idir. Femur'un proksimalindeki trabeküle ağırlığı aktarma şekillerine göre çekme ve basma trabekülleri olarak ayrılır. Bu indekste osteoporoza bağlı olarak bu trabeküllerde azalma altı grupta sınıflandırılmıştır (Koot et al., 1996; Atik, 1998; Greenspan, 2004). Diğer bir yöntem ise T₇- L₄ arasındaki vertebraların şeklinin puanlandığı "Meunier indeks"idir (Akdilli, 1993). Bu indeksler radyografilerin puanlanması yoluyla elde edilen göreceli indekslerdir. Bunların dışında kullanılan ve radyomorfometrik olarak elde edilen diğer bir indeks ise "metacarpus indeks"idir. Bu yöntemde ise ikinci veya üçüncü metacarpusun ortasında kortikal kalınlığın, kemik çapına oranı hesaplanarak kortikal kemik oranı ortaya konulmaktadır (Sparrow et al.,

1982; Warreen and Ferris, 1993; Wishart et al., 1993; Kiel et al., 2001; Çelikleş ve arkadaşları, 2002). Bu yöntemler, değerlendiren kişilere veya röntgen filminin kalitesine bağlı olarak yorumlama farklılık oranının yüksek olması nedeniyle genellikle epidemiyolojik kitle taramalarında kullanılmaktadır (Sparrow et al., 1982; Akdilli, 1993; Wishart et al., 1993; Atik, 1998; Kiel et al., 2001; Çelikleş ve arkadaşları, 2002; Greenspan, 2004). Ayrıca bir alüminyumun parçası ile birlikte radyografisi alınan metacarpus veya phalanx'ların görüntülerinde dijital ortamda yoğunlukları karşılaştırılarak kemik yoğunluğun değerlendirildiği radyografik absorpsiyometri (fotodansitometri) yöntemi (Hagiwara et al., 1996) özellikle epidemiyolojik kitle taramalarında kullanılmaktadır (Trouerbach et al., 1993; Zhang et al., 2000).

Hayvan modellerinde de osteoporoz'un değerlendirilmesi için ratlarda femur geometrisinde radyogrametrik yöntemlerin kullanıldığı çalışmalar da vardır. (Aerssens et al., 1993; Petrikowski and Overton 1996).

2.2.3.3.2 Kantitatif kompüterize tomografi (Quantitative Computerize Tomography-QCT)

Kantitatif Kompüterize Tomografi ile trabeküler, kortikal veya her iki kemik bölümü birlikte axillar veya appendicular iskelette incelenmektedir (Tüzün, 1999). Bu yöntemde taranan bölgenin kesit görüntüleri alınır ve bu kesitlerde kemik yoğunluğu cihazın verdiği Hounsefield Unit (HU) olarak ölçülür. Kemik mineral dansitesini hesaplamak için ışın zayıflatma özelliği kemikteki hidroksiapatitin ışın zayıflatma özelliğine benzeyen dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) (Akdilli, 1993), alüminyum (Brodt et al., 2003) ve hidroksiapatit (Hong et al., 2000) gibi maddelerde fantom olarak kullanılır. Daha sonra yoğunluk ölçümü yapılan bölgeden elde edilen değerler ile fantomdan elde edilen değerler oranlanarak suretiyle kemik yoğunluğu hesaplanır (Akdilli, 1993; Alper ve arkadaşları, 1997; Greenspan, 2004). Eğer bu yöntemde vertebralarda değil de ekstremitelerde ölçüm yapılırsa periferik kantitatif kompüterize tomografi terimi kullanılmaktadır (WHO, 2003).

DEXA ve DPA gibi yöntemlerle iki boyutlu görüntüde mg/cm^2 cinsinden kemik mineral yoğunluğu ölçülebilirken Kantitatif Kompüterize Tomografi ile üç boyutlu volümetrik ölçüm yapılarak mg/cm^3 cinsinden kemik mineral yoğunluğu değeri elde edilebilir (Tüzün, 1999; Cao et al., 2001; Kauffman and Siffert, 2001).

Özellikle trabeküler kemiğe ilişkin hasarlarda tanı açısından en yüksek duyarlılığa sahip sistem kantitatif tomografidir (Grier et al., 1996; WHO, 2003). Ayrıca trabeküler kemiğin DEXA'ya göre daha iyi incelenebilmesi, çeşitli dejeneratif durumlarda daha geçerli sonuç vermesi, kemiğin şekli ve morfolojisi hakkında bilgi verebilmesi gibi avantajları vardır. Dezavantajları ise radyasyon yayma oranının DEXA'dan çok fazla olması (Grier et al., 1996), standart ölçümün DEXA'ya göre daha zor olması ve maliyetinin yüksek olmasıdır (WHO, 2003).

Fare (Brodt et al., 2003), rat (Iida and Fukuda, 2002; Bagi et al., 2006), tavşan (Gilsanz, 1988; Hirano et al., 1999; Cao et al., 2001; Martin et al., 2004; Bagi et al., 2006) gibi hayvanlarda yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda diseke edilmiş kemikler kullanılarak kantitatif tomografi ile kemik yoğunluğunun değerlendirilmesi sıklıkla kullanılmış bir yöntemdir. Ayrıca son yıllarda deney hayvanlarında kemik yoğunluğu ile birlikte kemik doku ile ilgili mikro düzeyde daha değerli bilgiler verebilen mikro bilgisayarlı tomografi kullanımına ilişkin bilgiler de mevcuttur (Lerner and Kuhn., 1997; Bagi et al., 2006).

2.2.3.3 Kantitatif ultrasonografi (Quantitative Ultrasonography - QUS)

Kantitatif ultrasonografi, ultrasonik dalgaların kemik içinden geçerken uğradığı fiziksel değişimler esas alınarak geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntem kemik yoğunluğu ile beraber kemiğin iç yapısı ve esneklik katsayısı (katılığı) hakkında da bilgi verir. Bu yöntem radyasyon alımının olmaması, ucuz, kullanımı kolay, noninvaziv bir yöntem olması nedeni ile klinik tanıda (Tüzün, 1999; WHO, 2003; Sakata et al., 2004) ve deneysel çalışmalarda (An and Friedman, 1999; Pressel et al., 2005) kullanım alanı bulmaktadır.

2.2.3.3.4 Magnetik rezonans (Magnetic Resonans- MR)

Bu yöntemle trabeküler kemik alanı oranı (BV/TV), trabeküler kalınlık (TbTh), trabeküller arası aralık (TbSp), trabekül sayısı (TbN) hesaplanabilir (Alper ve arkadaşları, 1997; Wang and Ni, 2003). Ayrıca kortikal kemik kesitlerinde de MR ile kemik yoğunluğu hakkında bilgi edinilebilir (Hong et al., 2000). Bu yöntem ile elde edilen değerlerin vücudun değişik bölgelerinde farklı olan trabekül yerleşimi ve MR cihazının gücüne bağlı olarak gösterdiği değişimin belirlenmesi için daha bir çok araştırmaya gerek vardır (Alper ve arkadaşları, 1997).

2.2.3.3.5 Tek fotonlu absorpsiyometri (Single photon absorptiometry - SPA)

Tek foton absorpsiyometri (SPA) yönteminde çoğu dansitometre yöntemi gibi kemik tarafından absorbe edilen foton radyasyon ölçümünü temel almaktadır. Radyasyon kaynağı olarak Iodin kullanılmaktadır. Bu yöntemde kemik – yumuşak doku ayrımı sağlıklı bir şekilde yapılamaz (Tüzün, 1999). Bu nedenle hatayı en aza indirmek amacı ile su yastığı kullanılır ve yumuşak dokuların kısmen az olduğu calcaneus ve radius gibi periferik bölgelerden ölçüm yapılabilmektedir (Alper ve arkadaşları, 1997; Tüzün, 1999). Yöntemde radius düzeyinde alınan ölçümler total vücut miktarı ve kalsiyum ile korelasyon gösterdiği ancak vertebral kemik kütlesi ile korelasyon göstermediği saptanmıştır. Bu yöntemde kemiği saran yumuşak doku kitlesinin uniform bir kalınlıkta olması gerektiğinden columna vertebralis'te kemik yoğunluğu ölçümü yapılamamaktadır (Alper ve arkadaşları, 1997). Ancak ekonomik olması, radyasyon alımının az olması ve uygulama kolaylığı nedeni ile halen kullanılmaya devam edilmektedir (Tüzün, 1999).

Bu yöntem rat (Aerssens et al., 1993) ve tavşanda (Nakamura et al., 1992) yapılan deneysel çalışmalarda kemik yoğunluğunun değerlendirilmesi için kullanılmıştır.

2.2.3.3.6 Çift fotonlu absorpsiyometri (Dual photon absorptiometry - DPA)

Bu sistemde radyasyon kaynağı olarak Godolonyum kullanılır. Kaynaktan çıkan ışın yüksek enerjili olduğu için hem kemiği hem de yumuşak dokuları geçebilir. Bu nedenle su yastığına ihtiyaç olmadan kemik- yumuşak doku sınırı daha net bir şekilde belirlenir. Columna vertebralis ve femur gibi bol miktarda yumuşak doku ile çevrili bölgelerde ölçüm yapılabilir (Alper ve arkadaşları, 1997; Tüzün, 1999). Bu sistemde çekim zamanı uzundur ve alınan radyasyon miktarı yüksektir (Alper ve arkadaşları, 1997).

2.2.3.3.7 Tek enerjili X ray absorpsiyometri (Single energy X-ray absorptiometry - SXA)

Bu sistemde SPA'dan farklı olarak enerji kaynağı X ışınıdır. Ancak SPA cihazları gibi bu sistemde de yumuşak dokunun ayrımı zor yalabilmektedir. Bu nedenle bu yöntemde yumuşak doku miktarının az olduğu ön kol ve calcaneus gibi periferik bölgelerden ölçüm yapılabilir. Alınan radyasyon dozu SPA'ya göre daha düşüktür.

2.2.3.3.8 Çift enerjili X ray absorpsiyometri (Dual energy X - ray absorptiometry - DXA , DEXA)

DEXA son yıllarda altın standart olarak kabul edilen ve yaygın kullanımda olan en gelişmiş kemik yoğunluğu ölçüm yöntemidir (WHO, 2003; Elçi, 2004). Teknik özellikleri açısından DPA'ya benzer, ancak radyasyon kaynağı olarak çift enerjili x ışını kullanılır. Böylece görüntülerde daha yüksek rezolüsyon, daha kısa tarama zamanı ve daha düşük radyasyon dozu elde edilir. DPA'da olduğu gibi yağ ve protein ölçümleri de yapılabilir. Bu sistemde tüm vücut taraması yapılabildiği gibi

columna vertebralis, coxa, ön kol, ve calcaneus ölçümleri yapılabilir. Ayrıca geliştirilen yeni yazılımlar ile özel amaçlı ölçümler vücudun hemen hemen her bölgesinde yapılabilir (Elçi, 2004).

Rat, kobay, tavşan ve kedi gibi küçük hayvanlarda DEXA ile ölçüm yaparken yüksek rezolüsyonlu yazılım programlarının kullanılması gerekmektedir. Hayvanlardan çıkartılan kemiklerin direkt ölçümü yapılacaksa artefaktı ortadan kaldırmak için kemikler plastik veya akrilik kutularda etanol jel, su veya fizyolojik tuzlu su içerisine konularak kemik sınırları daha rahat belirlenerek ölçüm yapılabilir (Grier et al., 1996).

Dexa yöntemi ile kemik yoğunluğunun değerlendirilmesi hayvan modellerinde de en fazla tercih edilen bir yöntemdir. Yapılan literatür taramasında da rat (Escribano et al., 1997; Syversen et al., 1999; Bennell et al., 2002; Karahan et al., 2002; Bagi et al., 2006), kobay (Fink et al., 2002), tavşan (Ueng et al., 1998; Hirano et al., 1999; Mashiba et al., 2001; Norris et al., 2001; Tresguerres et al., 2002; Giardino et al., 2004; Castaneda et al., 2006) ve köpekte (Shen et al., 1992) gerek anestezi altındaki hayvanda gerekse diseksiyon edilmiş kemiklerde kemik yoğunluğu ölçümü yapılmıştır.

Kemik mineral içeriği (BMC) terimi taranan bölgedeki kemiğin mineral miktarını tanımlar. Bu değer tek enerji metodlarında (SXA, SPA) kemik uzunluğu başına düşen kemik mineral içeriği (gr/cm) olarak, çift enerji metodlarında taranan bölgedeki kemik kütlesi (gr) olarak verilir. Kemik mineral yoğunluğu (BMD) ise tek enerji metodlarında BMC'nin taranan kemiğin genişliğine bölünmesi, çift enerji metodlarında ise taranan alana bölünmesi ile ortaya çıkar (Elçi, 2004). Bu değer kantitatif tomografide volümetrik olarak (gr/cm^3) elde edilirken absorbtometri yöntemlerinde alan olarak (gr/cm^2) elde edilir (WHO, 2003). Taranan bölgedeki birim alana düşen kemik yoğunluğunu gösterdiği için değerlendirmede BMD değeri BMC'den daha güvenilir sonuçlar verir (Grier et al., 1996).

İnsan hekimliğinde istatistiksel veriler çok daha kolay ve fazla sayıda elde edilebildiği için absorbtometrik yöntemlerle iskeletin değerlendirilmesi bazı indekslere göre de yapılabilmektedir. Bu indeksler çeşitli yaş, ırk ve cinsiyete göre elde edilmiş ve bilgiler cihazların yazılımlarına girilmiştir. Bu nedenle tarama

sonucunda cihaz direkt olarak kemik kaybına ilişkin bilgi verebilmektedir. Bu indekslerden en fazla kullanılanları Z skoru ve T skorudur (Kimmel, 2002; Elçi, 2004).

Z skoru: Ölçümü yapılan kişi BMD'sinin kendi yaş grubu ortalamasına göre durumunu gösterir.

T skoru: Ölçümü yapılan kişi BMD'sinin genç erişkinlerde görülen ortalama maksimum kemik yoğunluğu değerlerine göre durumunu gösterir.

3. MATERYAL METOT

3.1 Materyal

Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan etik kurul izni alınarak, Sinopet firmasından temin edilen 28 adet, dört aylık Yeni Zelanda tavşanı (*Oryctolagus cuniculus* L) ile başlandı. Hayvanlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesindeki 50x80x50cm boyutlarındaki paslanmaz çelik tavşan kafeslerine her bir kafeste iki hayvan olacak şekilde yerleştirildi.

Günlük bakım ve besleme işlemleri her sabah saat 9.⁰⁰-10.⁰⁰ arasında yapıldı. Hayvanların yem ve suları sınırsız olarak verildi. Hayvanların beslenmesinde içeriği çizelge 2'de verilen Yetişkin Tavşan Yemi (Purina, Bolu) kullanıldı. Sulama için , kafeslerde otomatik suluk sistemi kurularak şişe suyu (Labranda, Aydın) verildi.

Çizelge 2. Yetişkin tavşan yemi içeriği

Kuru Madde	%88.0
Ham Protein	%15.0
Ham Selüloz	%17.0
Ham Kül	%10.0
Kalsiyum	%0.9-1.1
Fosfor	%0.6
Sodyum	%0.2-0.4
NaCl	%1.0
Metabolik Enerji	2300 Kcal/kg

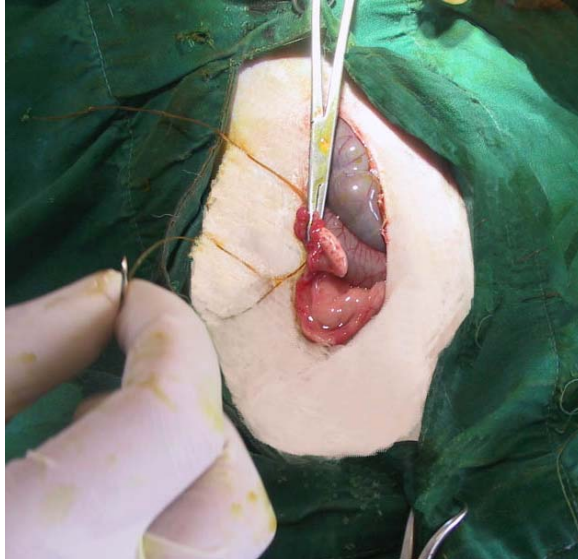
Çalışmanın birinci ayından itibaren otuz günlük bir sürede hayvanların günlük yem tüketimi ölçülerek hayvanların canlı ağırlığına göre ortalama günlük yem tüketimleri hesaplandı. Hayvanlar öncelikle adaptasyon amacıyla iki ay süre ile ADÜ Deneysel hayvanları ünitesinde bekletildi. Bu dönemde hayvanlara koruyucu amaçla Enrofloksasin (5mg/kg) (Baytril-K®, BAYER) uygulandıktan 10 gün sonra hayvanların sağlık kontrolleri yapıldı. Bu amaçla hayvanların iç ve dış parazit kontrolü ile birlikte total kan sayımı, serum Alkalen fosfatase (ALP), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), kreatinin, total protein, albumin, kalsiyum ve fosfor düzeylerine bakıldı. Alınan kan ve plazma örneklerindeki ölçümler ADÜ Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan Abacus Junior marka kan sayım cihazı ve Microlab 200 spektrofotometre cihazı ile yapıldı. Adaptasyon döneminde ve çalışmanın devam ettiği süreçte ayak yaraları olan ve genel sağlık kontrolü sonucu uygun şartları sağlayamayan dört adet tavşan çalışmadan çıkarıldı. Çalışmaya başlamadan önce dijital tartı ile canlı ağırlık kayıtları alındı. Daha sonra hayvanlar canlı ağırlıkları arasında istatistiksel farklılık olmayacak ve homojen dağılım gösterecek şekilde operasyon grubu 12 adet tavşan ve kontrol grubu 12 adet tavşan olmak üzere iki gruba ayrıldı. Çalışma süresince ayda bir defa genel sağlık kontrolleri yapılarak ağırlık kayıtları tekrar alındı (Çizelge 4, 5). Operasyonları takiben ikinci ay ve dördüncü ayda her gruptan altı adet hayvanın kemik yoğunluğu belirlenip kan örnekleri, ağırlık kayıtları alındı. Daha sonra kas içi yolla 5 mg/kg im Xylazine (Alfazyne®, EGE- VET) ve 35 mg/kg ketamin HCl (Alfamine®, EGE-VET) ile anesteziye alındıktan sonra v. auricularis rostralis yolu ile 20 mg Suskamentonyum klorür (Lysthenon® Forte %2 Ampul, FAKO) verilerek hayvanların ötenazisi gerçekleştirildi.

3.2 Metot

Aşağıda belirtilen bütün yöntemlerin uygulanması sırasında kişiye, ortama, tekniğe bağlı hataları en aza indirmek amacıyla tüm uygulamalar ve analizler bir kontrol grubundan bir ovariektomi grubundan hayvanda yapıldı.

3.2.1 Operasyon

Operasyona alınacak hayvanlar operasyonun bir gün öncesinde aç bırakıldı. Genel anestezi amacıyla hayvanlara kas içi yolla 5 mg/kg im Xylazine (Alfazyne®, EGE- VET) ve 35 mg/kg ketamin HCl (Alfamine®, EGE-VET) uygulandı. Anesteziye alınan hayvanlarda karın bölgesi tıraş edildikten sonra, operasyon bölgesinin antisepsisi iyotlu antiseptiklerle (polyvinylpyrolidon) yapıldı. Paramedian olarak yapılan 2-3 cm'lik enzisyon hattından karın boşluğuna girilerek ovariektomi grubundaki hayvanlarda mesovarium ve tuba uterina'ya çift ligatür uygulanarak ovariumlar bilateral olarak alındı (Şekil 1). Ovariektomi sonrası karın duvarı kapatıldı. Kontrol grubu hayvanlarda ise karın boşluğu açılarak ovaryumlara ulaşıldıktan sonra hiçbir işlem yapılmadan karın boşluğu kapatıldı. Tüm hayvanların operasyonları bir kontrol bir ovariektomi grubundan hayvanda operasyon uygulanacak şekilde üç gün içerisinde tamamlandı. Operasyon sonrası hayvanlar temiz kafeslere alınarak ve postoperatif koruyucu amaçla Sulfadoxine-Trimethoprim (Bakteral®, TOPKİM) uygulandı (Hiller and Quesenberry, 1997).



