

OVAREKTOMİZE SIÇANLARDA KAN VE TİBİA KEMİK DOKULARINDA AKUT DÖNEMDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNDEM DEĞERLENDİRİLMESİ

BIOCHEMICAL, HISTOPATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF ALTERATIONS IN BLOOD AND TIBIAL BONE TISSUES OF OVARECTOMIZED RATS IN THE ACUTE PHASE

Murat BALOĞLU¹, Ebru GÖKALP ÖZKORKMAZ²

¹Dr. Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği
²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

ÖZ

AMAÇ: Menopoz sonrası meydana gelen osteoporoz, kemik kütlelerinde azalma ve kemik dokunun yapısında bozulma ile sonuçlanır. Ovariyektomi sonrası, osteoporoz bulgularına rastlanmakta ve kemik yıkımı kemik oluşumundan fazla olduğundan kemik kaybına neden olmaktadır. ADAMs transmembran proteinleri ekstrasellüler matriksin yeniden yapılandırılmasında ve embriyonik gelişim, hücre göçü, adezyon, anjiyogenez olmak üzere birçok fizyolojik süreçte rol alırlar. Çalışmamızın amacı, ovariyektomi oluşturulan siçanlarda kan ve kemik dokusunda akut dönemde meydana gelen değişiklikleri biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Sağlıklı ve dişi 20 adet erişkin Wistar albino siçan kontrol (n:10) ve bilateral ovariyektomi uygulanan grup (n:10) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Anestezi altında yumurtalık rahim boynunu kısmından 2 cm'lik kesi yapılarak, iki dorsolateral insizyon ile uterus apeksinden çift taraflı yumurtalıklar ipek iplikle çıkarıldı. Ovariyektomi den 1 hafta sonra, deney hayvanları feda edildi. Serum östrojen, kalsiyum ve alkalın fosfat değerlerini ölçmek için her hayvandan kan örnekleri alındı, tibia kemikleri çıkarılarak formalin çözeltisine alınarak tespit edildikten sonra, dekalsifiye etme işlemine tabi tutuldu ve rutin histolojik işlemlerin ardından parafin blokları hazırlandı, yarı-ince kesitleri alınarak histopatolojik incelemeler için Hematoksilin Eozin boyası ile boyandı. İmmünohistokimyasal analiz için, antijen retrieval işlemini uygulamak üzere sitrat tamponuna alındıktan sonra hidrojen peroksit ile muamele edildi. Kesitlere anti-ADAMTS-1 primer antikoru uygulandı, ışık mikroskopunda değerlendirildi.

BULGULAR: Kontrol grubunda radyal tarzda dağılmış Havers kanalları ve Volkman kanalları izlenirken, kollajen lifler birbirine paralel ve düzenliydi. Ovariyektomi grubunda ise kemik matriksinde dejeneratif değişiklikler, lamelli kemik yapısında bozulma izlendi. ADAMTS-1 ekspresyonu açısından, kontrol grubu osteoblast ve osteosit hücrelerinde ve kemik matriksindeki ince kollajen liflerde ekspresyon pozitifti. Ovariyektomi grubunda, dejeneratif alanda yer alan osteoklast hücrelerinde ADAMTS-1 ekspresyonunda artış, osteon yapılarında, endotel hücrelerinde ADAMTS-1 pozitif ekspresyonu izlendi. Kanda östrojen değerleri açısından, ovariyektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Kalsiyum değerlerinde ise kontrol ve ovariyektomi gruplarının değerleri birbirine yakındı. Alkalın fosfat değerlerinin ovariyektomi grubunda yükseldiği görüldü (p=0,01).

SONUÇ: Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz veriler ışığında, osteoporoz tedavisine ADAMTS-1 proteinlerinin dahil edilmesinin yeni tedavi yöntemlerini destekleyebileceği düşüncesindeyiz.