Şekil 1. Tavşanda ovarium'un görünümü

3.2.2 Biyokimyasal analizler

Biyokimyasal analizlerde gerekli miktarda plazma elde edebilmek için a. auricularis media yolu ile 20 G kanül kullanılarak Lithium heparin içeren tüplere 5 cc kan alındı. Alınan kanlardan plazma örnekleri çıkarılarak ependorf tüpleri içerisinde -25 °C’de saklandı. Daha sonra her analiz için örnekler çözdürülerek ADÜ Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan Microlab 200 spektrofotometre cihazında Alkalen phosphatase (ALP), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), kreatinin, total protein ve albumin, Shimatsu marka spektrofotometre cihazı ile de kalsiyum, fosfor değerleri Diasis marka analiz kitleri kullanılarak belirlendi. Çalışmanın başlangıcında yapılan bu biyokimyasal analizler ikinci ayda ve dördüncü ayda tekrarlandı.

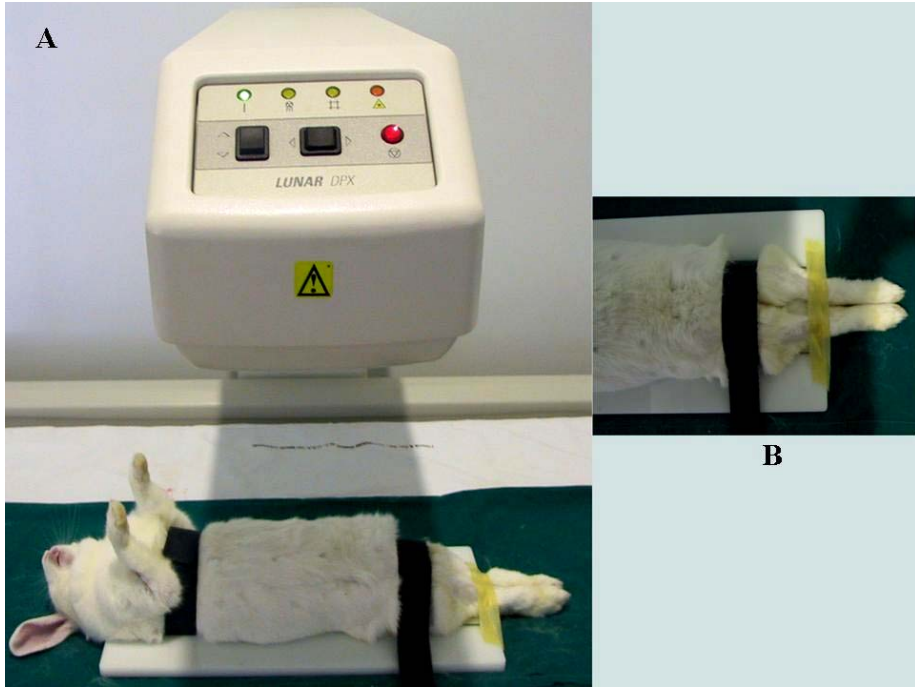
3.2.3 Kemik mineral yoğunluğu ölçümü

Tavşanlarda kemik mineral yoğunluğu ölçümü, Aydın Bilim Görüntüleme Merkezinde bulunan Ge Lunar DPX cihazının (Şekil 2) küçük hayvan programı kullanılarak operasyonu takiben operasyondan önce, ikinci ayda ve dördüncü ayda hem genel anestezi altındaki canlı hayvanlarda hem de ötenazi sonrası diseke edilmiş kemiklerde yapıldı.

Canlı hayvanda kemik mineral yoğunluğu ölçümü için anestezi altındaki hayvanlar cihazın ön kol aparatı üzerine sırt üstü yatırılıp (dorsal recumbens) sabitleme bantları ile tam ortaya gelecek şekilde tespit edildi (Şekil 3). Daha sonra cihazın küçük hayvan çekim programı kullanılarak her iki bacağın aynı anda görüntüsü elde edildi. Ötenazi sonrası diseke edilerek temizlenen femur’lar ise plastik bir kapda 3 cm yüksekliğinde serum fizyolojik sıvısı içerisine yerleştirildikten sonra aynı program kullanılarak görüntüler elde edildi (Grier et al., 1996).

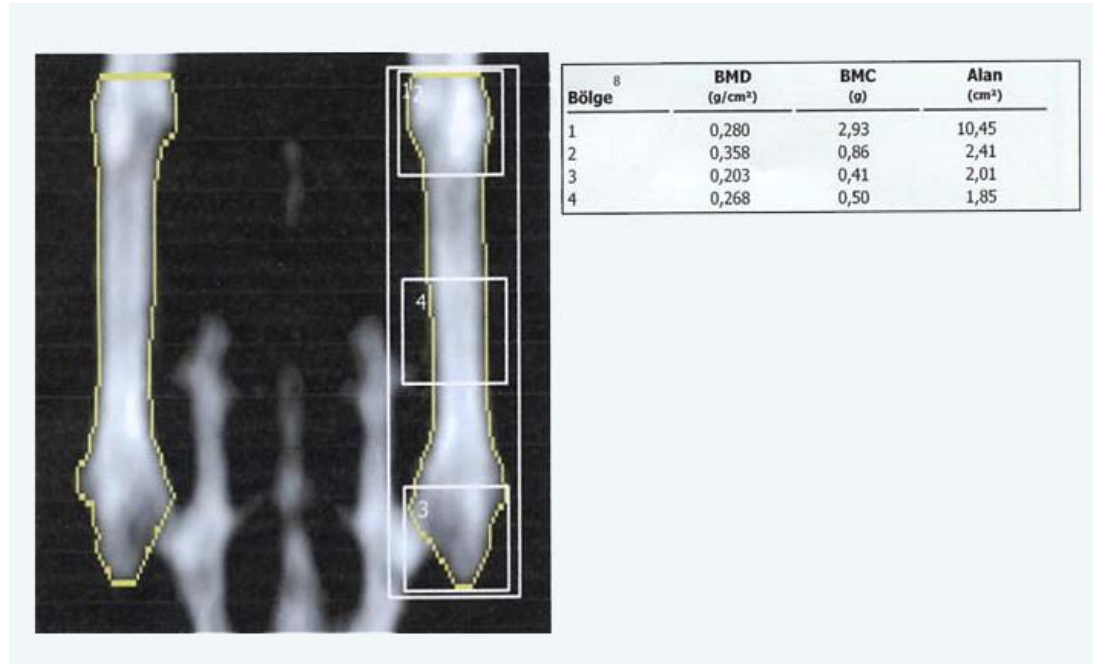


Şekil 2. Kemik yoğunluğu ölçüm cihazı ve ön kol aparatı

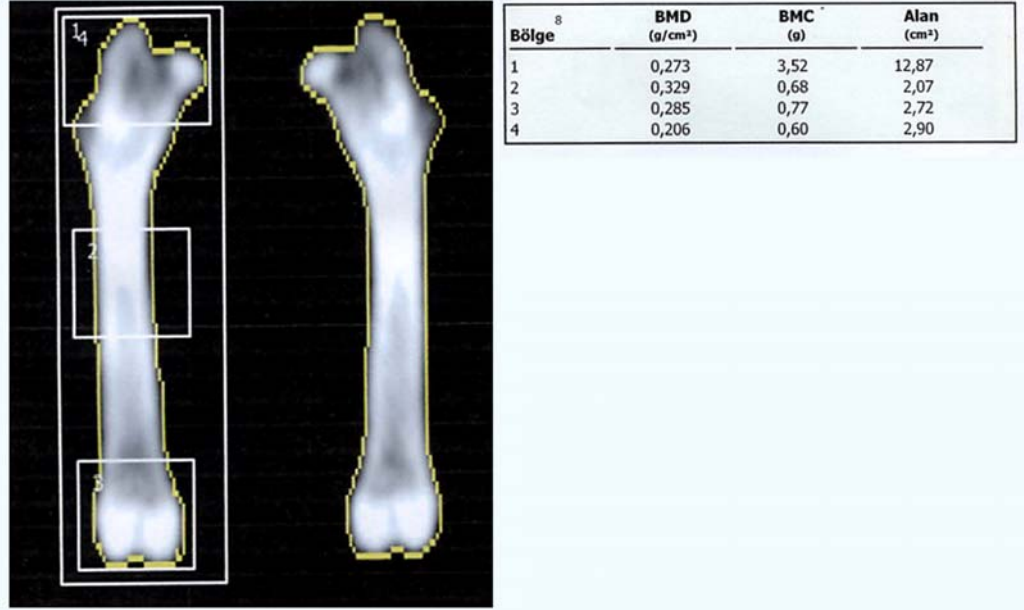


Şekil 3. Tavşanlarda dansite çekim pozisyonu (A), ayaklarının sabitlenmesi (B).

Elde edilen görüntülerde önce tüm artefaklar programın nötürleme komutu ile ortadan kaldırıldı. Sonra kemiği sınırlandırma komutu ile kemiğin sınırları seçilerek ölçümü yapılacak kemiğin hatları belirlendi. Daha sonra görüntüde kemiğin boyu ölçüldükten sonra yoğunluk ölçümleri şekil 4 ve 5’de gösterildiği gibi tüm femur’da ve uzunluğuna göre kemiğin distal, proximal ve corpus’unun %20’lik bölgelerinde (ROI) yapıldı. Anestezi altındaki hayvanlardan alınacak ölçümler için kemik sınırları belirlenirken caput femoris kısmı acetabulum içerisinde olduğu için ölçüm alanı dışında tutuldu (Şekil 4). Diseke edilen kemiklerde ise femur’un tamamı ölçüm alanı olarak kabul edildi (Şekil 5). Seçilen bu bölgelerde kemik alanı (BA, cm^2), kemik mineral içeriği (BMC, gr) ve kemik mineral dansitesi (BMD, gr/cm^2) ölçümleri yapıldı.



Şekil 4. Anestezi altındaki tavşan femurların’da kemik yoğunluğu ölçümü



Şekil 5. Diseke edilmiş tavşan femurların'da kemik yoğunluğu ölçümü

Kemik yoğunluğunun belirlenmesi için yapılan çekimlerde pozisyona bağlı ölçüm hatası oranını belirlemek amacı ile bir hayvanda ve bir kemikte cihazın tablasından kaldırılıp tekrar yerleştirilerek beş defa arka arkaya çekimi tekrarlandı. Bu çekimlerden elde edilen verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları hesaplanarak (standart sapma \ ortalama değer) x 100 formülü ile varyasyon kat sayısı (%CV) elde edildi (Grier et al., 1996; Özdamar, 2004). Varyasyon kat sayılarına ilişkin elde edilen sonuçlar çizelge 3'de verildi .

Çizelge 3: Canlı hayvanda ve diseke edilmiş femur'larda kemik yoğunluğu ölçümüne ilişkin %CV değerleri

		Anestezi altındaki hayvanda	Diseke edilmiş kemikte
BMD (gr/cm ²)	Tüm femur	4.72	2.59
	Proksimal	10.68	4.38
	Corpus	1.43	1.99
	Distal	5.08	5.88
BMC (gr)	Tüm femur	5.34	0.46
	Proksimal	7.05	1.18
	Corpus	3.53	2.71
	Distal	10.94	1.41
BA (cm ²)	Tüm femur	2.17	3.03
	Proksimal	6.77	3.69
	Corpus	1.78	5.07
	Distal	7.45	4.50

Kişeye bağlı varyasyon kat sayısı bu çalışmada belirlenmedi, çünkü ölçümü yapılacak kemik sınırları, daha güvenilir olması için yardımcı bir kişi ile birlikte değerlendirildi. Ayrıca kontrol amacı ile bir gruptaki hayvanların ölçümleri, ilk ölçümünden bir ay sonra kemik sınırları yeniden belirlenerek ikinci ölçümleri yapıldı. Aynı kemiklerin bu iki ölçümü arasında istatistiksel farklılık belirlenmedi.

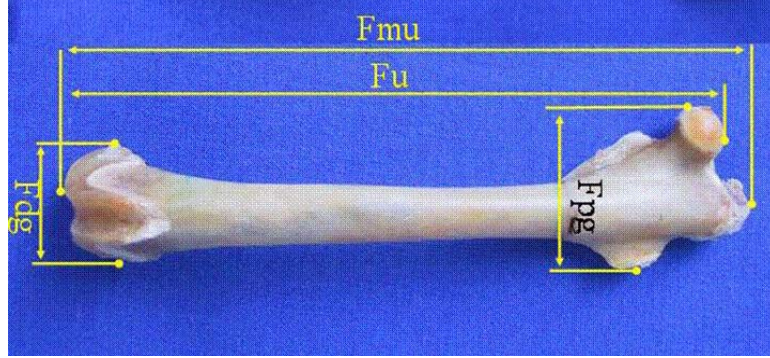
3.2.4 Kemik materyalin hazırlanması

Kemik materyallerinin testler için hazırlanması ve korunması işlemleri Turner and Burr (1993), An et al. (1996), An and Friedman (1999)'a göre yapıldı. Ötenaziyi takiben hayvanların femur'ları dikkatlice periosteuma zarar vermeden disseke edildi. Daha sonra kemikler serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı bezlere sarılarak kayıt numaraları verildikten sonra -25 °C de derin dondurucuya konuldu. Yaklaşık 4 saatlik sürede tamamlanan bilgisayarlı tomografi çekimi, kemik yoğunluğu ölçümleri, kumpasla morfometrik verilerin alınması ve mekanik testte kullanılacak

bölgelerin işaretlenmesi için kemikler oda ısında çözdürüldü. İşlemler bittikten sonra -25°C de tekrar donduruldu. Daha sonra indentasyon testi için kemikler çözdürülmeden elmas uçlu testere ağzı bulunan DeWalt marka mini bant testerede kemiğin distal ucundan 20° açı ile yaklaşık 2 mm kalınlığında bir bölüm kesildikten sonra, elde edilen kesit yüzeyine paralel 3,5 mm kalınlığında numuneler kesilerek hazırlandı.

3.2.5 Morfometrik ölçümler

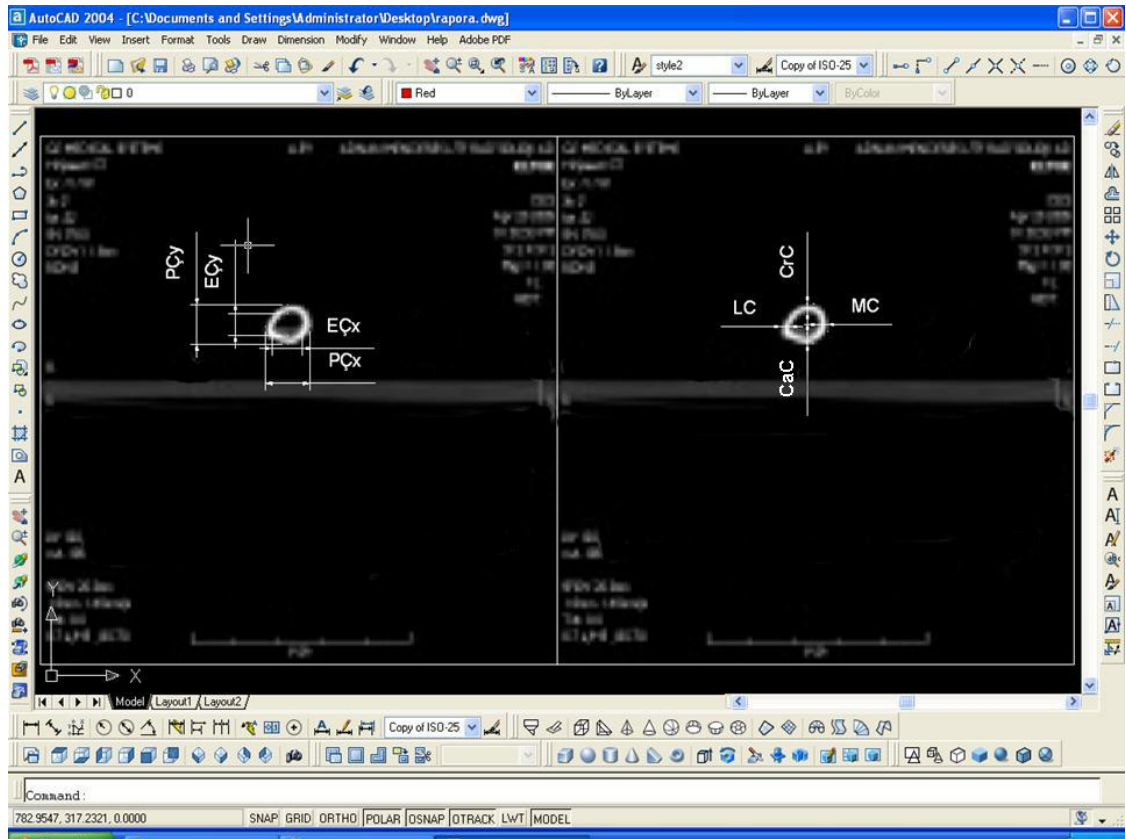
Digital kumpas ile; femur'un trochanter major'un en uç noktasından condylus femoris'in distalde en uç noktasına kadar femur'un maximum uzunluğu (Fmu), caput femoris'in proximal en uç noktasından condylus femoris'in distalde en uç noktasına kadar femur'un uzunluğu (Fu), caput femoris ile trochanter tertius'un uç noktaları arası femur'un proximal genişliği (Fpg) ve condylus medialis'in mediali ve condylus lateralis'in laterali arasında femur'un distal genişliği (Fdg) değerleri alındı (Şekil 6).



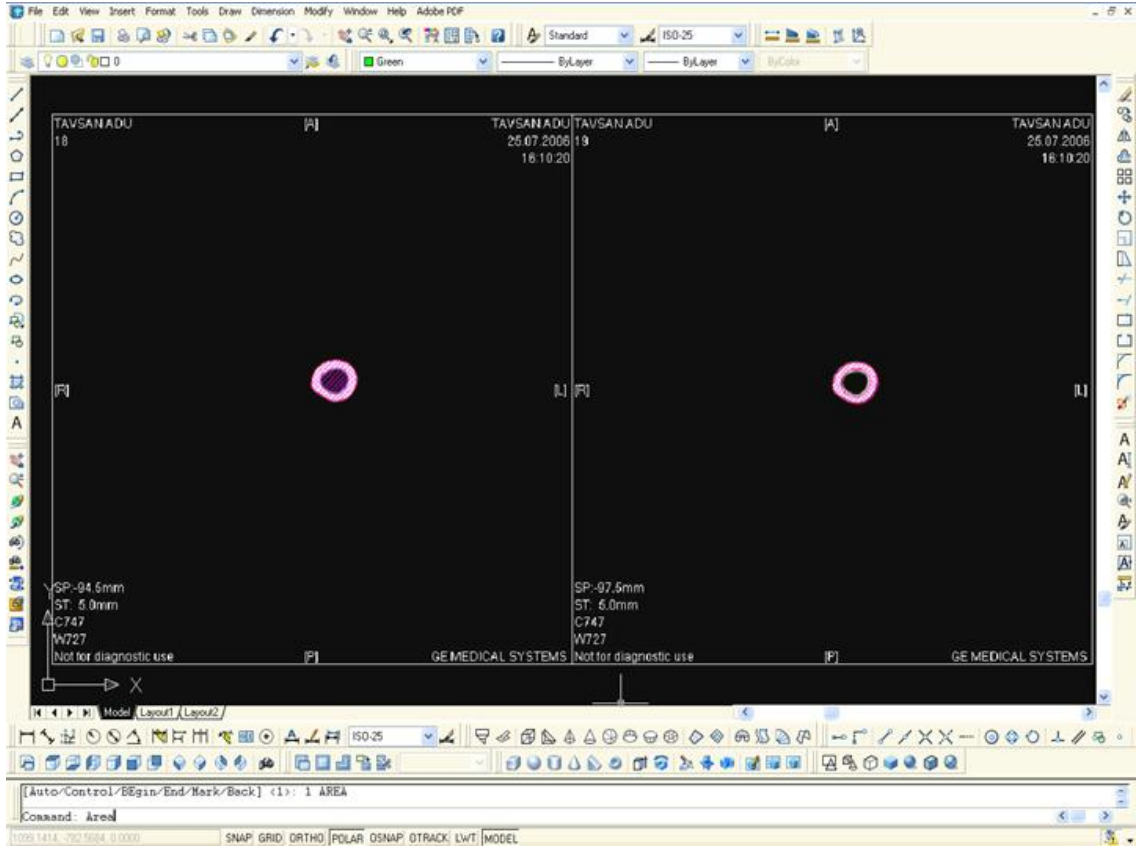
Şekil 6. Femur'dan kumpas ile alınan ölçümler; **Fmu:** Femur'un maximum uzunluğu, **Fu:** Femur uzunluğu, **Fpg:** Femur'un proximal genişliği, **Fdg :** Femur'un distal genişliği.

Ayrıca kesitlerin morfometrik değerlendirilmesi GE Hi Speed / Multi Slice tomografi cihazında, femur'lar tahta plakalar üzerine cranio-caudal yönde yerleştirildikten sonra kılavuz görüntüleri alındı. Kılavuz görüntüde, üç nokta eğme testinde kuvvetin uygulanacağı bölge belirlenerek, 3 mm aralıklar ile iki kesit görüntüsü alındı. Bu kesit görüntüler fotoğraf boyutu hiç değiştirilmeden JPEG

formatında bilgisayar ortamına aktarıldı. Bu görüntülerin AutoCAD programında kalibrasyonu yapılarak kesitlerden; medio lateral yönde (X eksenine- $E\check{C}_X$) ve cranio-caudal yönde (Y eksenine- $E\check{C}_Y$) endosteal çap, medio lateral yönde (X eksenine- $P\check{C}_X$) ve cranio-caudal yönde (Y eksenine- $P\check{C}_Y$) periosteal çap, lateral'de (LC), medial'de (MC), cranial'de (CrC) ve caudal'de (CaC) substantia compacta'nın (korteks) kalınlığı ölçümleri alındı (Şekil 7). Ayrıca substantia compacta'nın alanı (SCA), cavum medullare (CMA) ve total alan (TA) ölçüldü (Şekil 8). Her iki kesitten ölçülen değerlerin ortalaması alınarak istatistiksel hesaplamalar için kullanıldı.



Şekil 7. Kesit görüntülerinden Autocad yardımı ile yapılan ölçümler.; X eksenine ($E\check{C}_X$) ve Y eksenine ($E\check{C}_Y$) doğrultusunda endosteal çap, X eksenine ($P\check{C}_X$) ve Y eksenine ($P\check{C}_Y$) doğrultusunda periosteal çap, lateral'de (LC), medial'de (MC), cranial'de (CrC) ve caudal'de (CaC) substantia compacta'nın (korteks) kalınlığı ölçümleri.



Şekil 8. Kesit görüntülerinden cavum medullare (CMA), substantia compacta'nın alanı (SCA), total alan (TA) hesaplanması.

Periosteal ve endosteal çaplar kullanılarak aşağıdaki formuller ile medio lateral yönde (X eksenine- I_x) ve cranio-caudal yönde (Y eksenine- I_y) atalet momenti değerleri ve bunların toplamından polar atalet momenti değeri (I_p) hesaplanmıştır.

$$I_y = \Pi \cdot [(P\check{C}_y^3 \cdot P\check{C}_x) - (E\check{C}_y^3 \cdot E\check{C}_x)] / 64 \quad (1)$$

$P\check{C}_y$ = Cranio-caudal periosteal çap
 $P\check{C}_x$ = Medio-lateral periosteal çap
 $E\check{C}_y$ = Cranio-caudal endosteal çap
 $E\check{C}_x$ = Medio-lateral endosteal çap

$$I_x = \Pi \cdot [(P\check{C}_x^3 \cdot P\check{C}_y) - (E\check{C}_x^3 \cdot E\check{C}_y)] / 64 \quad (2)$$

$P\check{C}_y$ = Cranio-caudal periosteal çap
 $P\check{C}_x$ = Medio-lateral periosteal çap
 $E\check{C}_y$ = Cranio-caudal endosteal çap
 $E\check{C}_x$ = Medio-lateral endosteal çap

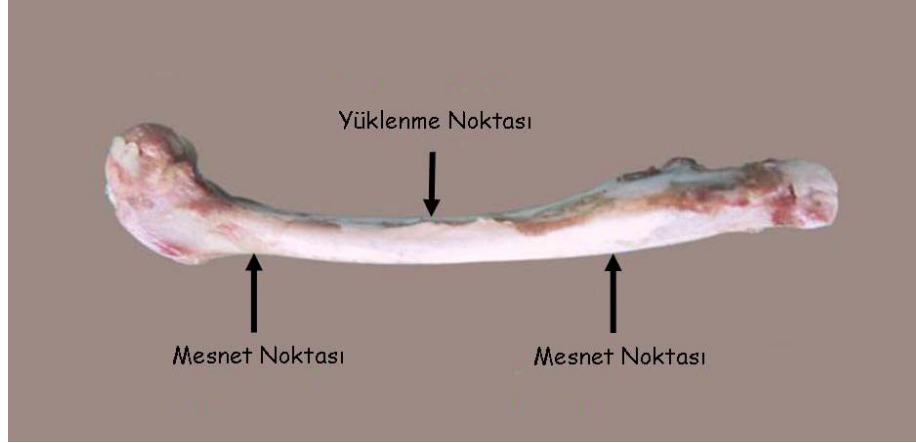
$$I_p = I_x + I_y$$

- (3) I_x =Medio-lateral ekseninde atalet momenti
 I_y = Cranio-caudal ekseninde atalet momenti

3.2.6 Biyomekanik testler

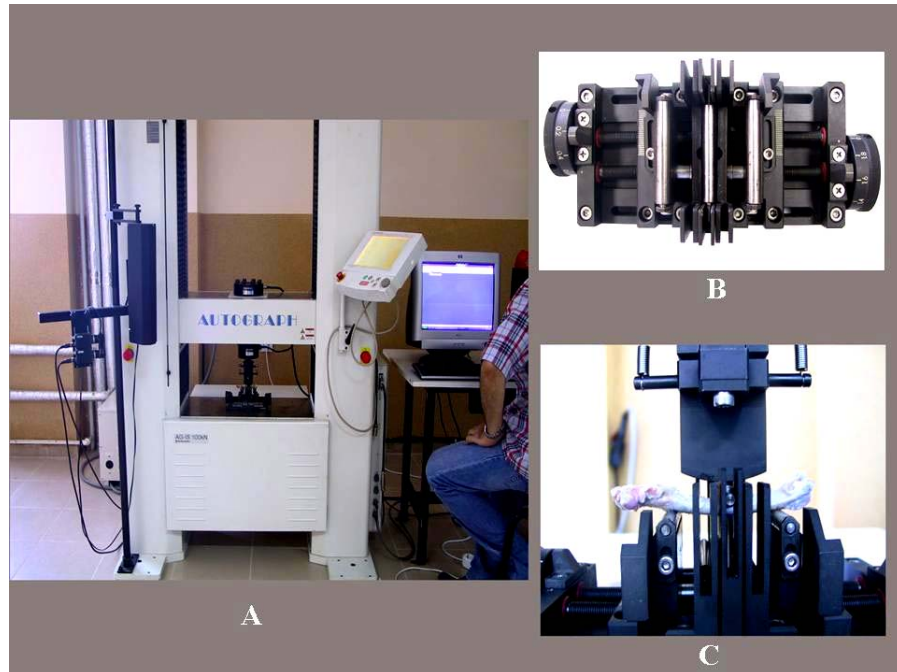
Bu testler için yukarıda belirtildiği şekilde örnekler hazırlandı. Biyomekanik testlerden önce oda ısısında çözdürülen kemikler +37 °C’de serum fizyolojik solüsyonu içinde yaklaşık on dakika tutulduktan sonra test yapıldı. Biyomekanik testler Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Makina Mühendisliği Bölümü Biyomekanik Laboratuvarında bulunan Shimadzu AG1 100 KN cihazı ve Trapezium Version 2.15 programı kullanılarak yapıldı. Hazırlanan kemik örneklerinin diaphysis’de üç nokta eğme testi (ÜNE) ve distal epiphysis’inde indentasyon testi yapıldı. Biyomekanik testlere ilişkin aşağıda belirtilen tüm işlemler ve hesaplamalar An et al. (1996) ve Hirano et al. (1999)’a göre yapıldı.

Corpus femoris’te kortikal kemiğin mekanik özelliklerini ortaya koymak için üç nokta eğme testi uygulandı. Bu amaçla yapılan ön çalışmalarda erişkin tavşan femur’un boyuna kesitleri incelenerek kemiğin proximal ucundan %30 ve %80 uzaklıktaki noktalar arası diaphysis olarak kabul edildi. Diaphysis’in tam ortası basma noktası, bu noktadan 25 mm proksimal ve 25 mm distal’de mesnet noktaları belirlendi (iki mesnet noktası arası 50 mm) (Şekil 9).



Şekil 9. Bir femurda kemiğin yüklenme ve mesnet noktaları

Kemiğin cranial tarafında 6 mm çapında iki çelik çubuk mesnet noktalarına, caudal yüzüne yine 6 mm çapında çelik çubuk diaphysis'in orta noktasına yerleştirildi. Daha sonra kemik kırılıncaya kadar 1mm/dakika hızında yük uygulandı (Şekil 10).



Şekil 10. Biyomekanik test cihazı (A), üç nokta eğme aparatı (B) ve femur'da üç nokta eğme testi (C).

Bu test sonunda kuvvet-deformasyon eğrisi çizdirilerek maksimum kuvvet (ultimate force - U_f) ve maksimum enerji absorpsiyonu (work to failure – U) test sonucunda direkt olarak elde edildi. Katılık değerinin hesaplanabilmesi için, kuvvet-deformasyon eğrisinin eğimine teğet geçen bir çizgi çizilerek, bu çizginin eğriyi kestiği iki noktanın kuvvet ve deformasyon değerleri belirlendi. Daha sonra kuvvetlerin farkı deformasyonların farkına oranlanarak ($\tan \alpha$) katılık değeri hesaplandı. Ayrıca, maksimum eğme dayanımı (ultimate bending strength- σ_b), esneklik kat sayısı (elastik modulus - E_b) ve tokluk (toughness- u) değerleri aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı (An et al.,1996; Hirano et al., 1999). Bu değerleri hesaplanırken cranio-caudal yöndeki periostal çap ve atalet momenti (I_y) değerleri kullanıldı.

$$\sigma_b = P_b.L.a / 8I \quad (4)$$

P_b = Eğme kuvveti (Maksimum kuvvet)
 L = İki çelik çubuk arası mesafe (50 mm)
 a = Cranio-caudal çap
 I = Atalet momenti

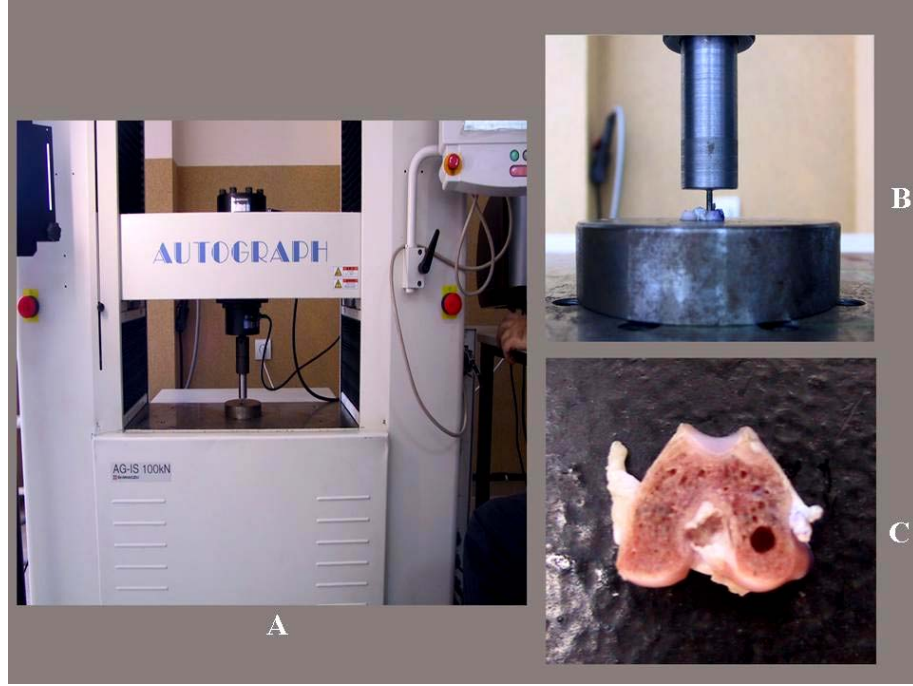
$$E_b = SL^3 / 48 I \quad (5)$$

S = Katılık
 L = İki çelik çubuk arası mesafe (50 mm)
 I = Atalet momenti

$$u = 3x U x r^2 / L I \quad (6)$$

U = Maksimum enerji absorpsiyonu
 r = Yarıçap
 L = İki çelik çubuk arası mesafe (50 mm)
 I = Atalet momenti

Spongioz kemiğin mekanik özelliklerinin belirlenmesi için daha önceden femur'un distal kısmından hazırlanan kemik örneklerine indentasyon testi uygulandı. Bu test için kemik örnekleri cihazın platformuna yerleştirildikten sonra, çapı 2,32 mm olan silindirik çelik indentor ile condylus lateralis bölgesinde trabeküler yapıdaki kesit yüzeyine dik olarak 1mm/dakika hızında yük uygulandı (Şekil 11).



Şekil 11. Biyomekanik test cihazı (A), indentasyon testinin uygulanması (B) ve test uygulanmış kemik örneğinin görünümü (C).

Uygulanan test sonunda maksimum kuvvet değeri elde edildi ve bu değer kullanılarak aşağıdaki formülde maksimum dayanımı (σ_i) hesaplandı.

$$\sigma_i = 4 P_i / \Pi d^2 \quad (7) \quad \begin{aligned} P_i &= \text{Indentasyon kuvveti} \\ d &= \text{Indentor'un çapı (2,32 mm)} \end{aligned}$$

3.2.7 Kemikte kül analizi

Biyomekanik test sonrası, sol tarafa ait femur parçaları toplanarak petri kutusu içerisinde Fakültemiz Hayvan Besleme Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan kurutma dolabında 110°C de 48 saat süre ile kurutuldu. Daha sonra bu kemik parçaları öğütme makinesi kullanılarak parçalandı ve önceden ağırlıkları bilinen porselen krozelere konulup tekrar tartıldı. Son olarak kemikler 600°C yakma fırınında 24 saat süreyle tutularak külü elde edildi (Peng, 1994; Fink et al., 2002).

Yakma fırınından çıkarılan örnekler tartılarak kül ağırlığı kayıtları alındı. Kül ağırlıkları numune ağırlığına oranlanarak % ham kül değeri hesaplandı. Kalsiyum ve fosfor tayini için kroze içerisindeki kül üzerine 10 ml derişik hidroklorik asit ilave edilerek elektrikli ocakta asit tamamen buharlaşınca kadar tutuldu. Daha sonra üzerine 1/1 oranında sulandırılmış hidroklorik asitten 10 ml daha ilave edildi. Üzerine 2 damla nikrik asit damlatılarak tekrar ocağa yerleştirildi. Ocaktan tamamen buharlaşmadan alınarak soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra filtre kağıdından süzülerek sıcak distile su ile yıkanarak süzüntü 500ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu solüsyonda Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan Spektrofotometri cihazında Diasis marka analiz kitleri kullanılarak kalsiyum için 650 nm'de ve fosfor için 340 nm'de absorbans değerleri okunarak kalsiyum ve fosfor değerleri hesaplandı.

3.2.8 İstatistiksel yöntem

Çalışma sonunda, hayvanların canlı ağırlıkları, biyokimyasal analiz değerleri, kemik yoğunluğu ölçümleri ve kül analizine ilişkin değerler, kemiğin bütününe ve kesit görüntülerine ilişkin morfometrik veriler ve biyomekanik testlere ilişkin verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 10.0 programı kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin homojenite kontrolü Kolmagorov-Simironov testi ile yapıldı. Sağ ve sol taraftaki aynı kemiklerden elde edilen verilerin istatistiksel analizi Wilcoxon testi ile yapıldı. Sağ ve sol taraftan elde edilen veriler arasında istatistiksel farklılık olmadığı durumda her iki tarafın verileri birleştirilerek tek hayvanın iki femur'una ait veriler birlikte değerlendirildi. Son olarak elde edilen verilerin kontrol ve ovariektomi grubu arasındaki istatistiksel analizi Mann Whitney U testi ile yapıldı (Özdamar, 2004). Tablolarda ölçümü yapılan verilerin ortalama değer ve standart sapmaları " $\bar{X} (S_{\bar{X}})$ " şeklinde verildi. Ayrıca ortalama değerler kullanılarak kontrol grubuna göre ovariektomi grubundaki yüzde değişim oranı hesaplandı ve tablolarda "% değişim" olarak verildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Araştırma Bulguları

4.1.1. Genel bulgular

Çalışma başlangıcında gruplar oluşturulurken ovariektomi ve kontrol grupları hayvanlarının canlı ağırlıkları arasında istatistiksel farklılık olmayacak ve grupları homojen dağılım gösterecek şekilde seçildi. Hayvanların aylık canlı ağırlık artışlarına bakıldığında gerek ikinci, gerekse dördüncü aylık dönemlerde ovariektomi ve kontrol gruplarının canlı ağırlıkları arasında istatistiksel farklılık görülmedi. Ayrıca her iki grupta da çalışmanın sonlandırıldığı ikinci ve dördüncü aylık dönemlerde çalışmanın başladığı dönemdeki canlı ağırlıklarına göre istatistiksel farklılık görülmedi. Çalışmanın başlangıcında ovariektomi grubunun ağırlıkları daha büyükken birinci ay ve ikinci ay tartımlarında kontrol grubu daha ağır olduğu tespit edildi (Çizelge 4-5).

Çizelge 4. İki aylık gruplarda hayvanların çalışma başlangıcı (1.Tartım), bir ay sonrası (2.Tartım) ve iki ay sonrası (3.Tartım)'ndaki canlı ağırlıkları (gr)

	Kontrol n=6	Ovariektomi n=6	% fark	Önem
1. Tartım	2988.33 (297.33)	3119.83 (267.80)	-04.40	ÖD
2. Tartım	3102.17 (350.66)	3070.00 (339.07)	01.04	ÖD
3. Tartım	3217.67 (412.10)	3221.67 (423.85)	00.12	ÖD
% Canlı Ağırlık Değişimi	07.12 ÖD	03.16 ÖD		

ÖD: Önemli Değil

Çizelge 5. Dört aylık gruplarda hayvanların çalışma başlangıcı (1.Tartım), bir ay sonrası (2.Tartım), iki ay sonrası (3.Tartım), üç ay sonrası (4. Tartım) ve dört ay sonrası (5.Tartım)'ndaki canlı ağırlıkları (gr).