ANAHTAR KELİMELE: Osteoporoz; Ovariyektomi; Tibia; ADAMTS-1; Östrojen

ABSTRACT

OBJECTIVE: Postmenopausal osteoporosis results in decreased bone mass and deterioration of bone tissue. symptoms of osteoporosis are observed after ovariectomy and due to the fact that bone resorption is more than bone formation, it causes bone loss. ADAMs transmembrane proteins are involved in many physiological processes, including reconstruction of the extracellular matrix and embryonic development, cell migration, adhesion, and angiogenesis. The aim of our study was to investigate the biochemical, histopathological and immunohistochemical alterations in blood values and tibia bone tissue of ovariectomized rats in the acute phase.

MATERIAL AND METHODS: Twenty healthy and female adult Wistar albino rats were divided into two groups as control (n:10) and bilateral ovariectomy (n: 10). A 2-cm incision was performed from the ovarian cervix under anesthesia, and two dorsolateral incisions were made from the uterine apex and the bilateral ovaries were removed with a silk thread. One week after ovariectomy, experimental animals were sacrificed. Blood samples were taken from each animal to determine serum estrogen, calcium and alkaline phosphate values. Tibia bones were removed and placed into formalin solution for fixation, then they were decalcified and paraffin blocks were prepared after routine histological procedures. Semi-thin sections were cut and stained with Hematoxylin-Eosin for histopathological examination. For immunohistochemical analysis, the antigen retrieval process was performed with hydrogen peroxide after administration to citrate buffer. Anti-ADAMTS-1 primary antibody was applied to the sections and evaluated under a light microscope.

RESULTS: In the control group, while the Haversian and Volkman canals were distributed in raider style, collagen fibers were in parallel and regular. In the ovariectomy group, degenerative changes in the bone matrix, deterioration of lamellar bone structure were observed. ADAMTS-1 expression was positive in the control group osteoblast and osteocyte cells and fine collagen fibers in the bone matrix. In the ovariectomy group, increased ADAMTS-1 expression in osteoclast cells in the degenerative area, ADAMTS-1 positive expression in endothelial cells was observed in osteon structures. There was a significant decrease in ovarian estrogen values in the ovariectomy group compared to the control group. Calcium values of the control and ovariectomy groups were close to each other. Alkaline phosphatase levels were increased in the ovariectomy group (P = 0.01).

CONCLUSIONS: In the light of data we obtained from our study, we suggest that the inclusion of ADAMTS-1 protein may support the new treatment methods in the treatment of osteoporosis.

KEYWORDS: Osteoporosis; Ovariectomy; Tibia; ADAMTS-1; Estrogen

Geliş Tarihi / Received: 22.05.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 16.01.2020

Yazışma Adresi / Correspondence: Dr.Öğr.Üyesi Ebru GÖKALP ÖZKORKMAZ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı

E-mail: ebrug76@gmail.com

Orcid No (Sırasıyla): 0000-0002-3478-1461, 0000-0002-1967-4844

GİRİŞ

Menopoz sonrası kadınlar, aynı yaşlardaki erkeklerden daha yüksek oranda osteoartrit ve osteoporoz oranına sahiptir (1, 2). Osteoporoz, kemik kütlesinin azalması ve kemik dokunun yapısında bozulma ile karakterize, çok yönlü bir iskelet hastalığıdır, mekanik güç kaybı ve kırık riskinde artma ile sonuçlanır. Ovariectomi (yumurtalıkların alınması) sonrası, osteoporoz benzeri bulgulara rastlanmakta ve kemik emilimi kemik oluşumundan fazla olduğundan kemik kaybına neden olmaktadır. Deneysel oluşturulan overiectomi modelleri ile bu durum ispatlanmıştır.

Kemik yıkımı osteoklast hücreleri tarafından yapılmakla birlikte, osteoblast hücreleri de burada rol oynar. Osteoblast kollajenazları ile kollajen parçalanır. Osteoklastlar, parçalanmış bölgeye hareket eder. Osteoblastlardan aktivatör maddeler ortama verilir. Bununla beraber osteoklastlar bu maddeler tarafından aktive edilir (3).

Bu aşamadan sonra kemik tamiri absorpsiyon ve formasyonun dengeli olduğu sabit bir duruma ulaşır (4). Östrojen eksikliğinin düzeyine bağlı olarak, menopoz sonrası kemiklerin matriks kısmında osteoblastik aktivitede azalmanın yanı sıra kemiklerde kalsiyum ve fosfat birikiminde düşüş izlenebilir.