	Kontrol n=6	Ovariectomi n=6	% fark	Önem
1. Tartım	3250.83 (740.44)	3272.66 (348.63)	-0,67	ÖD
2. Tartım	3286.50 (731.49)	3371.83 (353.62)	-3.39	ÖD
3. Tartım	3429.50 (742.66)	3397.83 (557.06)	0.92	ÖD
4. Tartım	3568.33 (682.04)	3586.00 (661.60)	-0,50	ÖD
5. Tartım	3656.67 (694.20)	3613.33 (740.80)	1.19	ÖD
%	11.10	10.40		
Canlı Ağırlık Değişimi	ÖD	ÖD		

ÖD: Önemli Değil

Hayvanların günlük yem tüketimi hesaplandığında ovariectomi grubunun günde ortalama 44,47 gr/kg, kontrol grubu ise günde ortalama 44,39 gr/kg yem tükettiği belirlendi.

4.1.2 Biyokimya bulguları

Gerek çalışmanın başlangıcında, gerekse operasyon sonrası iki ve dört aylık dönemlerde biyokimyasal analiz değerlerinin normal sınırlar içinde olduğu ve gruplar arasındaki istatistiksel farklılık olmadığı görüldü (Çizelge 6).

Çizelge 6: Operasyon öncesi ve iki ile dört aylık gruplarda elde edilen biyokimyasal değerler

Biyokimyasal Parametreler (Normal Değerleri)	Dönemi	Kontrol	Ovariectomi	Önem
Aspartate Aminotransferase (14-113 IU)	Operasyon öncesi	26.11 (16.44)	29.17 (07.27)	ÖD
	İki aylık dönem	42.88 (19.45)	27.17 (07.05)	ÖD
	Dört aylık dönem	32.50 (20.50)	20.20 (07.05)	ÖD
Alanine Aminotransferase (6.5-80 IU)	Operasyon öncesi	57.60 (21.73)	59.42 (17.49)	ÖD
	İki aylık dönem	75.75 (35.95)	55.67 (14.02)	ÖD
	Dört aylık dönem	37.50 (19.74)	47.00 (16.90)	ÖD
Alkalen Phosphatase (4-350 IU)	Operasyon öncesi	95.90 (37.08)	65.80 (36.31)	ÖD
	İki aylık dönem	90.71 (106.28)	72.67 (36.57)	ÖD
	Dört aylık dönem	72.75 (27.44)	63.00 (30.73)	ÖD
Total Protein (2.8-10 g/dl)	Operasyon öncesi	07.05 (1.22)	07.18 (01.67)	ÖD
	İki aylık dönem	07.61 (1.06)	06.88 (01.85)	ÖD
	Dört aylık dönem	06.65 (0.27)	07.22 (00.83)	ÖD
Albumin (2.4-4.6 g/dl)	Operasyon öncesi	04.21 (0.41)	04.27 (00.69)	ÖD
	İki aylık dönem	04.78 (0.56)	04.83 (00.21)	ÖD
	Dört aylık dönem	05.15 (0.73)	05.01(00.24)	ÖD
Kreatinin (0.5-5.5mg/dl)	Operasyon öncesi	00.85 (0.18)	00.80 (00.16)	ÖD
	İki aylık dönem	01.47 (0.99)	00.86 (00.23)	ÖD
	Dört aylık dönem	01.14(0.30)	01.22 (00.20)	ÖD
Kalsiyum (5.6-16 mg/dl)	Operasyon öncesi	13.51 (2.19)	14.29 (01.28)	ÖD
	İki aylık dönem	13.47 (2.01)	14.65 (01.16)	ÖD
	Dört aylık dönem	14.34(0.80)	15.42 (01.48)	ÖD
Fosfor (2.7-7.3 mg/dl)	Operasyon öncesi	05.79 (0.75)	05.67 (01.38)	ÖD
	İki aylık dönem	04.84 (1.22)	04.57(01.99)	ÖD
	Dört aylık dönem	03.91(0.85)	03.33(00.62)	ÖD

ÖD: Önemli Değil

4.1.3 Kemik mineral yoğunluğu bulguları

Çalışmada iki ve dört aylık dönemde anestezi altındaki hayvanlarda yapılan kemik yoğunluğu ölçümlerinde hayvanların sağ ve sol femurlarından alınan ölçümler arasında istatistiksel farklılık olmadığı tespit edildi.

İki aylık dönemde her iki gruptan anestezi altında alınan kemik yoğunluğu ölçümlerinin genelde istatistiksel farklılık göstermediği, sadece corpus femoris'ten alınan ölçümün ovariektomize hayvanlarda istatistiksel düzeyde daha düşük olduğu, aynı bölgede taranan kemik alanının ovariektomize hayvanlarda daha yüksek olduğu tespit edildi. (Çizelge 7).

Çizelge 7: İki aylık gruplarda canlı hayvanlardan alınan kemik mineral yoğunluğu (**BMD**), kemik mineral içeriği (**BMC**) ve kemik alanı (**BA**) ölçümleri.

		Kontrol n=12	Ovariektomi n=12	% fark	Önem
BMD (gr/cm ²)	Tüm femur	0.29 (0.03)	0.27 (0.03)	06.97	ÖD
	Proksimal	0.18 (0.03)	0.20 (0.03)	-11.11	ÖD
	Corpus	0.32 (0.04)	0.29 (0.02)	08.70	*
	Distal	0.30 (0.03)	0.29 (0.03)	04.14	ÖD
BMC (gr)	Tüm femur	2.88 (0.41)	2.86 (0.42)	00.59	ÖD
	Proksimal	0.40 (0.10)	0.36 (0.08)	10.00	ÖD
	Corpus	0.60 (0.09)	0.59 (0.05)	02.63	ÖD
	Distal	0.80 (0.12)	0.79 (0.14)	00.94	ÖD
BA (cm ²)	Tüm femur	10.00 (0.97)	10.64 (0.78)	-06.46	ÖD
	Proksimal	2.05 (0.25)	2.07 (0.21)	-00.98	ÖD
	Corpus	1.90 (0.15)	2.04 (0.13)	-07.37	*
	Distal	2.62 (0.21)	2.71 (0.21)	-03.34	ÖD

ÖD: Önemli Değil , *: p<0.05

İki aylık dönemde disekte kemikten ölçülen mineral yoğunluğu ölçümlerinde sadece femur'un proksimal'inde ovariektomize hayvanlarda istatistiksel farklılık gösteren bir azalmanın olduğu dikkati çekti. Ayrıca ölçüm yapılan kemik alanlarında, femur'un proksimal'i ve distal'inde ovariektomize hayvanların değerlerinin istatistiksel düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 8).

Çizelge 8: İki aylık gruplarda diseke edilmiş kemiklerden alınan kemik mineral yoğunluğu (**BMD**), kemik mineral içeriği (**BMC**) ve kemik alanı (**BA**) ölçümleri

		Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
BMD (gr/cm ²)	Tüm femur	0.28(0.02)	0.26(0.02)	06.79	ÖD
	Proximal	0.24(0.03)	0.20 (0.03)	16.66	*
	Corpus	0.30(0.03)	0.29(0.03)	04.35	ÖD
	Distal	0.29(0.03)	0.27(0.02)	07.48	ÖD
BMC (gr)	Tüm femur	2.67(0.46)	2.68(0.26)	-00.26	ÖD
	Proximal	0.40 (0.12)	0.48 (0.07)	-20.00	ÖD
	Corpus	0.47(0.09)	0.50(0.04)	-06.22	ÖD
	Distal	0.71(0.11)	0.69(0.10)	02.83	ÖD
BA (cm ²)	Tüm femur	9.57(1.34)	10.29(0.64)	-07.47	ÖD
	Proximal	1.96 (0.54)	2.39 (0.22)	-21.94	*
	Corpus	1.55(0.23)	1.74(0.10)	-12.20	ÖD
	Distal	2.39(0.29)	2.44(0.27)	-02.09	**

ÖD: Önemli Değil , **: p<0.01

Dört aylık dönemde anestezi altında ovariectomi grubu ve kontrol grubu hayvanlarından alınan ölçümlerde kemiğin mineral yoğunluğunun kontrol grubunda daha yüksek değerlere sahip olsa da gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermediği tespit edildi. Bununla birlikte tüm femur, femur'un corpus'u ve distal'indeki taranan kemik alanlarının ovariectomize hayvanlarda istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü (Çizelge 9).

Çizelge 9: Dört aylık gruplarda canlı hayvanlardan alınan kemik mineral yoğunluğu (**BMD**), kemik mineral içeriği (**BMC**) ve kemik alanı (**BA**) ölçümleri.

		Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
BMD (gr/cm ²)	Tüm femur	0.27 (0.02)	0.26 (0.02)	03.70	ÖD
	Proximal	0.20 (0.02)	0.18 (0.03)	00.02	ÖD
	Corpus	0.27 (0.02)	0.26 (0.02)	03.70	ÖD
	Distal	0.32 (0.03)	0.30 (0.04)	06.25	ÖD
BMC (gr)	Tüm femur	2.77 (0.39)	2,86(0.39)	-03.25	ÖD
	Proximal	0.37 (0.05)	0.37 (0.07)	00.00	ÖD
	Corpus	0.50 (0.08)	0.61 (0.19)	-22.00	ÖD
	Distal	0.81 (0.16)	0.79 (0.13)	02.45	ÖD
BA (cm ²)	Tüm femur	10.28 (0.82)	11.57 (1.05)	-12.54	**
	Proximal	1.90 (0.19)	2.11 (0.34)	-11.05	ÖD
	Corpus	1.80 (0.17)	2.06 (0.19)	-14.44	**
	Distal	2.43 (0.23)	2.62 (0.19)	-07.82	*

ÖD: Önemli Değil , *: p<0.05

Dört aylık dönemde diseke edilmiş kemik ölçümlerinde kemik mineral içeriği değerleri dışındaki tüm değerlerde gruplar arasında istatistiksel fark olduğu görüldü. Kemik mineral yoğunluğu değerlerinin kontrol grubunda, kemik alanı değerlerinin ovariectomi grubunda daha büyük olduğu tespit edildi. İki aylık dönemde olduğu gibi bu dönemde de ovariectomize hayvanlarda kemik mineral yoğunluğunun en fazla femur'un proximal'inde düştüğü, bunu femur'un distalindeki azalmanın takip ettiği görüldü. Corpus femoris'deki kemik mineral yoğunluğu azalması diğer bölgeler ve femur'un tamamına göre daha düşük oranda tespit edildi (Çizelge 10).

Çizelge 10: Dört aylık gruplarda diseke edilmiş kemiklerden alınan kemik mineral yoğunluğu (BMD), kemik mineral içeriği (BMC) ve kemik alanı (BA) ölçümleri

		Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
BMD (gr/cm ²)	Tüm femur	0.28 (0.02)	0.23 (0.03)	17.86	***
	Proximal	0.22 (0.03)	0.17 (0.03)	22.73	***
	Corpus	0.31 (0.02)	0.26 (0.04)	16.13	**
	Distal	0.30 (0.03)	0.24 (0.05)	20.00	**
BMC (gr)	Tüm femur	2.84 (0.36)	3.06 (0.65)	-07.75	ÖD
	Proximal	0.53 (0.08)	0.52 (0.13)	01.89	ÖD
	Corpus	0.48 (0.06)	0.56 (0.12)	-16.67	ÖD
	Distal	0.69 (0.10)	0.70 (0.17)	-01.45	ÖD
BA (cm ²)	Tüm femur	09.99 (0.97)	13.26 (1.42)	-32.73	***
	Proximal	2.35 (0.15)	3.06 (0.39)	-30.21	***
	Corpus	1.58 (0.18)	2.15 (0.24)	-36.08	***
	Distal	2.28 (0.18)	2.85 (0.32)	-25.00	***

ÖD: Önemli Değil , **: p<0.01, ***: p<0.001

4.1.4 Morfometrik bulgular

Çalışmada iki aylık gruptaki hayvanların femur'larından dijital kumpas ile alınan morfometrik ölçümlerin hiçbirinde istatistiksel farklılığın olmadığı görüldü. Bu ölçümlerin genelinde ovariectomi grubu kemiklerinin daha büyük olduğu gözlemlendi (Çizelge 11).

Çizelge 11: İki aylık gruplarda dijital kumpas ile alınan ölçümler

	Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
Maksimum femur uzunluğu	93.55 (5.25)	96.72 (3.58)	-3.39	ÖD
Femur uzunluğu	89.26 (5.02)	92.31 (4.26)	-3.41	ÖD
Femur'un proksimal genişliği	24.76 (1.74)	25.53 (1.53)	-3.08	ÖD
Femur'un distal genişliği	15.55 (0.80)	15.81 (0.54)	-1.58	ÖD

ÖD: Önemli Değil

İki aylık dönemde tomografiden elde edilen kesit görüntülerinde substantia compacta'nın caudal genişliği dışında tüm değerler ovariektomi grubunda daha büyük olduğu dikkati çekti. Ancak bu değerler arasında istatistiksel farklılık bulunamadı (Çizelge 12).

Çizelge 12: İki aylık gruplarda tomografi kesit görüntülerinden alınan ölçümler

	Kontrol n=12	Ovariektomi n=12	% fark	Önem
Substantia compacta'nın lateral kalınlığı (mm)	1.06 (0.15)	1.09 (0.09)	-02.75	ÖD
Substantia compacta'nın medial kalınlığı (mm)	1.12 (0.10)	1.18 (0.06)	-05.36	ÖD
Substantia compacta'nın cranial kalınlığı (mm)	0.94 (0.12)	1.02 (0.10)	-08.50	ÖD
Substantia compacta'nın caudal kalınlığı (mm)	0.90 (0.14)	0.83 (0.10)	07.78	ÖD
Medio-lateral endosteal çap (x eksen) (mm)	5.72 (0.90)	6.20 (0.63)	-08.39	ÖD
Cranio-caudal endosteal çap (y eksen) (mm)	4.53 (0.34)	4.74 (0.46)	-04.64	ÖD
Medio-lateral periosteal çap (x eksen) (mm)	8.18 (0.64)	8.64 (0.49)	-05.62	ÖD
Cranio-caudal periosteal çap (y eksen) (mm)	6.57 (0.37)	6.85 (0.27)	-04.26	ÖD
Substantia compacta'nın alanı (mm ²)	22.01 (2.45)	23.54 (2.52)	-06.95	ÖD
Cavum medullare'nin alanı (mm ²)	20.86 (4.76)	23.66 (4.05)	-13.42	ÖD
Total alan (mm²)	42.87 (5.78)	47.20 (4.43)	-10.10	ÖD

ÖD: Önemli Değil

Dört aylık gruptaki hayvanlarda digital kumpas ile alınan ölçümlerde ise femur'un proksimal genişliğinde iki grup arasında istatistiksel farklılık görülürken diğer değerlerde istatistiksel farklılık gözlenmedi ve bu değerlerin hepsinin ovariektomi grubunda kontrol grubundan daha büyük olduğu tespit edildi (Çizelge 13).

Çizelge 13: Dört aylık gruplarda digital kumpas ile alınan ölçümler

	Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
Maksimum femur uzunluğu	96.55 (3.94)	98.59 (4.35)	-02.11	ÖD
Femur uzunluğu	92.09 (4.03)	93.85 (3.75)	-01.91	ÖD
Femur'un proksimal genişliği	23.70 (1.33)	25.54 (1.93)	-07.76	*
Femur'un distal genişliği	15.79 (0.86)	16.23 (0.87)	-02.79	ÖD

ÖD: Önemli Değil, *: p<0.05

Dört aylık dönemde tomografi kesitlerinden alınan ölçümlerde endosteal ve periosteal çaplar ile cavum medullare'nin alanı ve kesitin total alanının ovariectomize hayvanlarda istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü. Substantia compacta'nın ise morfometrik olarak ovariectomi ve kontrol grupları arasında büyük değişiklikler göstermediği tespit edildi. (Çizelge 14).

Çizelge 14: Dört aylık gruplarda tomografi kesit görüntülerinden alınan ölçümler

	Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
Substantia compacta'nın lateral kalınlığı (mm)	1.23 (0.10)	1.28 (0.07)	-04.07	ÖD
Substantia compacta'nın medial kalınlığı (mm)	1.17 (0.15)	1.21 (0.12)	-03.42	ÖD
Substantia compacta'nın cranial kalınlığı (mm)	0.94 (0.08)	0.98 (0.12)	-04.26	ÖD
Substantia compacta'nın caudal kalınlığı (mm)	0.94 (0.09)	0.86 (0.15)	08.51	ÖD
Medio-lateral endosteal çap (x eksen) (mm)	5.05 (0.37)	6.93 (0.59)	-37.23	**
Cranio-caudal endosteal çap (y eksen) (mm)	4.27 (0.16)	5.20 (0.50)	-21.78	**
Medio-lateral periosteal çap (x eksen) (mm)	7.80 (0.44)	9.40 (0.62)	-20.51	**
Cranio-caudal periosteal çap (y eksen) (mm)	6.40 (0.29)	7.12 (0.44)	-11.25	*
Substantia compacta'nın alanı (mm²)	22.15 (2.77)	24.53 (1.51)	-10.74	ÖD
Cavum medullare'nin alanı (mm²)	16.58 (1.86)	27.67 (4.19)	-66.89	**
Total alan (mm²)	38.72 (3.90)	52.21 (5.36)	-34.84	**

ÖD: Önemli Değil , *: p<0.05, **: p<0.01

4.1.5 Biyomekanik test bulguları

Çalışmada iki aylık dönemde tomografi kesitlerinden hesaplanan atalet momenti değerleri ovariektomize hayvanlarda büyük olsa da gruplar arasında istatistiksel farklılık tespit edilemedi (Çizelge 15).

Çizelge 15: İki aylık gruplarda tomografi kesitlerinden hesaplanan atalet momenti değerleri

	Kontrol n=12	Ovariektomi n=12	% fark	Önem
X eksenini atalet momenti (mm⁴)	135,95(32,04)	162,33 (31,52)	-19.40	ÖD
Y eksenini atalet momenti (mm⁴)	88.94 (20.80)	103.72 (14.76)	-16.62	ÖD
Polar atalet momenti (mm⁴)	224,89 (51,97)	266,05 (44,79)	-18.30	ÖD

ÖD: Önemli Değil

Dört aylık hayvanların femur'larında tomografi kesitlerinden hesaplanan atalet momenti değerlerinin ovariektomize hayvanlarda kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 16).

Çizelge 16: Dört aylık gruplarda tomografi kesitlerinden hesaplanan atalet momenti değerleri.

	Kontrol n=12	Ovariektomi n=12	% fark	Önem
X eksenini atalet momenti (mm⁴)	123.80 (27.63)	207.67 (38.23)	-67.75	***
Y eksenini atalet momenti (mm⁴)	82.09 (15.32)	119.79 (21.01)	-45.93	***
Polar atalet momenti (mm⁴)	205.89 (42.22)	327.46 (57.19)	-59.05	***

***: p<0.001

İki aylık dönemde üç nokta eğme testi ile elde edilen ve hesaplanan biyomekanik verilerde kontrol ve ovariektomi grubu arasında istatistiksel fark gözlenmedi (Çizelge17).

Çizelge 17: İki aylık gruplarda üç nokta eğme testi sonucunda elde edilen veriler

	Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
Maksimum Kuvvet (N)	288.21 (50.19)	282.96 (52.69)	01.82	ÖD
Katılık (N/mm)	431.00 (69,77)	433.21 (59.56)	-00.51	ÖD
Maksimum dayanıklılık (N/mm²)	136.24 (24.70)	117.96 (24.99)	13.41	ÖD
Esneklik katsayısı (Pa)	12.98 (2.38)	11.09 (2.41)	14.56	ÖD
Maksimum enerji Absorpsiyonu (mJ)	0.17 (0.5)	0.17 (0.4)	00.00	ÖD
Tokluk (MJ/mm³)	1.23 (0.31)	1.16 (0.28)	05.69	ÖD

ÖD: Önemli Değil

Dört aylık dönemde üç nokta eğme testinde kuvvet-deformasyon eğrisinden elde edilen maximum kuvvet, maximum enerji absorpsiyonu ve katılık değerleri gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermezken, bu değerlerin normalize edildiği maksimum dayanıklılık, esneklik katsayısı ve tokluk değerlerinin ovariectomize hayvanlarda istatistiksel farklılıkta görülerek önemli derecede düştüğü tespit edildi (Çizelge18).