ADAMs, (a disintegrin and metalloproteinases), yaklaşık 40 tip-I transmembran proteinden oluşan geniş bir topluluktur ve ekstrasellüler matriksin yeniden yapılandırılmasında ve embriyonik gelişim, hücre göçü, adezyon, anjiyogenez olmak üzere birçok fizyolojik süreçte kritik bir rol oynamaktadır (5,6). ADAMs ailesinden ADAMTS-1, osteoartrit ve kırıkta yıkımında proteolitik aktivite göstermek suretiyle görev yapan bir proteindir (7). ADAMTS-1, doku onarımı, yara iyileşmesi ve anjiyogenezde zara bağlı büyüme faktörlerinin ve hücre dışı proteinlerin yapısına katılır. Miles ve ark. (2000) sıçanlara tek seferlik paratiroid hormonu (PTH) enjeksiyonu yaptığı çalışmada, osteoblastlarda ADAMTS-1 aktivesi olduğu ancak, osteoklastlarda olmadığı belirtilmiştir (8).

Çalışmamızın amacı ovariektomi oluşturulan sıçanlarda akut dönemde kan ve kemik dokusunda meydana gelen değişiklikleri biyokimyasal,

histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel Dizaynı ve Cerrahi İşlemler

Çalışmada ağırlıkları 180-220 arasında değişen 20 adet erişkin sağlıklı dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Kontrol grubu (n=10) ve bilateral ovariektomi uygulanan grup (n=10) olmak üzere 2 eşit gruba ayrıldı. 12/12 saat aydınlık/karanlık periyodunda ve %65 lik nem ortamında tutulan deneklerin deney süresince su ve pelet yem gereksinimleri ad libitum olarak karşılandı. Anestezisi için, her deneğe intramüsküler ketamin hidroklorür (50 mg / kg ketamin hidroklorür, Bayer) ve ksilazin hidroklorür (10 mg / kg Rompun, Bayer) uygulandı.

Ovariektomi, Park ve ark.'nın (2010) yöntemine göre iki dorsolateral insizyon ile yapıldı (10).

Bunun için öncelikle dişi sıçanların operasyon bölgesindeki tüyleri temizlenerek batikonla sterilize edildikten sonra yumurtalık rahim boynu kısmından 2 cm'lik kesi yapıldı, uterus apeksinden iki taraflı yumurtalıklar ipek iplikle çıkarıldı. Uterus karın boşluğunda bırakıldı ve karın bölgesi steril bir suture ile kapatıldı. Ovariektomiden 1 hafta sonra tibia kemikleri total alınarak incelendi.

Biyokimyasal Analiz

Deney sonunda aşırı doz ketamin enjeksiyonu ile deney hayvanları feda edildi. Daha sonra östrojen, kalsiyum ve alkalın fosfat değerlerini ölçmek için her hayvandan kan örnekleri alındı ve tibia kemikleri çıkarıldı. Serum kalsiyum, östrojen ve serum alkalın fosfat düzeyleri ticari kitlerle standart kolorimetrik yöntemler kullanılarak (Sigma) ölçüldü.

Histopatolojik İnceleme

Çıkarılan tibia kemikleri nötr tamponlu %10'luk formalin çözeltisi ile tespit edildi ve daha sonra % 5'lik etilen-diamin tetra asetik asit ile dekalsifiye etme işlemine tabii tutuldu. Ardından, yıkama, dehidratasyon ve şeffaflaştırma işlemleri ile en son 58 °C de parafin blokları yapıldı.

Parafin bloklardan mikrotom ile 4-6 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen Eozin ve

Masson Trikrom boyamaları yapıldı, ışık mikroskopunda (Zeiss Imager A2, Almanya) fotoğrafları çekildi.