Çizelge 18: Dört aylık gruplarda üç nokta eğme testi sonucunda elde edilen veriler

	Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
Maksimum Kuvvet (N)	320.49 (32.37)	285.81 (74.85)	10.82	ÖD
Katılık (N/mm)	488.10 (80.20)	460.07 (134.40)	05.74	ÖD
Maksimum dayanıklılık (N/mm²)	185.49 (34.65)	117.87 (34.47)	36.45	***
Esneklik katsayısı (Pa)	15.84 (3.36)	10.17 (2.83)	35.79	***
Maksimum enerji Absorpsiyonu (mJ)	0.20 (0.07)	0.16 (0.04)	20.00	ÖD
Tokluk (MJ/mm³)	2.06 (0.70)	1.20 (0.40)	41.75	**

ÖD: Önemli Değil , **: p<0.01, ***: p<0.001

İki aylık dönemde femur'un distal'inden hazırlanan kemik örneklerinde uygulanan indentasyon testi bulgularında gruplar arasında istatistiksel fark görülmedi (Çizelge19).

Çizelge 19: İki aylık gruplarda indentasyon testi sonucunda elde edilen veriler

	Kontrol n=12	Ovariectomi n=12	% fark	Önem
Maksimum Kuvvet (N)	182.36(75.99)	152.48(63.23)	16.39	ÖD
Maksimum dayanıklılık (N/mm²)	43.16 (17.99)	36.09 (14.97)	16.38	ÖD

ÖD: Önemli Değil

Dört aylık dönemde ovariectomi grubu hayvanlarının femur'un distal'inden hazırlanan kemik örneklerinde yapılan indentasyon testi sonucunda sağ ve sol taraftan elde edilen bulgular arasında istatistiksel farklılık tespit edildi. Bu nedenle bu dönemdeki hayvanların indentasyon testi sonuçları sağ ve sol tarafta ayrı ayrı değerlendirildi. Bu test sonucunda kontrol ve ovariectomi gruplarının değerleri arasında ise istatistiksel farklılık görülmedi (Çizelge 20).

Çizelge 20: Dört aylık gruplarda indentasyon testi sonucunda elde edilen veriler

		Kontrol n=6	Ovariectomi n=6	% fark	Önem
Maksimum Kuvvet (N)	Sağ	172.14 (42.11)	117.68 (59.16)	31.64	ÖD
	Sol	197.08 (61.70)	220.37 (109.83)	-11.82	ÖD
Maksimum dayanıklılık (N/mm²)	Sağ	40.74 (09.97)	27.85 (14.00)	31.64	ÖD
	Sol	46.64 (14.60)	52.16 (25.99)	-11.84	ÖD

ÖD: Önemli Değil

4.1.6. Kül analizi bulguları

Çalışmada gerek iki aylık (Çizelge 21) gerekse dört aylık dönemlerde (Çizelge 22) kemik kül miktarı, kül içerisindeki kalsiyum, fosfor miktarları değerleri ovariectomi ve kontrol grupları arasında istatistiksel farklılık göstermedi.

Çizelge 21: İki aylık gruplarda kemiklerden elde edilen küldeki kalsiyum, fosfor ve % kül miktarı değerleri

	Kontrol n=6	Ovariectomi n=6	% fark	Önem
Kalsiyum	29.18 (4.09)	31.06 (7.05)	-06.44	ÖD
Fosfor	15.03 (2.89)	17.53 (4.78)	-16.63	ÖD
%Kül Miktarı	53.65 (1.84)	57.24 (4.55)	-06.69	ÖD

ÖD: Önemli Değil

Çizelge 22: Dört aylık gruplarda kemiklerden elde edilen küldeki kalsiyum, fosfor ve %kül miktarı değerleri

	Kontrol n=6	Ovariectomi n=6	% fark	Önem
Kalsiyum	33.37 (10.97)	34.47 (05.35)	-03.29	ÖD
Fosfor	15.71 (04.39)	14.65 (07.11)	06.74	ÖD
%Kül Miktarı	53.74 (01.00)	52,48 (01.18)	02.34	ÖD

ÖD: Önemli Değil

4.2.Tartışma

Hayvan modellerinin osteoporoz çalışmalarında kullanımına ilişkin derleme ve kaynak kitaplarda ovariektomi uygulanmış tavşan modeline ilişkin çalışmaların çok yetersiz olduğu (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner, 2001; Kimmel, 2002) ve çeşitli ortopedik araştırmalarda en fazla kullanılan hayvan olan tavşanın, osteoporoz modeli olarak kullanıldığı çalışmaların bu kadar az olmasının şaşırtıcı olduğu belirtilmektedir (Bellino, 2000, Turner, 2001). Ayrıca ovariektomize tavşan modelinin kullanıldığı az sayıdaki çalışmalarda (Mori et al., 1997; Tresguerres et al., 2002; Arslan ve arkadaşları, 2003; Oberg et al., 2003) kullanılan kaynaklara bakıldığında da osteoporotik hayvan modeli ile ilgili olarak araştırmacıların genelde rat modellerinde yapılmış çalışmalardan yararlandıkları göze çarpmaktadır. Rat, temin ve bakımının kolay olması, hızlı gelişen ve iyi tanımlanmış bir iskelet sistemine sahip olması ve ovariektomi uygulanmış ratlarda östrojen eksikliğinin ve tedavisinin belirtileri insan iskeletine benzerlik gösterdiği için, bu tür çalışmalarda en fazla kullanılan laboratuvar hayvanıdır (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner 2001). Tavşanın rata göre iskelet olgunluğuna ve maksimum kemik kütlesine daha çabuk ulaşması (Gilsanz et al., 1988; Lerner and Kuhn, 1997; Norris et al., 2001), ratta görülmeyen (Kimmel, 2002) intra-kortikal yeniden şekillenmenin tavşanda görülmesi (An and Friedman, 1999; Mashiba et al., 2001), büyüklüğü nedeniyle dansitometrik, histomorfometrik ve mekanik testlerin rata göre daha kolay uygulanabilmesi gibi avantajları vardır. Tavşanın osteoporoz modeli olarak kullanıldığı deneysel çalışmaların azlığı da tavşan modeline ilişkin normal değerlerin sunulduğu çalışmaların azlığından kaynaklanmaktadır (Bellino, 2000). Tavşan yukarıda belirtilen özelliklerinin uygunluğu ile birlikte, bakım-beslenmesi ve çalışılabilirliğinin kolay olması nedeniyle postmenopozal osteoporoz çalışmaları için uygun bir hayvan modeli olarak görülmektedir. Ancak ülkemiz şartlarında çalışmalar için gruplar oluşturabilecek sayıda erişkin dişi tavşanın temini damızlık olarak kullanılmaları nedeniyle daha zordur ve maliyeti daha yüksektir.

Mosekilde (1995) osteoporoz çalışmalarında kullanılacak hayvan modelinin standardize edilmesinin gerekli olduğunu belirtmiştir. Bu amaçla seçilen hayvan modelinde kemik yoğunluğu, morfometrik ve histomorfometrik özellikleri, biyokimyasal ve biyomekanik testlere ilişkin veriler bulunmalıdır (Mosekilde, 1995; An ve Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner et al., 2001; Kimmel, 2002). Bu çalışmada ovariektomi uygulanan Yeni Zelanda tavşanlarında canlı ağırlık, genel biyokimyasal değerler, femur'a ilişkin kemik yoğunluğu, morfometrik ve biyomekanik değerleri verilmiştir. Yapılan literatür taramasına göre ovariektomize tavşan modelinde bu şekilde kapsamlı verilerin sunulduğu çalışmalar bulunmamaktadır. Yang et al. (1997) osteoporoz modeli olarak ovariektomize tavşanlarda primer çalışma olarak belirttikleri bir araştırmanın ancak özetine ulaşılabilmektedir. Uluslar arası olmayan bir dergide Çince yayınlanan bu makalenin kullanılabilirliği de kısıtlıdır ki son yıllarda konu ile ilgili yazılan kitap ve derlemelerde (An and Friedman, 1999; Bellino, 2000; Turner, 2001; Turner et al., 2001; Kimmel, 2002; Egermann et al., 2005) ve ovariektomize tavşanlarla ilgili yapılan çalışmalarda (Mori et al., 1997; Cao et al., 2001; Tresguerres et al., 2002; Arslan ve arkadaşları, 2003; Oberg et al., 2003; Castaneda et al., 2006) kaynak olarak kullanılmamıştır.

Tavşan, düşük kalsiyum diyeti (Norris et al., 2001), paratiroid hormon (Hirano et al., 1999; Hirano et al., 2000; Mashiba et al. 2001) ve steroid (Gafni et al., 2002) etkili osteoporoz için önceden belirtilmiş bir hayvan modelidir. Ovariektomize hayvan modeli olarak tavşana ilişkin verilerin sunulduğu çalışmalara bakıldığında; ilk olarak Yang et al. (1997)'nin yaptıkları araştırmanın özetinde, ovariektomi uygulanmış Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda operasyonu takiben beşinci ayda kemik mineral yoğunluğunun azalmaya başladığı, sekizinci ayda kül ağırlığı, kalsiyum ve fosfor içeriği ve kemik dayanıklılığının azaldığı ve trabekül sayısı ve korteks kalınlığında azalma olduğu bildirilmiştir. Aynı yıl Mori et al. (1997), ovariektomi uyguladıkları tavşanlarda operasyonu takiben altı aylık döneme kadar DEXA ile tibia'dan ölçtükleri kemik mineral yoğunluğunun istatistiksel düzeyde düşmediğini, ovariektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uyguladıktan bir ay sonra kemik yoğunluğunun azalmaya başladığını belirtmişlerdir. Çalışmada canlı hayvanda

sadece bir kemik bölümünde DEXA ile kemik yoğunluğu değerlendirilmiş olmasına rağmen Kimmel (2002) bu verileri göz önüne alarak tavşanda ovariektomi etkisiyle kemik kaybının oluşmadığını belirtmiştir. Ovariektomize tavşan modeline ilişkin Cao et al., (2001)' in yaptıkları diğer bir çalışmada ise altı aylık Japon tavşanında ovariektomi uygulanmış operasyonu takiben birinci ve üçüncü aylarda kantitatif tomografi yardımı ile corpus mandibula'da kemik mineral yoğunluğu incelenmiştir. Bu çalışmada operasyon sonrası birinci ayda ovariektomi grubunda kemik yoğunluğunda azalma görülmezken üçüncü ayda total ve trabeküler kemik yoğunluğunun azaldığı, kortikal kemikte ise istatistiksel farklılık olmayan bir azalmanın görüldüğü belirtilmiştir. Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada ise sekiz aylık Yeni Zelanda tavşanlarında ovariektomi ile birlikte kortikosteroid uygulamak sureti ile osteoporoz modeli oluşturulmuştur. Uygulamadan altı hafta sonra DEXA ile lumbal vertebralar, art. genu bölgesi ve tibia'nın korteksinden kemik mineral yoğunluğunda azalmanın oluştuğu tespit edilmiştir (Castaneda et al., 2006). Bu referans araştırmalar dışında ovariektomize tavşanlarda yapılmış dört adet deneysel araştırma tespit edilebilmiştir. Ovariektomize beş-altı aylık tavşanlarda Ilizarov external fiksator uygulanarak distraction osteogenesis üzerine osteoporoz etkisinin çalışıldığı bir deneysel çalışmada operasyondan dört ay sonra kallusun daha osteoporotik olduğu ve yeni kemik oluşumunun yavaş olduğu tespit edilmiştir (Arslan ve arkadaşları, 2003). Diğer bir çalışmada ise erişkin dişi tavşanlarda ovariektomi sonrası üçüncü ayda osteoinductive bir maddenin kemik yapımı üzerine etkisi incelenmiştir (Oberget et al., 2003). Mori et al. (1997) ise erişkin Japon tavşanda ovariektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uygulamış ve tibia üzerine uyguladığı implantın uyumunu histolojik yöntemlerle ve kemik dansitesi ölçümü ile değerlendirmişlerdir. Uyguladıkları dental implantın kemik uyumunun kontrol grubuna göre dört hafta daha geç oluştuğunu tespit etmişlerdir. Tresguerres et al. (2002) üç aylık Yeni Zelanda tavşanında ovariektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uygulayarak osteoporoz oluşan tibia üzerinde implant denemesi yapmış ve histolojik yöntemler ve kemik dansitesi ölçümü ile değerlendirmiştir. Bu çalışmalardan tavşanlarda ovariektomi ile birlikte düşük kalsiyum diyeti uygulandığında en fazla iki ay sonra, sadece ovariektomi uygulandığında ise en fazla

dört ay sonra osteoporotik kemik yapılarının görüldüğü anlaşılmaktadır. Bu çalışmada altı aylık erişkin Yeni Zelanda tavşanında ovariektomi uygulandıktan sonra ikinci ve dördüncü aylarda osteoporoz oluşumu kontrol edilmiştir. Buna göre operasyonu takiben ikinci ayda femur'da osteoporozla ilişkin belirtilerin görülmeye başlandığı, dördüncü ayda ise osteoporotik belirtilerin oluştuğu tespit edilmiştir. Bu bulgular özellikle Cao et al.(2001)'un ve Arslan ve arkadaşlarının yukarıda belirtilen bulguları ile uyumludur.

Bu tür çalışmalarda canlı ağırlığın gruplarda homojen bir dağılım göstermesi ve gruplar arası istatistiksel farklılığın olmaması morfolometrik veriler, dansite ve mekanik verilerinin değerlendirilmesi için önemlidir. Çünkü kemikler, üzerine düşen mekanik yüklenmeleri karşılayabilmek için boyut, şekil ve yapısını değiştirebilen yani yeniden şekillenme (remodelling) yeteneğine sahiptir (Kaplan et al., 1994; Frankel and Nordin, 2001; Hart, 2001). Bu nedenle canlı ağırlığı yüksek olan hayvanda yüklenme miktarına bağlı olarak kemikler farklı şekillenecek ve daha kuvvetli olacaktır. Bunun sonucunda da değerlerdeki değişimin çalışma yöntemi ile ilgili veya canlı ağırlık farklılığına bağlı olup olmadığının anlaşılması zorlaşacaktır. Bu çalışmada grupları oluşturan hayvanların canlı ağırlıkları çalışma başında ve sonunda homojen dağılıyordu. Ovariektomi ve kontrol grubu hayvanlarının canlı ağırlıkları, çalışmanın başından sonuna kadar olan dönemde istatistiksel farklılık göstermedi. Ayrıca her iki grupta da çalışmanın başlangıcı ve sonunda hayvanların canlı ağırlıkları verileri arasında istatistiksel farklılık çıkmadı.

Kemik fizyolojisine ilişkin biyokimyasal değerlendirme esas olarak kemik döngüsündeki formasyon ve rezorbsiyon ürünlerine ilişkin parametrelerin incelenmesi ile olur. Kemik yapımını gösteren biyokimyasal parametreler alkalen fosfataz, osteokalsin ve tip I kollajenin propeptitleridir. Kemik yıkımını gösteren biyokimyasal parametreler tip I kollojenin telopeptitleri, pyridinoline ve deoxypridinoline, hydroxiprolin'dir. Ancak bu tür parametrelerin testleri ELISA veya RIA gibi yöntemler ile yapılabilmektedir (Allen, 2003). Bu çalışmada aslında yukarıda belirtilen parametreler incelenerek destekleyici bilgi verilebilirdi. Ancak bu testler tavşana uygun gerekli kitlerin maliyetinin yüksek olması (~1250\$) ve teminindeki zorluklar nedeni ile yapılamamıştır. Kalsiyum ve fosfor değerleri kemik

döngüsünün değerlendirilmesinde kullanılabilen parametreler olmasına rağmen geçerliliği yukarıda bahsedilen parametrelere göre çok azdır (Koloğlu, 1998). Ayrıca osteoporozda serum Ca ve P değerleri normal veya normale yakındır (Atik, 1998). Bu çalışmada hayvanların çalışma başında ve sonunda sağlıklı olması, elde edilen sonuçların değerliliği açısından önemlidir. Bu amaçla çalışmanın başlangıcından sonuna kadar hayvanların sağlık kontrolleri düzenli olarak yapıldı. Sağlıklı olmayan hayvanlar araştırmadan çıkarıldı. Rutin muayeneler dışında değerlendirilen biyokimyasal parametreler de Hiller and Quesenberry (1997) ve Harkness and Wagner (1989) 'e göre normal değerler içerisinde tespit edildi. Sadece albumin değerlerinde az miktarda artış görüldü. Kontrol ve ovariektomi grupları arasında ise hiç bir biyokimyasal parametrede istatistiksel farklılık görülmedi.

Çalışmada dört aylık dönemde ovariektomi grubunun indentasyon testi sonuçları dışında, gerek morfometrik gerek kemik yoğunluğu gerekse biyomekanik testlerde sağ ve sol tarafta elde edilen değerler arasında istatistiksel farklılık bulunmadı. Benzer şekilde An et al. (1996) biyomekanik yöntemler ile ve Rudicel (1985) ise morfometrik yöntemler ile tavşan femur'unun sağ ve sol tarafı arasında istatistiksel farklılığın olmadığını ortaya koymuşlardır.

İnsanda osteoporotik kırık riskinin en fazla vertebra, coxa ve femur'dadır. (Kimmel 2002). Osteoporozla ilişkin deneysel çalışmalarda da femur (Indrekvam et al., 1991; Jørgensen et al., 1991; Aerssens et al., 1993; Peng et al., 1994; Peng et al., 1997; Turner et al., 1997; Yang et al., 1997; Syversen et al., 1999; Hirano et al., 2000; Hansen et al., 2001; Heybeli ve arkadaşları, 2001; Castaneda et al. 2006) en fazla tercih edilen kemiktir. Bu araştırmada trabeküler ve kortikal kemik yapılarının değerlendirilebilmesi ve çalışmalarda sıklıkla tercih edilen bir kemik olması nedeniyle femur'un kullanılması uygun görülmüştür.

Günümüzde kemik çalışmalarında DEXA altın standart olarak kabul edilen ve yaygın kullanımda olan en gelişmiş kemik yoğunluğu ölçüm yöntemidir (Grier et al., 1996; Kauffman and Shiffert, 2001; WHO, 2003; Elçi, 2004). Özellikle uzun süren ve ölçümlerin tekrarlandığı çalışmalarda diğer tekniklere göre en rahat kullanılan yöntemdir. Bu yöntemle iskeletin hemen hemen her bölümünde hızlı ve doğru bir şekilde, düşük maliyetli ölçüm yapılabilir. Bu ölçümler canlı hayvanda

olduğu gibi diseke edilmiş kemiklerde de yapılabilir. Ancak rat, kobay, tavşan ve kedi gibi kk hayvanlarda DEXA ile ölçüm yapmak için yüksek rezolüsyonlu yazılım programlarının kullanılması gerekmektedir (Grier et al., 1996; Fink et al., 2002; Karahan et al., 2002). Bu çalışmada kk hayvan için uygun yazılımı olan gelişmiş bir cihaz kullanılarak hem canlı hayvanlarda hem de diseke edilmiş kemiklerde kemik yoğunluğu ölçümü yapılmıştır.

DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümü yapılırken taranan kemiğin sınırlarının ve ölçüm yapılacak kemik alanının standart olarak belirlenmesi gerekir (Grier et al., 1996). Bu çalışmada ölçüm yapılacak kemiğin sınırları belirlendikten sonra önce femurun tamamının yoğunluk ölçümü yapıldı, daha sonra görüntü üzerinde kemiğin boyu ölçülerek kemik boyunun %20'si oranında proximal, corpus ve distal'inden anatomik olarak standart ölçüm yapıldı. Diğer bir önemli faktör ise bu yöntemde iki boyutlu görüntüden analiz yapıldığı için hayvan veya kemiğin pozisyonuna bağlı değişebilen varyasyon katsayısıdır. Özellikle hayvan çekimlerinde standart pozisyonun uygulanması zor olduğu için mümkün olduğu kadar sabit pozisyonlarda çekim yapılmalıdır. Ancak bu yöntem için insanlardan farklı olarak hayvanlarda standart pozisyonlar belirlenmemiştir (Grier et al., 1996; Tresguerres et al., 2002; Karahan et al., 2002; Castaneda et al. 2006). Bu çalışmada bir canlı hayvan ve bir diseke edilmiş kemikte pozisyon bozulup tekrar yerleştirildikten sonra beş defa tekrarlayan ölçümler yapıldı. Pozisyona bağlı varyasyon kat sayısı genel olarak kemikten direkt olarak elde edilenlerde %5'den düşük iken canlı hayvan ölçümlerinden elde edilenlerde genelde %5'den büyük olarak tespit edildi. Ancak alışma verilerinin alındığı canlı hayvan ölçümlerinde her ne kadar en uygun pozisyon verilmeye çalışılsa da elde edilen görüntülerin bir kısmında femur'ların ölçüm için uygun pozisyonda olmadığı görüldü. Bu durum, elde edilen değerler uygun olabilecek varyasyon katsayısını vermiş olsa da, pozisyona bağlı varyasyon katsayısının hesaplandığı hayvanlarda da vardı. Dansite lm yapılan merkez, fakültemiz dışında özel bir merkez olduğu için hatalı çekimlerde her zaman tekrarlama imkanı da olmadı. DEXA ile kemik mineral yoğunluğu ölçümü taranan görüntüdeki kemik alanı ile direkt ilgili olduğu için (Ammann and Rizzoli, 2003), pozisyon farklılıkları alan ölçümlerinde ve böylece BMD değerlerinde farklılıklara

sebeptir. Bu nedenlerle, bu tür çalışmalarda anestezi altındaki hayvanda çekim yapılacaksa standart pozisyon için bu yöntemin uygun olmadığı, bu tür çalışmalarda daha fazla hayvan kullanılması ve hayvanların her bacağına ayrı ayrı çekim yapılmasının daha güvenilir sonuçları ortaya koyabileceği gözlem ve deneyimlere göre önerilebilir. Fizyolojik tuzlu su içerisinde diseke edilmiş kemiklerden alınan görüntüler ölçüm için çok daha uygundu. Çekim sırasında kemiklerin pozisyonlarında değişiklik olmadı ve bilgisayar ortamında kemik çevresinde sınırlandırmayı zorlaştıracak doku olmadığı için kemik sınırları daha belirgindi ve daha rahat çalışıldı.

Kemik mineral içeriği (BMC) terimi taranan bölgedeki kemiğin mineral miktarı olduğu için taranan kemiklerin boyutlarının farklılığından tarama alanı bütün kemiklerde standart değildir. Bu nedenle kemik mineral içeriğinin tarama alanına oranlanması ile elde edilen BMD değeri kemiğin birim alanındaki mineral içeriğini veren (gr/cm^2) standart bir değer olarak çalışmalarda sıklıkla kullanılır (Kauffman and Shiffert, 2001; Ammann and Rizzoli, 2003). Bu çalışmada canlı hayvanda anestezi altında alınan kemik yoğunluğu ölçümleri genelde istatistiksel farklılık olmadığı halde kontrol grubunda daha yüksek görüldü. Yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı bu ölçümlerin değerlendirilmesi uygun görülmedi. Daha güvenilir olan diseke edilmiş kemiklerden alınan ölçümlerin iki aylık dönemde femur'un distal ve proximal kısımlarının alanı ve proximal'de kemik yoğunluğu değeri dışında istatistiksel farklılık görülmedi. Bu ölçümlerde ovariektomize hayvanların kemik alanlarının daha yüksek iken kemik yoğunluğunun daha az olduğu dikkat çekiciydi. Dört aylık dönemde ise ovariektomi grubunda kemiğin tüm bölümlerinde önemli derecede alan artışına rağmen kemik yoğunluğunun düşük olduğu tespit edildi. Bu bulgulara göre tavşanlarda ovariektomiyi takiben ikinci ayda kemik mineral yoğunluğunda azalmanın başlayabileceği, dördüncü ayda ise belirgin bir azalmanın tespit edilebileceği söylenebilir. Ayrıca her iki dönemde de ovariektomi ve kontrol grupları arasında kemik mineral yoğunluğu farkının femur'un proksimal ve distal'inde corpus bölgesine göre daha yüksek olduğu göz önüne alındığında trabeküler kemik kaybının kortikal kemik kaybına göre daha fazla olduğu söylenebilir. Bununla birlikte femurun proximal kısmında operasyon sonrası ikinci

ayda alınan kemik yoğunluğunda da ovariektomize hayvanlarda düşük olması trabeküler kemik kaybının daha erken dönemlerde başladığını gösterebilir.

Kemik yoğunluğundaki bu değişimlere rağmen kemiğin kül miktarı ve kül içeriğinde gruplar arasında farklılıkların çıkmaması dikkat çekiciydi. Bu yöntemde laboratuvar imkanları doğrultusunda her gruptan sadece altı örnek çalışılabilir. Gözlem ve deneyimlere göre gruptaki materyal sayısının bu tür çok aşamalı ve hata payı yüksek testler için yeterli olmadığı düşünülebilir.

Çalışmada osteoporotik kemik şekillenmesinin olduğu dördüncü ayda femur'un corpus'undan tomografi ile elde edilen kesit görüntülerinde kemiğin substantia compacta'sında önemli bir değişiklik olmadan ovariektomize hayvanlarda kemik çapları, medullar alan ve total alanın arttığı görüldü. Bu değerlere bağlı olarak değişen atalet momenti değerleri de dört aylık grupta ovariektomize hayvanlarda daha yüksek olarak tespit edildi. Ovariektomiden sonra kemik porozitenin artışına bağlı olarak alanını arttırmak sureti ile önceki dayanımını korumaya çalışır (Ammann and Rizzoli, 2003). Kortikal kemikte yeniden şekillenme endosteal ve periosteal yüzeyler ve havers kanallarında görülür. Kortikal kemik ileri yaşlarda azalan mineral yoğunluğuna karşın dayanımını arttırmak için enine genişler (Kaplan et al., 1994, Seeman, 2003). Tavşan intrakortikal (havers kanallarında) yeniden şekillenmenin görüldüğü bir hayvandır (An and Friedman, 1999; Mashiba et al., 2001) ve osteoporozisde kemikte yeniden şekillenme oranı artar ancak östrojen yetersizliğine bağlı olarak doku yeterince mineralize olamaz (Seeman, 2003). Bu durumda çalışmada kullanılan ovariektomize hayvanlarda azalan mineral yoğunluğuna bağlı yüklenmeleri karşılayabilmek için kemikler enine genişleyip alanını ve buna bağlı olarak atalet momentini yükselterek organ düzeyinde dayanıklılığını arttırabildiği düşünülebilir. Bu görüşü destekler nitelikte morfometrik bulgular Hirano et al. (2000)'un yaptıkları çalışmada göze çarpmaktadır. Araştırmacılar paratiroid hormon verdikleri tavşanlarda kortikal kemikte porozite ve atalet momenti değerlendirmesi yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda PTH etkisi ile kemiğin endosteal yüzeye yakın kısmında kortikal porozitenin daha yüksek, periosteal kısımda ise porozitenin daha düşük olduğunu ve kemiğin genelinde atalet momentinin kontrol grubuna göre önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. Bunun

nedeni olarak kemiğin periosteal yüzeyinde kemik yapımının kontrol grubuna göre sekiz katı daha fazla olduğunu ve buna bağlı olarak total kemik alanında artışın meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Bu sonuçlara göre kemik dayanımını değerlendirirken sadece kemiğin morfometrik özellikleri veya buna bağlı hesaplanan atalet momenti değerlerini kullanmak doğru sonuçlar vermeyebilir.

Osteoporozda kemiğin total alanı ve medullar alanı artarken *substantia compacta*'nın da incilmesi beklenir (Kaplan et al., 1994; Delahay, 2001; Seeman, 2003). Ancak insanlarda menopoza sonrası kemik kaybının yaşın ilerlemesi ile birlikte daha fazla olduğu belirtilmiştir (Koloğlu, 1998). Benzer şekilde Iwamoto et al. (1998)'nin yaptıkları çalışmada kadınlarda 50-60 yaşları arasında *cavum medullare* genişliğinde hızlı bir artış varken kortikal genişliğin daha ileri yaşlarda azalmaya başladığını göstermişlerdir. Bu çalışmada da *cavum medullare* alanı ve total alan artarken *substantia compacta*'da belirgin değişikliklerin görülmemesi yaş ve operasyon sonrası dönemin süresi ile ilgili olabilir. Tavşanın maksimum kemik kütlesine yaklaşık beş aylıkken ulaştığı ve kemiğin şekillenme sürecinin yaklaşık altıncı ayda sonlandığı göz önüne alındığında (Gilsanz et al., 1988) on aylık dönemde hayvanların henüz fizyolojik aktivitelerinin yoğun olduğu söylenebilir. Buna bağlı olarak *substantia compacta*'da daha ileri yaşlarda incelmeye başlaması beklenebilir.

Mekanik özellikler kemiğin fonksiyon ve yapısal özelliklerini yansıtan temel parametreler olduğu için kemik doku ile ilişkili hayvan deneylerinin bir çoğunda mekanik testler uygulanmıştır (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999). Kemiğin mekanik özellikleri ise, test edilecek örneğin su oranı, saklanması ve sıcaklık değerlerine göre önemli derecede varyasyon gösterir (Turner and Burr, 1993). Bu nedenle kemik çıkartıldıktan sonra hemen test edilmeyecekse, uygun şartlar altında saklanması gerekmektedir. Turner and Burr (1993)'e göre doku otolizi kemiğin vücuttan uzaklaştırılmasından sonraki saatler içinde oluşur ve bu durum kemiğin mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkiler. Sedlin (1965), -20° C'de 20 gün süre ile insan femuru'nu dondurarak kemiğin eğme dayanımının değişmediğini göstermiştir. Ashman (1982) ise -20° C'de 30 gün süre ile dondurduğu köpek femuru'nun *young modulus*de %2'den daha fazla azalmanın oluştuğunu belirtmiştir.

Martin ve Sharkey (2001) çeşitli çalışmalarda elde edilen sonuçları derlediklerinde kemiğin -20° C ile -70° C arasındaki derecelerde dondurulmasında genel olarak biyomekanik farklılıkların olmadığı, bu değerlerin altındaki ve üstündeki değerlerde mekanik değişikliklerin olduğunu tespit etmişlerdir. Mekanik test için kemik örneğin uzun süre korunmasında önerilen ve uygulanan en iyi metot, örnekleri fizyolojik tuzlu su emdirilmiş gazlı bezler içerisinde -20° C’de dondurmaktır (Turner and Burr, 1993). Yapılan çeşitli çalışmalara göre dondurma yöntemi ile kemik örneklerinin en fazla sekiz ay saklanabileceği, bu süreden sonra kemiğin mekanik özelliklerinin önemli derecede olumsuz etkilenebileceği belirtilmiştir (Roe et al., 1988). Bu çalışmada kemikler diseke edilir edilmez fizyolojik tuzlu su ile ıslatılmış gazlı bezlere sarılarak diseksiyon süresine göre en fazla 15 dakika içerisinde -25° C’ye konuldu. Hazırlanan bu örnekler iki aylık grupta iki hafta, dört aylık grupta bir hafta süre ile saklandı.

Bazı çalışmalarda kemiklerin tekrar tekrar dondurulup çözdürülmesi gerekebilir. Bu durumda da çeşitli kemik örneklerinin 4-8 kez dondurulup çözdürülmesinde mekanik yönden olumsuz etkilerinin olmadığı belirtilmiştir (Linde and Sørensen, 1993; Kang et al., 1997; An and Friedman, 1999; Martin and Sharkey, 2001). Ancak er koşulda kemiğin fizyolojik tuzlu su içerisinde dondurulması ve çözdürülmesi önerilmektedir (An et al., 1996). Kemik örneklerinde biyomekanik testlerin uygulandığı çalışmaların büyük bir kısmında mekanik test öncesi kemiklerin çözdürülmesi ile ilgili bilgi verilmemiştir. Bazı araştırmacılar kemikleri oda ısısında (Markel et al. 1994; Peng et al., 1994; Mashiba et al., 2001; Bennell et al., 2002; Waris et al, 2002) bazı araştırmacılar ise $+4^{\circ}$ C’de çözdürmüşlerdir (Moran et al., 2000). Bu çalışmada kemikler bilgisayarlı tomografi çekimi, kemik yoğunluğu ölçümleri, kumpasla morfometrik verilerin alınması ve mekanik testte kullanılacak bölgelerin işaretlenmesi için oda ısısında bir defa çözdürüldü. İşlemler bittikten sonra -25° C de tekrar donduruldu.

Kemiğin mekanik özellikleri çevre sıcaklığı tarafından da etkilenir. Bu amaçla bazı çalışmalarda kemik örneklerinin 37° C’de test edilmesi önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda esneklik katsayısının oda sıcaklığında, 37° C’de test edilen örneklere göre daha yüksek çıktığı gösterilmiştir (Turner and Burr, 1993; Heybeli ve

arkadaşları, 2001). Ama pratikte bu durum her zaman uygun olmayabilir. Bu durumda dikkat edilmesi gereken ortam sıcaklığının değişik test zamanları sırasında farklılık gösterebileceğidir. Bu yüzden biyomekanik ölçümler için 37°C'de sıcaklık kullanılmıyorsa oda sıcaklığının tüm testler için sabit tutulması ve test edilecek kemik örneklerinin 37°C fizyolojik tuzlu su içerisinde tutulması gerekmektedir (Turner and Burr, 1993). Bu çalışmada kemikler mekanik test öncesi çözdürüldükten sonra 37 ° C'de fizyolojik tuzlu suda 10 dakika tutuldu ve fizyolojik tuzlu sudan çıkarılır çıkarılmaz analizler yapıldı. Çalışılan laboratuvarında ortam sıcaklığı klima yardımıyla sabit tutuldu.

Uzun kemikler axial yöndeki yüklenmelere olduğu kadar, farklı yöndeki kasların etkisi ve şeklindeki kavislenmeler nedeni ile önemli derecede eğme yüklenmesine de maruz kalırlar. Bir çok çalışma ile caput femoris'e bası uygulandığında femur'un medial yüzeyi basma yüklenmesine lateral yüzeyi çekme yüklenmesine maruz kalır. Bazı invivo çalışmalarda da yürüyüş sırasında femur'da medio-lateral yüzeyde olduğu kadar cranio-caudal yüzeyde de eğme yüklenmesi olduğu belirtilmiştir (Ruff and Hayes, 1983). Tavşan femurunda da belirgin derecede görülen cranio-caudal yöndeki kavislenmeden (Wingerd, 1985) dolayı ağırlık kuvvetinin etkisi ile corpus femoris'in daha fazla eğme yüklenmesine maruz kalacaktır. Bu nedenle tavşan femurunun mekanik özelliklerini yansıtabileceği düşüncesi ile de bu çalışmada corpus femoris'te üç nokta eğme testi kullanılmıştır. Zaten hayvan modellerindeki deneysel çalışmalarda, corpus femoris'deki bu kavislenmeden ve bası, çekme, burma ve dört nokta eğme testleri için örnek hazırlanmasının zorluklarından dolayı (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999; Delehay, 2001) uzun kemiklerin değerlendirilmesinde en fazla üç nokta eğme testi uygulanmaktadır (Indrekvam et al., 1991; Jørgensen et al., 1991; Nash et al., 1994; Peng et al., 1994; Turner et al., 1997; Yang et al., 1997; Syversen et al., 1999; Heybeli ve arkadaşları, 2001).

Mühendislikte, üç nokta eğme testinde geçerli bir test için iki mesnet noktası arasındaki mesafe, örneğin kalınlığının 16-20 katı olması gerekmektedir. Eğer bu mesafe çok kısa olursa deformasyonun çoğu eğilme değil makaslama gerilmesinden olacaktır. Biyomekanikte ise kemik boyutları uygun olmadığı için eğme testi

mesafesi bu oranlara ulaşamaz. Bu nedenle kemikte eğme testi uygulanırken bu mesafe bu orana ne kadar yakın tutulabilirse testin geçerliliği o kadar uygun olur (Turner and Burr, 1993; An and Friedman, 1999; Turner and Burr, 2001). Erişkin tavşan kemiklerinden elde edilen ön çalışma bulgularına göre, bu çalışmada tüm hayvanların mesnet noktalarını standart yapmak ve bu noktaların mümkün olduğu kadar trabeküler yapıya denk gelmemesi için femur'un proksimal'den %30 ve %80 'i arasındaki mesafe corpus femoris olarak tayin edildi. Bu bölgenin ortası yüklenme noktası ve bu noktanın 25 mm proksimal'i ve 25 mm distal'i mesnet noktası olarak tayin edildi (iki mesnet noktası arası 50 mm). Aslında bu çalışmada kemik uzunlukları göz önünde bulunduğunda iki mesnet noktası arası mesafenin yaklaşık 46 ile 52 mm arasında değişmesi gerekmektedir. Ancak cihazın eğme aparatında bu mesafe her kemikte ayarlanması için uygun değildi. Bunun yanında mesnet ve yüklenme noktalarında kullanılan çubukların çapının 6mm olması ve çalışmada kullanılan femur uzunluk değerinin her iki grupta da homojen bir dağılım göstermesi nedeni ile bu farklılığın sonucu etkilemeyeceği düşünülerek mesafe standart 50 mm olarak kabul edildi. Tavşan femurunda üç nokta eğme testinin uygulandığı çalışmalarda yük uygulama noktası ve mesnet noktaları ile ilgili standart bilgi bulunmamaktadır. Bazı araştırmacılar mesnet noktaları arasını standart 30 mm olarak kabul etmiş ve yükü medio-lateral eksenden uygularken (Turner et al., 1997), bazı çalışmalarda mesnet noktası arası standart 50 mm (An et al., 1996), bazı çalışmalarda ise mesnet noktası arası standart 54 mm olarak kabul edilmiş ve yük caudo-cranial eksenden uygulanmıştır (Hirano et al., 1999; Mashiba et al., 2001). Bu çalışmalar dışında üç nokta eğme testinin kullanıldığı farklı hayvan çalışmalarında da iki mesnet noktası arası mesafenin sabit kullanıldığı görülmüştür (Jørgensen et al., 1991; Nash et al., 1994; Peng et al., 1994; Heybeli ve arkadaşları, 2001; Bennell et al., 2002; Gafni et al., 2002)

Bu çalışmada ovariektomi sonrası ikinci ayda kontrol ve ovariektomi gruplarının üç nokta eğme testi sonuçları arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir. Dördüncü ayda ise üç nokta eğme testi ile elde edilen mekanik test bulgularına göre ovariektomi ve kontrol gruplarının maksimum kuvvet, katılık ve maksimum enerji absorpsiyonu değerlerinde istatistiksel farklılık görülmemiştir.

Ancak maksimum dayanıklılık, esneklik katsayısı ve tokluk değerleri ovariektomi grubunda önemli derecede ve ortalama % 40'ları bulan oranlarda daha düşük tespit edilmiştir. Mekanik test sonucunda direkt elde edilen maksimum kuvvet, katılık ve maksimum enerji absorpsiyon değerleri, kemiğin geometrisine bağlı olarak organ düzeyinde (dışsal, extrinsic) biyomekanik özelliklerini gösterir (Turner 2002) ve normal olarak daha büyük kemikler daha büyük dayanıklılık ve katılık gösterir. Bu nedenle deneysel çalışmalarda belirtilen değerlerin normalize edilerek kemiğin birim alanında dokusal (içsel – intrinsic) özelliklerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu dönemde ovariektomi grubundan elde edilen kemiklerin kontrol grubuna göre belirgin derecede enine büyük olması nedeni ile organ düzeyinde biyomekanik değerler arasında farklılık görülmemiştir. Ancak ovariektominin etkisi ile kemik kaybına bağlı olarak birim alanındaki dayanımının değerlendirildiği maksimum dayanıklılık, esneklik katsayısı ve tokluk değerleri önemli derecede düşük çıkmıştır.

Küçük hayvanların uzun kemiklerinin trabeküler bölümlerinde biyomekanik değerlendirme yapabilmek için bir çeşit basma testi olan indentasyon testi kullanılmaktadır (An et al., 1996; An and Fredmann, 1999; Turner and Burr, 2001). Bu çalışmada da femurun distalinden hazırlanan kesitlerde indentasyon testi uygulandı. Normalde kemiğin yeniden şekillenmesi bir yüzey fenomeni olduğu için yeniden şekillenme oranının artması ile daha büyük yüzeye sahip trabeküler kemikte kaybın çok daha fazla olması gerekir (Kaplan et al., 1994; Seeman, 2003). Ancak bu çalışmada operasyon sonrası dördüncü ayda kortikal kemiğin test edildiği üç nokta eğme testinde ovariektomi grubunda kemik dayanımında büyük oranlarda azalma görülürken, şaşırtıcı bir şekilde aynı kemiklerin trabeküler bölümünde uygulanan indentasyon testinde değerler daha düşük olsa da istatistiksel farklılık görülmedi. Bu tür basma testleri uygulanırken kemik yüzeyinin çok düzgün olması gerekmektedir (An and Friedman, 1999; Turner and Burr, 2001). Ancak mevcut laboratuvar şartlarımızda hazırlanan örneklerin kesit yüzeyi düzgünlüğü yeterli değildi. Ayrıca trabeküler kemik çok fazla porozitesi olan bir yapıdır. Bu test için kullanılan indentörün çapı her ne kadar literatüre uygun olsa da (An et al., 1996) geçerli sonuçları verebilecek uygun kemik alanını test etmek için yeterli olmayabilir. Bu

nedenlerle de elde edilen verilerde daha yüksek oranda varyasyonlar görülmüştür ve standart sapmalar yüksek çıkmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Osteoporozda hayvan modeli olarak tavşan kullanılması için kemik dayanımına ilişkin verilerin çok yetersiz olduğu yoğun bir şekilde belirtilmesine rağmen bu talebi karşılayabilecek kapsamlı bir araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmada 6 aylık Yeni Zelanda tavşanlarında ovariektomi uygulandıktan iki ay sonra osteoporotik değişikliklerin başladığı ve dört ay sonra ise osteoporozun geliştiği dansitometrik, morfometrik ve biyomekanik yöntemlerle tespit edilmiştir. Bu değerler osteoporoz tedavisinde kullanılacak ilaç araştırmaları ve osteoporozlu kemiklerde yapılacak çeşitli ortopedik araştırmalarda tavşan kullanacak araştırmacılara faydalı olabilecektir.

Osteoporoz sonuçta kırıklara yol açan bir hastalık olduğu için konuya ilişkin çalışmalarda da temel parametre kemiğin dayanımı olmalıdır. Bir kemiğin dayanımı ve diğer bir ifadeyle biyomekanik özellikleri, kemiğin yoğunluğu ve geometrik özellikleri ile ilişkilidir. Bu özelliklerin farklı oranlardaki bileşkesi kemiğin kırılma eğilimini belirler. Bu çalışmada kemiğin morfometrik özellikleri, gerek yoğunluk ölçümlerini gerekse mekanik değerleri doğrudan etkilediği ortaya konulmuştur. Bu nedenle kemik kalitesini belirleyen çalışmalar yapılırken dansitometrik veya biyomekanik yöntemlerin tek başına değerlendirilmemesi ve bu verilerin morfometrik yöntemlerle desteklenmesi araştırmaların değerliliğini artıracaktır. Benzer olarak morfometrik yöntemler de tek başına yeterli olamamaktadır. Bu çalışma sonuçları, morfometrik açıdan kontrol grubuna göre ovariektomize hayvanların daha büyük femur'lara sahip olmasına rağmen daha düşük yoğunluk ve daha az dayanıma sahip olduğunu göstermiştir.

Yeni Zelanda tavşanlarının femur'unda ovariektomi uygulandıktan iki ve dört ay sonra dansitometrik, morfometrik ve biyomekanik yöntemler kullanılarak osteoporotik belirtiler görülmüştür. Bununla birlikte tavşanın postmenopozal osteoporozis için model olarak kullanılabilirliğinin detaylı tartışılabilmesi için daha uzun süreli verilerin de sunulduğu daha fazla araştırmanın yapılması gerekmektedir. Ayrıca ovariektomize tavşan kemiklerinin histolojik yöntemlerle de incelenerek

insan ve tavşan kemiklerindeki yeniden şekillenme farklılıkları ve benzerliklerinin ortaya konulması gerekmektedir.

Tüm bunlara ilaveten, diske edilmiş kemiklerde DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümü, canlı hayvandan alınan ölçümlere göre yöntem açısından daha geçerli bulunmuştur. Ancak canlı hayvanlarda uygun yöntemler ve daha fazla hayvan kullanılarak çalışmanın başından sonuna kadar kemik yoğunluğunun daha kısa aralıklarla belirlenmesi deneysel araştırmalar için değerli veriler ortaya koyabilir. Ayrıca trabeküler kemik kaybı kemik yoğunluğu ölçümleri ile ortaya konulmuşsa da, kullanılan yöntemle ilişkin sorunlar nedeniyle biyomekanik yöntemlerle ortaya konulamamıştır. Osteoprozda trabeküler kemiğin değerlendirilmesinin öneminden dolayı daha uygun yöntemlerle ovariektomize tavşanlarda trabeküler kemiğin de biyomekanik özelliklerinin ortaya konulması faydalı olacaktır.

6. ÖZET

Önemli halk sağlığı sorunlarından birisi olan osteoporozun tanı ve tedavisinde ilerleme büyük oranda uygun hayvan modellerinin kullanılmasıyla sağlanmıştır. Günümüzde kullanılan birçok hayvan modeli çalışma sonuçları insanlardaki verilerle uyuşmakla birlikte osteoporozu tek başına taklit edebilen bir hayvan modeli yoktur. Çeşitli ortopedik çalışmalarda en fazla kullanılan hayvanlardan biri olan tavşanda postmenopozal osteoporoz ile ilgili çalışmaların çok yetersiz olduğu dikkati çekmektedir. Bu çalışmada altı aylık yaştan itibaren 10 aylık döneme kadar normal ve ovariektomi uygulanmış tavşan femur'larının kemik yoğunluğu, biyomekanik ve morfometrik özellikleri açısından farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada altı aylık 24 adet Yeni Zelanda ırkı dişi tavşan kullanıldı. Çalışma başında hayvanların karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına ilişkin kan analizleri yapıldı. Daha sonra 12 adet hayvanda ovariektomi uygulanırken, 12 adet hayvanda da yalancı operasyon ile karın boşluğu açılıp tekrar kapatıldı. Operasyonları takiben ikinci ve dördüncü aylarda DEXA cihazı (Ge Lunar DPX) ile kemik yoğunluğu belirlendikten sonra her gruptan altı adet hayvanda femurlar çıkartıldı. Çevresindeki dokular tamamen temizlenen femur'lar serum fizyolojik solusyunu ile ıslanmış gazlı bezlere sarılarak -25°C de saklandı. Daha sonra kumpas ile dış morfometrik veriler, bilgisayarlı tomografi (GE Hi Speed) ile elde edilen kesit görüntülerinden AUTOCAD programı ile kesit kalınlıkları, kesit alanları ölçüldü ve atalet momenti değerleri hesaplandı. Sonra bu kemiklerden DEXA ölçümü ile direkt kemik yoğunluğu ölçümü tekrar yapıldı. Trabeküler kemiğin biyomekanik özelliklerini ortaya koymak için condylus femoris'lerden parçalar kesilerek "indentasyon testi", kortikal kemiğin biyomekanik özelliklerini ortaya koymak için corpus femoris'te "üç nokta eğme testi" uygulandı. Çalışmanın sonucunda 6 aylık Yeni Zelanda tavşanlarında ovariektomi uygulandıktan iki ay sonra osteoporotik değişikliklerin başladığı ve dört ay sonra ise osteoporozun geliştiği dansitometrik, morfometrik ve biyomekanik yöntemlerle ortaya konularak, osteoporozla ilgili deneysel çalışma yapacak araştırmacılar için tavşana ilişkin değerler sunulmuştur.

7. SUMMARY

Much of the progress in prevention and treatment of osteoporosis, which is an important public health problem, is supplied by using the suitable animal models. Although there is a good correlation between the results of human and animal modeling studies, no single animal model can be equivalence for the primer osteoporosis in human. Rabbit is the most popular animal for various orthopedic studies, but it is interesting that there has been found limited number of the studies on primer osteoporosis in this animal. In this study, it was aimed to record the some differences between intact and ovariectomized rabbits in respect to bone mineral density, the biomechanic and morphometric properties of rabbit femur.

In this study, 24 New Zealand rabbits at six months age were used. The 12 animals were ovariectomized and the other 12 animals were sham group. In two and four months after the operation bone mineral density was evaluated by DEXA (Ge Lunar DPX) under the general anesthesia in the six animals from each group. Then the animals were sacrificed and the bone mineral density was reevaluated by DEXA on the femora. The morphometric measurements of femur were taken with the aid of digital calipers while the sectional measurements were taken with the aid of AutoCAD program by using images of computed tomography. For the biomechanical properties, the indentation test was applied to the cancellous bone samples from condylus femoris while the three-point bending testing was applied to the cortical bone of corpus femoris.

In conclusion, the osteoporotic changes were not identical at two months, but they were noticeable at four months after the operation in the rabbits. The values of this study reflected the bone mineral density, biomechanic and morphometric properties of the femur in ovariectomized and intact female rabbits. It was hoped that this data has supplied a valuable knowledge for the researchers who may use the rabbits as an animal model in diagnosis and treatment methods for the primer osteoporosis.

8. TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında, sonsuz desteğini ve engin hoş görüşünü esirgemeyen Tez Danışmanım Sayın Doç. Dr. M. Erkut KARA'ya, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. M. Kamil ÖCAL 'a, Sayın Prof. Dr. Hasan ERDEN'e ve Sayın Doç. Dr. İlknur DABANOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Hocalarımdan sadece akademik çalışmalar konusunda değil, bir akademisyende bulunması gereken bilgi, görgü, anlayış ve vizyon konusunda da çok şey öğrendim. Bana kazandırdıkları hayata dair bilgiler için de minnettarım. Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarım Dr. Erkut TURAN ve Arş. Görv. İ. Gökçe YILDIRIM ve Yüksek Lisans Öğrencisi Nur ÇAYIR'a tez süresince gösterdikleri yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Doğum ve Reprodüktive Hastalıklar ABD, Biyokimya ABD, Histoloji ABD, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları ABD'daki tüm hocalarıma, araştırma görevlisi ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma tez süresince gösterdikleri anlayış ve tüm yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makina Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Hasan YILDIZ ve araştırma görevlisi Mehmet SARIKANAT'a tüm yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

BESTAŞ Grup Medikal & Eğitim uzmanı İlkay ZENGİN'e, Bilim Görüntüleme Merkezi yetkili, uzman ve çalışanlarına, Sayın Özlem AYDINOĞLU'na yapmış oldukları yardımlardan ve göstermiş oldukları sabır ve anlayıştan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde sabır, anlayış ve desteklerini esirgemeyen aileme ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

9. KAYNAKLAR

AERSSSENS, J., R. V. AUDEKERCKE, P. GEUSENS, L. P. C. SCHOT, A.A.H. OSMAN, 1993. Mechanical properties, bone mineral content, and bone composition (collagen, osteocalcine, IGF-I) of the rat femur: influence of ovariectomy and nandrolone decanoate (anabolic steroid) treatment. *Calcif Tissue Int.* 53: 269-277.

AKDİLLİ, A., 1993. L1-L4 vertebraların kemik dansitelerinin bilgisayarlı tomografi ile kantitatif olarak ölçümü ile osteoporoz değerlendirmesi. Tez . Edirne. 6-47.

ALDINI, N. N., P. CALICETI, S. LORA, M. FINI, G. GIAVARESI, M. ROCCA, P. TORICELLI, R. GIARDINO, F. M. VERONESE, 2001. Calcitonin release system in the treatment of experimental osteoporosis. Histomorphometric evaluation. *J Orthop Res.* 19: 955-961.

ALLEN, M.J., 2003. Biochemical markers of bone metabolism in animal: uses and limitations, *Vet Clin Pathol.* 32 (3): 101-113.

ALPER, S., D. ÖZAKSOY, S. YEŞİL, 1997. Osteoporoz. Dokuz Eylül Üniversitesi. İZMİR. 5-72s.

AMMANN, P. and R. RIZZOLI, 2003. Bone strength and its determinants. *Osteoporos Int.* 14 (3): S13-S18.

AN, Y. H., K. QIAN, R. J. FRIEDMAN, 1996. Mechanical symmetry of rabbit bones studied by bending and indentation testing. *AJVR.* 57 (12): 1786-1789.

AN, Y. H., R. J. FRIEDMAN, 1999. *Animal Models in Ortopaedic Research.* CRC Press. Boca Raton. 139-163s.

ARDA, O., 1993. *Temel Histoloji.* Barış Kitabevi. İstanbul. 170-195s.

ARSLAN, H., A. KETANI, A. GEZICI, A. KAPUKAYA, S. NECMIOĞLU, C. KESEMENLİ, M. SUBAŞI, 2003. The effects of osteoporosis on distraction osteogenesis an experimental study in an overioctomised rabbit model. *Acta Orthop Belg.* 69 (1): 67-73.

ARTAN, E., 1988. Histoloji. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi.İstanbul. 119-128s

ASHMAN, R. B., 1982. Ultrasonic determination of elastic properties of cortical bone: Techniques and limitations. New Orleans, LA: Tulane University. Thesis.

ATİK, Ş., 1998. Osteoporoz. Metaksan A.Ş. Ankara. 1-82s

BAGI, C.M., N. HANSON, C. ANDERSEN, R. PERO, R. LARIVIERE, C.H. TURNER, A. LAIB, 2006. The use of micro-CT to evaluate cortical bone geometry and strength in nude rats: Correlation with mechanical testing, pQCT and DEXA. Bone. 38 (1): 136-144.

BELLINO, F. L., 2000. Nonprimate animal models of menopause: workshop report. Menopause. 7(1): 14-24.

BELLINO, F. L., P. M. WISE, 2003. Nonhuman primate models of menopause workshop. Biol Reprod. 68. 10-18.

BENNELL, K.L., K.M. KHAN, S. WARMINGTON, M.R. FORWOOD, B. D. COLEMAN, M. B. BENNETT, J. D. WARK, 2002. Age does not influence the bone response to treadmill exercise in female rats. Med Sci Sports Exerc.1958-1965.

BERNARDIS, L. L. and I. ZIV, 2000. Weanling ventromedial hypothalamic syndrome: bone geometry and biomechanics. Physiol Behav. 69: 581-585.

BOSTROM, M., J. M. LANE, E. TOMIN, M. BROWNE, W. BERBERIAN, T. TUREK, J. SMITH, J. WOZNEY, T. SCHILDHAUER, 1996. Use of bone morphogenetic protein-2 in the rabbit ulnar nonunion model. Clin Orthop Relat Res. 327: 272-282.

BRODT, M. D., G. B. PELZ, J. TANIGUCHI, M. J. SILVA, 2003. Accuracy of peripheral quantitative computed tomography (pQCT) for assessing area and density of mouse cortical bone. Calcif Tissue Int. 73: 411-418.

CAO, T., T. SHIROTA, M. YAMAZAKI, K.OHNA, K.I. MICHI, 2001. Bone mineral density in mandibles of ovariectomized rabbits. Clin Oral Implants Res. 12: 604-608.

CASTAÑEDA, S., R. LARGO, E. CALCO, F. RODRIGUEZ-SALVANÉS, M. E. MARCOS, M. DIAZ-CURIEL, G. HERRERO-BEAUMONT, 2006. Bone

mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal Radiol.* 35 (1): 34-41.

ÇELIKTAŞ, M., E. KOZANOĞLU, K. S. AIKIMBAEV, S. SOYUPAK, F. BINOKAY, 2002. Osteopenia and osteoporosis in postmenopausal women. *Acta Radiol.* 43: 609-614.

DELEHAY, J. N. , S. W. WIESEL, 2001. Principles of Ortopeadic Medicine and surgery. WB. Saunders Company. Philadelphia. 117-138s.

DOMANIÇ, F., E. ERDİK, N. ZENGİN, 1974. Modern Üniversite Fiziği. Çağlayan Kitapevi. İstanbul. 22-26s, 311-318s.

EDWARDS, M. W., S.D. BAIN, M.C. BAILEY, 1992. 17- β -estradiol stimulation of endosteal bone formation in the ovariectomized mouse: an animal model for the evaluation of bone- targeted estrogens. *Bone.* 13: 29.

EGERMANN, M., J. GOLDAHAHN, E. SCHNEIDER, 2005. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int.* 16: S129-S138.

EHRlich, P.J., and L.E. LANYON, 2002. Mechanical strain and bone cell function: A review. *Osteoporosis Int.* 13: 688-700.

ELÇİ, A., 2004. Postmenopozal kadınlarda serum total osteokalsin ve gamma karboksi glutamat kalıntısı taşımayan osteokalsin oranı ile kemik mineral dansitesi ölçümünün karşılaştırılması. Tez. İstanbul. 1-64

ESCRIBANO, A., M. REVILLA, E.R. HERNÁNDEZ, C. SECO, J. GONZÁLEZ-RIOLA, L. F. VILLA, H. RICO, 1997. Effect of lead on bone development and bone mass: a morphometric, densitometric, and histomorphometric study in growing rats. *Calcif Tissue Int.* 60: 200-203.

EVAN, F. G., and M. LEBOW, 1951. Regional difference in some of the physical properties of the human femur. *J Appl Physiol.* 3: 563-572.

FRANKEL, V. H., and M. NORDIN, 2001. Biomechanics of Bone. In M. NORDIN and V. H. FRANKEL, Basic of the Musculoskeletal System. Lippincott Williams &Wilkins. USA. 26-60s.

FINK, C., H. J. COOPER, J. L. HUEBNER, F. GUILAK, V. B. KRAUS. 2002. Precision and accuracy of a transportable dual-energy x ray absorptiometry unit of bone mineral measurements in guinea pigs. *Calcif Tissue Int.* 70: 164-169.

FINI, M., G. GIAVARESI, P. TORICELLI, V. BORSARI, R. GIARDINO, A. NICOLINI, A. CARPI, 2004. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomedicine Pharmacother.* 58: 487-493.

GAFNI, R. I., E. F. McCARTHY, T. HATCHER, J. L. MEYERS, N. INOUE, C. REDDY, M. WEISE, K.M. BARNES, V. ABAD, J. BARON, 2002. Recovery from osteoporosis through skeletal growth: early bone mass acquisition has little effect on adult bone density. *The FASEB Journal* 10.1096/fje. Published online March 26.

GIARDINO, R., P. TORICELLI, G. GIAVARESI, M. FINI, N. N. ALDINI, G. RUGGERI, M. LIMA, A. CARPI, 2004. Histomorphomeric bone modification induced by growth hormone treatment in a rabbit model of short bowel syndrome. *Biomedicine Pharmacother.* 58: 116-122.