İmmünohistokimyasal Analiz

Preparatlar antijenleri geri alma işlemi için sitrat tamponunda (pH 6.0) mikrodalga fırında 2x5 dk bekletildi. Oda sıcaklığında 10 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler fosfat buffer solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 7 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS (pH 7.6) ile yıkandı. Kesitlere anti-ADAMTS-1 (Abcam, 1:100) primer antikor uygulandı ve preparatlar bir gece, buzdolabında (+4°C) kapaklı ve etrafı silikonlu hava geçirmeyen özel saklama kutusunda bekletildi. Ertesi gün, kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision,) tutuldu. 3 kez PBS' de yıkanan kesitlere 3x5 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision) uygulandı. PBS ile yıkama sonrasında kesitlere 3-amino 9 etil karbazol (AEC) kromojen solüsyonu 3x7 dk uygulandı.

Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopunda (Zeiss Imager A2, Almanya) Değerlendirme, boyamanın yoğunluğuna göre semi-kantitatif derecelendirme sistemi ile (0 dan 3'e kadar değişen) (0: boyama yok, 1: az, 2:orta yoğunlukta, 3: yoğun boyama) yapıldı (11).

ETİK KURUL

Çalışma öncesi Dicle Üniversitesi Etik Kurulundan onay alındı (no:2018/20) ve deney hayvanları üzerinde yapılan tüm işlemler 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals'(2011) kitabında belirtilen standartlar doğrultusunda gerçekleştirildi (9).

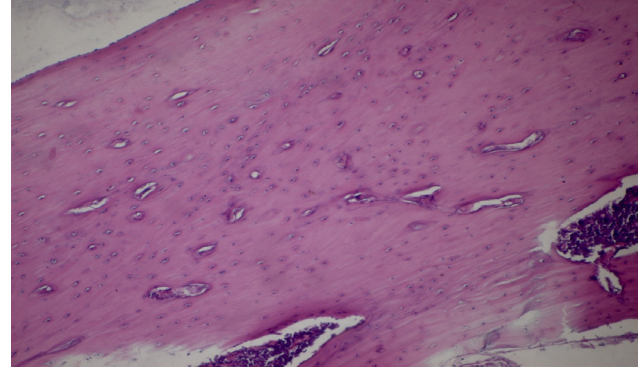
İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Gruplar arası karşılaştırma için Kolmogorov-Smirnov testi ve Shapiro-Wilk testi uygulandı. Gruplar arası normal dağılım varsayımı sağlanmadığı için non-parametrik test Mann-Whitney testi uygulandı. p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

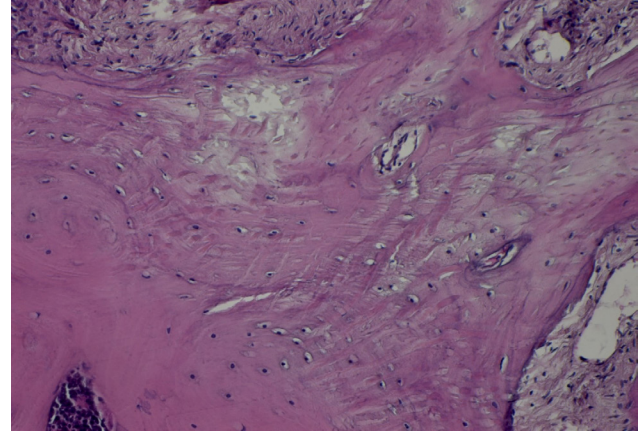
BULGULAR

Histopatoloji Bulguları

Tibia kemiğininin histolojik incelemesinde kemik lamellerinin düzenli dağıldığı osteon yapılarının etrafında osteositlerin ışınal tarzda dağıldığı gözlemlendi. Havers kanallarının paralel yerleşim gösterdiği, matriksin yoğun konsantrik olarak dağıldığı, kollagen liflerin radial şekilde olduğu görüldü (**Şekil 1a, b**).