GILSANZ, V., T.F. ROE, D.T. GIBBENS, E.E. SCHULZ, M.E. CARLOS, O. GONZALEZ, M.I. BOECHAT, 1988. Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. *Am J Physiol.* 255: E416-E421.

GREENSPAN, A. 2004. Radiologic evaluation of metabolic and endocrine disorders. *Ortopedic Imaging.* Philadelphia, Williams & Wilkins. 813-835s.

GRIER, S.J, A. S. TURNER, M.R. ALVIS, 1996. The use of dual-energy x ray absorptiometry in animals. *Invest Radiol.* 31(1): 50-62.

HAGIWARA, S. K. ENGELKE, M. TAKADA, S. O. YANG, S. GRAMPP, M. S. DHILLON, H. K. GENANT, 1998. Accuracy and diagnostic sensitivity of radiographic absorptiometry of the second metacarpal. *Calcif Tissue Int.* 62: 95-98.

HANSEN, V. B., A. FORMAN, A. LUNDGAARD, C. AALKJÆR, K. SKAJAÅ, E. S. HANSEN, 2001. Effects of oophorectomy on functional properties of resistance arteries isolated from the cancellous bone of the rabbit femur. *J Orthop Res.* 19: 391-397.

HARKNESS, J. E. and WAGNER, J. E., 1989. *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents.* Lea & Febiger. 85-87s.

HART, R. T, 2001. Bone Modelling and Remodelling In COWIN, S.C., *Bone Mechanics Handbook.* CRC Press Boca Raton.32.

HEYBELİ, N., E. EROĞLU, R. VAROL, E.F. MUMCU, 2001. Testestoronun kırık iyileşmesine etkisinin orşiektomize ratlarda oluşturulan femur kırık modelinde mekanik yöntemlerle incelenmesi. Hacettepe Ortopedi Dergisi. 71-74.

HILLER, E.V., K. E. QUESENBERRY, 1997. Ferrets, Rabbits and Rodents, Clinical Medicine and Surgery. W.B. Saunders Comp. Philadelphia. 147-239s.

HIRANO, T., D.B. BURR, C.H. TURNER, M. SATO, R.L. CAIN, J.M. HOCK, 1999. Anabolic effects of human biosynthetic parathyroid hormone fragment (1-34), LY333334, on remodeling and mechanical properties of cortical bone in rabbits. J Bone Miner Res.14 (1): 536-545.

HIRANO, T., D.B. BURR, R.L. CAIN, J.M. HOCK, 2000. Changes in geometry and cortical porosity in adult, ovary-intact rabbits after 5 months treatment with LY333334 (HPTH 1-34). Calcif Tissue Int. 66:456-460.

HONG, J., J.A. HIPPEL, R.V. MULKERN, D. JARAMILLO, B.D. SNYDER, 2000. Magnetic Resonance Imaging measurements of bone density and cross-section geometry. Calcif Tissue Int. 66: 74-78.

IIDA, H. and S. FUKUDA, 2002. Age – related changes in bone mineral density, cross-sectional area and strength at different skeletal sites in male rats. J Vet Med Sci. 64(1): 29-34 .

INDREKVAM, K., O. S. HUSBY, N. R. GJERDET, L. B. ENGESTER, N. LANGELAND, 1991. Age- dependent mechanical properties of rat femur. Acta Orthop Scand. 62(3): 248-252.

IWAMOTO, J., T. TAKEDA, T. OTANI, Y. YABE, 1998. Age- related changes in cortical bone in women: Metacarpal bone mass measurement study. J Orthop Sci. 3: 90-94.

JEE, W. S. S., 2001. Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In COWIN, S.C., Bone Mechanics Handbook. CRC Press, Boca Raton.1.

KANG, Q., Y.H. AN, R. J. FRIEDMAN, 1997. Effects of multiple freezing and thawing on the indentation strength of bovine cancellous bone. Am J Vet Res. 58: 1171-1173.

KAPLAN, F. S., W. C. HAYES, T. M. KEAVENY, A. BOSKEY, T. A. EINHORN, J. P. IANNOTTI, 1994. Form and Function of Bone. In SIMON, S. R., Orthopaedic Basic Science. J Am Acad Orthop Surg. 127-184s.

KARAHAN, S., S. A. KINCAID, S.D. LAUTEN, J.C. WRIGHT, 2002. In vivo whole body and appendicular bone mineral density in rats: a dual energy x-ray absorptiometry study. Comp Med. 52(2): 143-151.

KAUFFMENN, J. J. and R. S. SHIFFERT, 2001. Noninvasive Measurement of Bone Integrity. In COWIN, S.C., Bone Mechanics Handbook. CRc Press. Boca Raton. 34

KIEL, D.P., M. T. HANNAN, K. E. BROE, D. T. FELSON, L. A. CUPPLES, 2001. Can metacarpal cortical area predict the occurrence of hip fracture in women and men over 3 decades of follow-up? Results from the framingham osteoporosis study. J Bone Miner Res. 16: 2260-2266.

KIMMEL, D.B., 2002. Animal models osteoporosis research In Bilezikian J.P., Raisz L.G., Rodan G.A. Principles of bone biology. Sec.ed. Academic Pres. San Diego.1635-1655s.

KOLBECK, S., H. BAIL, G. SCHMIDMAIER, M. ALQUIZA, K. RAUN, A. KAPPELGARD, A. FLYVBJERG, N. HAAS, M. RASCHKE, 2003. Homologous growth hormone accelerates bone healing –a biomechanic and histological study. Bone. 33: 628-637.

KOLOĞLU, S., 1998. Osteoporoz. Ajans – Türk Gazetecilik ve Matbacılık. Ankara. 1-258s.

KOOT, V.C.M., S.M.M.J. KESSELAER, G. J. CLEVERS, P. HOOGE, T. WEITS, C. V. D. WERKEN, 1996. Evaluation of the Sing Index for measuring osteoporosis. J Bone Joint Surg Br. 78-B(5): 831-834.

KUTSAL, Y. G., 2004. Osteoporozda kemik kalitesi. Güneş Kitabevi. Ankara. 123-136s. 175-192s.

LERNER, A. L. and J. L. KUHN, 1997. Characterization of regional and age-related variations in the growth of the rabbit distal femur. J Orthop Res. 15: 353-361.

LIN, J. T. and J. M. L. LANE, 2004. Osteoporosis. Clin Orthop Relat Res. 425: 126-134.

LINDE, F., H. C. F. SØRENSEN, 1993. The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone. *J Biomech.* 26: 1249-1252.

MARKEL, M., E. SIELMAN, A. J. RAPOFF, S.S. KOHLES, 1994. Mechanical properties of long bones in dogs. *Am J Res.* 55 (8): 1178-1183.

MARTIN, D.E., A.E. SEVERNS, J.A. KABO, 2004. Determination of mechanical stiffness of bone by pQCT measurements: correlation with non destructive mechanical four- point bending test data. *J Biomech.* 37: 1289-1293.

MARTIN, R. B. and N. A. SHARKEY, 2001. Mechanical Effects of Postmortem Changes, Preservation, and Allograft Bone Treatments. In COWIN, S.C., *Bone Mechanics Handbook*. CRC Press. Boca Raton. 20.

MASHIBA, T., D.B. BURR, C. H. TURNER, M. SATO, R. L. CAIN, J.M. HOCK, 2001. Effects of human parathyroid hormone(1-34), LY333334, on bone mass remodeling and mechanical properties of cortical bone during the first remodeling cycle in rabbits. *Bone.* 28 (5): 538-547.

MİLLİ, Ü. ve R. HAZIROĞLU, 2000. Veteriner patoloji . Özkan Matbaacılık. Ankara. 341-430s.

MORAN, E., J.M. LEE, E.R. BOGOCH, 2000. Conservation of the elastic and flexural moduli of osteopenic femoral cortical bone in experimental inflammatory arthritis in the rabbit. *J Mater Sci Mater Med.* 11: 561-568.

MORI, H., M. MANABE, Y. KURACHI, M. NAGUMO, 1997. Osseointegration of dental implants in rabbit bone with low mineral density. *J Oral Maxillofac Surg.* 55: 351-361.

MOSEKILDE, L., 1995. Assessing bone quality – animal models in preclinical osteoporosis research. *Bone* 17(4): 343S-352 .

MOSEKILDE, L., 2005. Blue Histology- Skeletal Tissues- Bone. More About Bone Dynamics. In “School of Anatomy and Human Biology- The University of Western Australia” <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/MoreAbout/bonedynamics.html> 30.09.2005, 11:45.

MOW, V. C., E. L. FLATOW, R. J. FOSTER, 1994. Biomechanics. In SIMON, S. R., *Orthopaedic Basic Science*. *J Am Acad Orthop Surg.* 397-446s.

NAKAMURA, T., K. SUZUKI, T. HIRAI, T. KUROKAWA, H. ORIMO, 1992. Increased bone volume and reduced bone turnover in vitamin D- Replete rabbits by the administration of 24R, 25- Dihydroxyvitamin D₃ . Bone. 13: 229-236.

NAMBA, R.S., J.M. KABO, R.A. MEALS, 1985. Biomechanical effects of point configuration in Kirshner- Wire fixation. Clin Ortop Rel Res. 214: 19-22.

NASH, T. J., C. R. HOWLETT, C. MARTIN, J. STEELE, K. A. JOHNSON, D. J. HICKLIN, 1994. Effect of platelet- derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits. Bone. 15(2): 203-208.

NEWTON, B. I., R. C. COOPER, J. A. GILBERT, R. B. JOHNSON, L. D. ZARDIACKAS, 2004. The ovariectomized sheep as a model for human bone loss. J Comp Path. 130: 323-326.

NICKEL, R., A. SCHUMMER, E. SEIFERLE, 1986. The Locomotor System Of The Domestic Mammals. Verlag Paul Parey, Berlin. 9-18s.

NORRIS, S.A., J.M. PETTIFOR, D.A. GRAY, R. BUFFENSTEIN. 2001. Calcium metabolism and bone mass in female rabbits during skeletal maturation: effects of dietary calcium intake. Bone. 29: 62-69.

OTT, S. M., 2002. Histomorphometric Analysis of Bone Remodeling In Bilezikian J.P., Raisz L.G., Rodan G.A. Principles of Bone Biology. Sec.ed. Academic Pres. San Diego. 303-316s.

ÖBERG, S., C. JOHANSSON, J. B. Ç. ROSENQUIST. 2003. Bone formation after implantation of autolysed antigen extracted allogeneic bone in ovariectomized rabbits. Int J Oral Maxillofac Surg. 32: 628-632.

ÖZDAMAR, K. 2004. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi-1. Kaan Kitabevi, Eskişehir.

ÖZER, A., S. M. SAĞLAM, R. N. AŞTI, 1997. Genel histoloji. Yorum matbacılık. Ankara. 189-208s.

PARK, H. C., R. S. LAKES, 1986. Cosserat micromechanics of human bone: Strain redistribution by a hydration sensitive constituent. J Biomech. 19: 385-397.

PENG, Z., J. TUUKKANEN, H. X. ZHANG, H. K.VÄÄNÄNEN, 1994. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. Bone. 15 (5): 523-532.

PENG, Z. Q., H. K. VÄÄNÄNEN, H. X. ZHANG, J. TUUKKANEN, 1997. Long-term effects of ovariectomy on the mechanical properties and chemical composition of rat bone. *Bone*. 20(3): 207-212.

PETRIKOWSKI, C. G. and T. R. OVERTON, 1996. Quantitative radiographic changes in the mandible, femur and vertebra in lactating rats fed a low-calcium diet. *Dentomaxillofac Radiol*. 25(3): 136-145.

PRESSEL, T., A. BOUGUECHA, U. VOGT., A. M. LINDENBERG, B. A. BEHRENS, I. NOLTE, H. WINDHAGEN, 2005. Mechanical properties of femoral trabecular bone in dogs. *Biomed Eng Online*. 4(17): 1-6

PYSKLYWEC, M. W., E. L. MORAN, E. R. BOGOCH, 2000. Changes in cross-sectional geometry of the distal femoral metaphysis associated with inflammatory arthritis are reduced by a bisphosphonate (zoledronate). *J Orthop Res*. 18: 734-738.

REECE, W. O., 2005. *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. Philadelphia, Williams&Wilkins. 147- 171s.

REDDY, N. P. and M. LAKSHMANA, 2003. Prevention of bone loss in calcium deficient ovariectomized rats by OST-6, herbal preparation. *J Ethnopharmacol*. 84: 259-264.

RODGERS, J. B., M.C.M. FAUGERE, H. MALLUCHE, 1993. Animal models for the study of bone loss after cessation of ovarian function. *Bone*. 14: 369-377.

ROE, S.C., G. J. PIJANOWSKI, A.L. JOHNSON, 1988. Biomechanical properties of canine cortical bone allografts: Effects of preparation and storage. *Am J Vet Res*. 49: 873.

ROSS, M. H., E. J. REITH, L. J. ROMRELL, 1989. *Histology; A Text and Atlas*. Philadelphia, Williams&Wilkins. 141-180s

RUDICEL, S., K. E. LEE, R.R. PELKER, 1985. Dimensions of the rabbit femur during growth. *Am J Vet Res*. 46(1): 268-269.

RUFF, B. C., and W. C. HAYES, 1982. Cross-sectional geometry of pecos pueblo femora and tibiae- a biomechanical investigation: I Method and general patterns of variation, *Am J Phys Anthropol*. 60: 359-381.

SAKATA, S., R. BARKMANN, E. M. LOCHMULLER, M. HELLER, C. C. GLUER, 2004. Assessing bone status beyond BMD: evaluation of bone geometry and porosity by quantitative ultrasound of human finger phalanges. *J Bone Miner Res.* 19(6): 924-930

SEDLIN, E. D., 1965. A rheological model for cortical bone. *Acta Orthop Scand Suppl.* 83: 1-77.

SEEMAN, E., 2003. Reduced bone formation and increased bone resorption: rational targets for the treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 14 : S2-S8.

SHEN, V., D.W. DEMPSTER, R. BIRCHMAN, R.W.E. MELLISH, E. CHURCH, D. KOHN, R. LINDSAY, 1992. Lack of changes in histomorphometric, bone mass, and biochemical parameters in ovariectomized dogs. *Bone.* 13: 311-316.

SHIELDS, A. T., C. H. CHESNUT, 2001. Diagnosis of postmenopausal osteoporosis: Reviews in endocrine and metabolic disorders. *Rev Endocr Metab Disord.* 2: 23-33.

SPARROW, D., A. J. GARVEY, B. ROSNER, J. E. SILBERT, 1982. The influence of cigarette smoking and age on bone loss in men. *Arch Environ Health.* 37(4): 246-249.

SØGAARD, C. H., L. MOSEKILDE, W. SCHWARTZ, G. LEIDIG, H. W. MINNE, R. ZIEGLER, 1995. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. *Bone.* 16 (1): 163-169.

SYVERSEN, U., L. NORDSLETTEN, J. A. FALCH, J. E. MADSEN, O.G. NILSEN, H. L. WALDUM, 1999. Effect of lifelong nicotine inhalation on bone mass and mechanical properties in female rat femurs. *Calcif Tissue Int.* 65: 246-249.

TRESGUERRES, I. F., C. CLEMENTE, M. DONADO, L. G. PELLICO, L. BLANCO, M. A. ALOBERA, J. A. F. TRESGUERRES, 2002. Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. *Clin Oral Impl Res.* 13: 631-636.

TROUERBACH, W. T., C. M. VECHT-HART, H. J. A. COLLETTE, G. D. SLOOTER, A. W. ZWAMBORN, P. I. M. SCHMITZ, 1993. Cross- Sectional and

longitudinal study of age- related phalangeal bone loss in adult females. *J Bone Miner Res.* 8: 685-691.

TURAN, B., S. BAYARİ, C. BALCIK, F. SEVERCAN, N. AKKAS, 2000, A biomechanical and spectoroscopic study of bone from rats with selenium deficiency and toxicity. *Biometals.* 13: 113-121.

TURNER, A.S., 2001. Animal models of osteoporosis–necessity and limitation. *Eur Cell Mater.* 1: 66-81.

TURNER, C.H., 2002. Biomechanic of bone: Determinants of skeletal fragility and bone quality. *Osteoporosis Int.* 13: 97-104

TURNER, C.H. and D.B. BURR, 1993. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone.* 14: 595-608.

TURNER, C.H. and D.B. BURR, 2001. Experimental Techniques for Bone Mechanics In COWIN, S. C., *Bone Mechanics Handbook.* CRc Press. Boca Raton. 7.

TURNER, C. H., L. P. GARETTO, A. J. DUNIPACE, W. ZHANG, M.E. WILSON, M. D.GRYPAS, D. CHACHRA, R. McCLINTOCK, M. PEACOCK, G. K. STOKEY, 1997. Fluoride treatment increased serum IGF-1, bone turnover, and bone mass, but not bone strength, in rabbits. *Calcif Tissue Int.* 61: 77-83.

TURNER, R.T., A. MARAN, S. LOTİNUN, T. HEFFERAN, G.L. EVANS, M. ZHANG, J.D. SIBONGA, 2001. Animal models for osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord.*2: 117-127.

TÜZÜN, Ş., 1999. Osteoporozda Tanı Yöntemleri. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi -Osteoporoz sempozyumu. İstanbul. 41- 50.

UENG, S. W. N., S. S. LEE, S. S. LIN, C. R. WANG, S. J. LIU, H. F. YANG, C. L. TAI, C. H. SHIH, 1998. Bone healing of tibial lengthening is enhanced by hyperbaric oxygen therapy: A study of bone mineral dansity and torsional strength on rabbits. *J Trauma.* 44 (4): 676-681.

WANG, X. and Q. NI, 2003. Determination of cortical bone porosity and pore size distribution using a low field pulsed NMR approach. *J Orthop Res.* 21: 312-319.

WARIS, E., N. ASHAMMAKHI, T. RAATIKAINEN, S. SANTAVIRTA, 2002, Self – reinforced biabsorbable versus metallic fixation systems for metacarpal and phalangeal fractures: A biomechanical study. *J Hand Surg.* 27A: 902-909.

WINGERD, B. D., 1985. *Rabbit Dissection Manual*. The John Hopkins University Press. London. 7-11s.

WISHART, J. M., M. HOROWITZ, M. BOCHNER, A. G. NEED, B. E. C. NORDIN, 1993. Relationships between metacarpal morphometry, forearm and vertebral bone density and fractures in postmenopausal women. *Br J Radiol.* 66: 435-440.

World Health Organization (WHO). 2003. *Prevention and Management of Osteoporosis*. Report of WHO Scientific Group. World Health Organization Technical Reports Series. 921. 1-3s, 53-81s.

YANG, X., G. CAI, L. WEI, J. HOU, H. ZHENG, L. WENG, 1997. Primary study on the use of ovariectomized rabbits for establishment of osteoporosis model. *Sheng Wu Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 14(4): 353-358.

ZHANG, H., A. KITAZAWA, K. KUSHIDA, A. NAGANO, 2000. Age and menopause- related changes in phalangeal bone density of Japanese women, measured by a digital image processing method. *J Orthop Sci.* 5: 431-435.

ZOHMAN, G.L., M. TSENTER, J. M. KABO, R.A. MEALS, 1992. Biomechanical comparisons of unidirectional and bidirectional Kirshner- Wire insertion. *Clin Ortop Relat Res.* 284: 299-302.

10.ÖZGEÇMİŞ

1977 Yılında Almanya'nın Köln şehrinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir'de tamamladı. 1996 yılında Celal Bayar Üniversitesi Turgutlu Meslek Yüksekokulu İnşaat Programında ön lisans eğitimini tamamladıktan sonra 1996 - 1998 yılları arasında mimari büro ve şantiyelerde inşaat teknikeri olarak görev aldı. 1998 yılında Adnan Menderes Üniversite Veteriner Fakültesi'nde eğitime başladı 2004 yılında mezun oldu. Aynı yıl içerisinde Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Veteriner Anatomi Dalında Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim'de araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.