Şekil 1a : Kontrol grubu, radier tarzda dağılmış havers ve volkman kanalları(siyah ok), kollajen lifler birbirine paralel ve düzenli (sarı ok), H-E boyama, X40

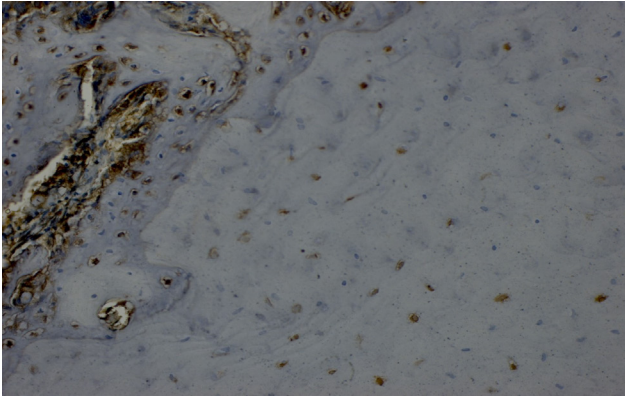


Şekil 1b : Kontrol grubu, havers kanalı ve konsantrik lameller(Siyah ok), kollajen fibriller(sarı ok). Masson Trikrom boyama, X100.

Ovariectomi uygulanan grubun tibia kemik kesitlerinde kompakt kemiğin periferinde haversian sistemin ve interstitial lamellerin olmadığı kısımlarda düzensiz kemikleşme izlendi. Ayrıca, inflamatuvar hücre infiltrasyonunda ve osteoklastik hücrelerde artış görüldü (**Şekil 2a**).

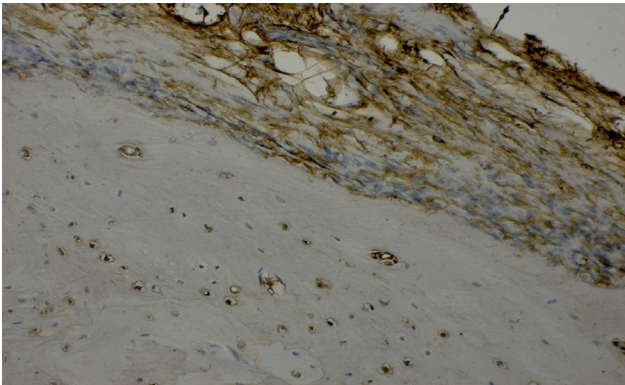
İmmünohistokimya Bulguları

Kontrol grubu kesitlerindeki ADAMTS-1 ekspresyonları incelendiğinde, osteoblast ve osteosit hücrelerinde ve kemik matriksindeki ince kollajen liflerde ADAMTS-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi (**Şekil 2a**).



Şekil 2a : Ovariektomi grubu, haversian sistemin ve interstitial lamellerin olmadığı kısımlarda (siyah ok) düzensiz kemikleşme. H-E boyama, X40

Bilateral ovariektomi uygulanan grupta ise dejeneratif alanda yer alan osteoklast hücrelerinde artış ile birlikte ADAMTS-1 ekspresyonu artış gösterdi. Osteon yapılarında bozulan adezyona bağlı ve kan damarlarındaki anjiogenetik yapı ile ilişkili damar endotelinde ayrıca bağ dokusunda gelişen inflamasyona bağlı ADAMTS-1 ekspresyonunda artış görüldü (**Şekil 2b**).



Şekil 2b : Ovariektomi grubu, osteoklast hücrelerinde (siyah ok) artış. Masson Trikróm boyama, X100.

İmmünohistokimya Bulgularının İstatistik Analizi

İmmünohistokimya verilerine ait dağılımın normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile kontrol edildi (**Tablo 1**). Ayrıca, Mann-Whitney testi ile osteoklast sayısı, inflamasyon ve ADAMTS-1 ekspresyonu değişkenleri için istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p = 0.01$) (**Tablo 2**).

Tablo 1: Kontrol ve ovariektomi uygulanan gruplara ait biyokimya verileri

Grup	Östrojen düzeyleri ^a mg/ml	Kalsiyum ^b mg/dl	Alkalen fosfataz ^c mg/dl
Kontrol	5.83±0.42	9.12±0.21	26.33±1.09
Ovariektomi	1.32±0.23	8.88±0.12	30.15±1.28

Tablo 2: Osteoklast, inflamasyon ve ADAMTS-1 ekspresyon parametreleri açısından gruplararası karşılaştırma

	Grup	Mean±S.d. deviations	Mann-Whitney testi p value
Osteoklast	Kontrol	0.4±0.598	0.000
	Ovariektomi	2.6±0.502	
inflamasyon	Kontrol	0.5±0.606	0.000
	Ovariektomi	2.6±0.502	
ADAMTS1	Kontrol	1.4±0.754	0.000
	Ovariektomi	2.7±0.470	

Anlamlılık düzeyleri, $p = 0.01$

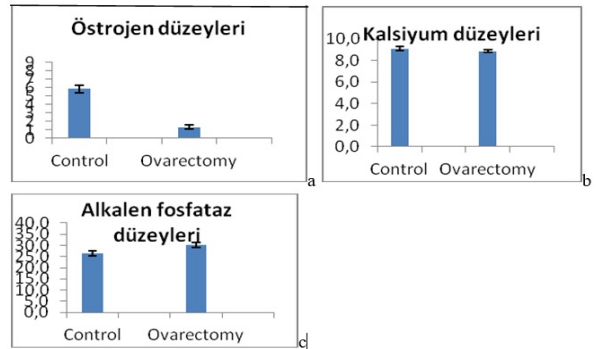
Biyokimya Bulguları

Kanda östrojen değerleri açısından, ovariektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Kalsiyum değerlerinde ise kontrol ve ovariektomi gruplarında birbirine yakın değerler olduğu görüldü. Alkalen fosfataz değerlerinin ovariektomi grubunda yükseldiği görülmüştür ($p=0,01$) (**Tablo 3 ve Şekil 3**).

Tablo 3: Kontrol ve ovariektomi uygulanan gruplara ait biyokimya verileri

Grup	Östrojen düzeyleri ^a mg/ml	Kalsiyum ^b mg/dl	Alkalen fosfataz ^c mg/dl
Kontrol	5.83±0.42	9.12±0.21	26.33±1.09
Ovariektomi	1.32±0.23 ^a	8.88±0.12	30.15±1.28 ^b

^a $p < 0,05$, ^b $p = 0,01$



Şekil 3: Tablo 1'de verilen biyokimya analizlerine ait bar grafikleri

TARTIŞMA

Osteoporoz, iskeleti oluşturan kemiklerin mineral kitlesinin ve mekanik esnekliğinin önemli bir bölümünü kaybettiği ve kırılmaya yatkın hale geldiği, özellikle kadınları postmenopoz döneminde etkileyen kronik bir durumdur.

Menopozda östrojen seviyesindeki azalma osteoporozun patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır.

Osteoporozda kemik dokunun, osteoklastların reabsorpsiyon işlevinin osteoblastların kemik yapım işlevinden daha fazla olması sebebiyle küçüldüğü belirtilmiştir (12). Sheng ve ark.

(2001) ovariektomi yapılan grupta serum kalsiyum düzeylerindeki anlamlı azalmanın kemik kaybının başladığının bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir (13). Çalışmamızda ovariektomi grubunda kalsiyum seviyesinde hafif azalmanın olduğu, östrojen seviyesindeki azalmanın daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 3 ve Şekil 3).

Osteoporozun en önemli nedeninin vücuttaki östrojen seviyesinin azalması olarak düşünüldüğünde, ovariektomi deneysel osteoporoz modeli için en uygun metottur. Ömeroğlu ve ark. (2003) sıçanlarda ovariektomi sonrası kemik kaybı üzerine yaptıkları çalışmada 2 haftadan sonra kemik hasarı başladığını, yoğun etkisinin ise 100 gün içinde oluştuğunu göstermişlerdir (14). Çalışmamızda ovariektomi den 1 haftalık süre sonra östrojen seviyesinde azalma olduğu ve tibia kemiği histolojik anlamda değerlendirildiğinde dejeneratif değişiklikler ortaya çıktığı, osteoklast hücrelerinin yoğunlaştığı ve kollajen lif yapısının ayrıca osteon yapılarının etkilendiği görülmüştür (Şekil 2a ve b). Dolayısıyla, ovariektominin akut dönemde dahi östrojen seviyesi üzerinde ek olarak da hücresel düzeyde etkili olduğunu söyleyebiliriz. Çalışmamız bir ön çalışma niteliğinde olup daha uzun süreli çalışmalar yapılması planlanmaktadır. Ovariektominin sıçan femur kemiğinin mekanik özellikleri üzerine farklı etkilerinin incelendiği çalışmada ovariektomi sonrası dört ay içerisinde kortikal kemikte mekanik olarak önemli derecede kemik kaybına dair kanıtın az olduğu bildirilse de yaptığımız bu çalışmada hücresel seviyede farklılıkların olduğunu gözlemledik (15).

Çelik ve ark. (2007) erişkin dişi sıçanlarda bilateral ovariektomi den 30 gün sonra ortaya çıkan östrojen eksikliğinin kemik kütlesi kaybıyla ilişkili kemik metabolizmasında değişikliklere neden olduğunu bildirmiştir (16). Wronski ve ark. (1989), ovariektomi işleminin, ovariektomize edilmiş sıçanlarda proksimal tibial metafizeal trabeküler kemik histomorfometrisi üzerindeki uzun vadeli etkilerini araştırmıştır (17). Menopoz ve ovariektomi sonrasında ortaya çıkan kemik kayıplarının uygun egzersizler yapılarak engellenebileceği belirtilmiştir (18).

Aşırı yatak istirahati, yük vermeme, paraliz ve immobilizasyon gibi nedenler ile mekanik yüklerin ortadan kaldırılmasının kemik kayıpları ile

sonuçlandığı bildirilmiştir (19). Lijuan ve ark. (2012) yaptığı çalışmaya göre, düşük östrojen seviyesi osteoklastik aktiviteyi arttıran sitokin düzeylerini uyarmaktadır. Disintegrin ve trombospondin motifleri ile çok işlevli bir metaloproteinaz olan ADAMTS-1 proteini geninin, osteoblastlarda paratiroid hormonuna (PTH) erken yanıt veren bir gen olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada ADAMTS-1 metaloproteinaz aktivitesinin osteoblastik büyümeyi arttırdığı gösterilmiştir (20). Rehn ve ark. (2007), ADAMTS-1'in, in vitro olarak kemikte kollajen tip I yıkım sürecine dahil olduğunu ve doğrudan veya dolaylı olarak kollajen yıkımını teşvik etmek suretiyle osteoblastik üç boyutlu büyüme üzerinde olumlu etkisi olduğunu bulmuşlardır (21).

ADAMTS enzimleri osteoklastlarda, osteoblastlarda ve kondrositlerde hücre dışı matriksin bozulmasında ve onarılmasında kritik bir rol oynar ve artrit, kanser gibi birçok hastalığın patogenezinin anlaşılmasında önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. ADAMTS enzimlerinin kemik rezorpsiyonu gibi durumlarda rol oynadığı belirtilmiştir. Çalışmamızda bilateral ovariektomi uygulanan grupta, osteoporotik alanda osteoklast hücrelerinde artış ile birlikte ADAMTS-1 ekspresyonu pozitif reaksiyon gösterdi. Ayrıca osteon yapılarında bozulan adezyona bağlı ve kan damarlarındaki anjiogenik yapı ile ilişkili damar endotelinde ve bağ dokusunda gelişen inflamasyona bağlı olarak, ADAMTS-1 ekspresyonunda artış görülmüştür. ADAMTS-1'in kemik yıkımında önemli olan osteoklast hücrelerinde ve lamelli kemikteki adezyon bölgelerindeki değişikliğin belirlenmesinde kritik öneme sahip olduğu, kan damarlarının endotel hücrelerinde anjiogenik faktör olarak belirteç görevini üstlenebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz veriler ışığında, osteoporoz tedavisinin ADAMTS-1 molekülleri kullanılarak uygulanacak yeni tedavi yöntemleri ile desteklenebileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Nevitt MC, Felson DT. Sex hormones and the risk of osteoarthritis in women: epidemiological evidence. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 673-6.
2. Felson DT, Nevitt MC. The effect of estrogen on osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10: 269-72.

3. Öztürk Ö, Güçtekin A, Giniş Z, Erdoğan S. Hipertiroidi ve subklinik hipertiroidide kemik ve mineral metabolizmasının idrar piridinyum çapraz bağlarıyla değerlendirilmesi. *Genel Tıp Dergisi* 2007;17(2):71-6.
4. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med* 2008;58(5):424-30.
5. Porter S, Clark IM, Kevorkian L, Edwards DR. The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J* 2005; 386, 15–27.
6. Tortorella MD, Malfait F, Barve RA, Shieh HS, Malfait AM. A review of the ADAMTS family, pharmaceutical targets of the future. *Curr Pharm Des* 2009; 15(20): 2359-74.
7. Demircan K, Comertoglu I, Akyol S, Yigitoglu BN, Sarikaya E. A new biological marker candidate in female reproductive system diseases: Matrix metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS). *J Turk Ger Gynecol Assoc* 2014; 15(4): 250-5.
8. Miles RR, Sluka JP, Halladay DL, Santerre RF, Hale LV, Bloem L, Thirunavukkarasu K, Galvin RJ, Hock JM, Onyia JE. ADAMTS-1: a cellular disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs is a target for parathyroid hormone in bone. *Endocrinol* 2000; 141:4533–42.
9. National Research Council, Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 2011; 8. Basım, www.nap.edu/catalog/5140.html.
10. Park SB, Lee yj, Chung CK. Bone Mineral Density Changes after Ovariectomy in Rats as an Osteopenic Model: Stepwise Description of Double Dorso-Lateral Approach. *J Korean Neurosurg Soc* 2010; 48: 309-312.
11. Fedchenko N, Reifenrath J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue – a review. *Diag Pathol* 2014; 9:221.
12. Kutsal GY, Özdemir O, Çalışkan A, İnanıcı F, Karahan S, Doğan A ve ark. Fiziatristlerin Antiosteoporotik ilaç tercihleri: Çok Merkezli Tanımlayıcı Araştırma. *Türk Osteoporoz Dergisi* 2012;18: 42-6.
13. Sheng MH, Taper LJ, Veit H, Thomas EA, Ritchey SJ, Lau KH. Dietary boron supplementation enhances the effects of estrogen on bone mineral balance in ovariectomized rats. *Biol Trace Elem Res* 2001; 81(1):29-45.
14. Ömeroğlu S, Erdoğan D, Take G, Ilgaz C, Görgün M, Lortlar N. Ovariectomi Yapılmış Sıçanlarda aralıklı yüksek doz östrojen tedavisinin kemik yapısı üzerine etkisi. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2003; 37(5):400-5.
15. Chachra D, Lee JM, Kasra M, Grynpas MD. Differential effects of ovariectomy on the mechanical properties of cortical and cancellous bone in rat femora and vertebrae. *Biomed Sci Instrum* 2000, 36:123-8.
16. Celik O, Hascalik S, Tamser M, Turkoz Y, Kekilli E, Yagmur C, Boz M. Enfluence of resveratrol against ovariectomy induced bone loss in rats: comparison with conjugated equine estrogen tibolone and raloxifene. *Gynecol Obstet Reprod Med* 2007;13:292-9.
17. Wronski TJ, Dann LM, Scott KS, Cintron M Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. *Calcif Tissue Int* 1989; 45: 360–66.
18. Tolomio S, Ermolao A, Lalli A, Zaccaria M. The effect of a multicomponent dual-modality exercise program targeting osteoporosis on bone health status and physical function capacity of postmenopausal women. *J Women Aging* 2010; 22:241-54.
19. Rittweger J, Beller G, Armbrrecht G, Mulder E, Buehring B, Gast U, et al. Prevention of bone loss during 56 days of strict bed rest by side-alternating resistive vibration exercise. *Bone* 2010; 46: 137-47.
20. Lijuan H, Kenneth BJ, Andersén H, Edenro A, Bohlooly-YM, Melhus H et al. Over-expression of Adamts1 in mice alters bone mineral density. *J Bone Min Metabol* 2012; 30(3): 304–31.
21. Rehn AP, Birch MA, Karlström E, et al. ADAMTS-1 increases the three-dimensional growth of osteoblasts through type I collagen processing. *Bone* 2007; 41: 231–238.