

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**CERRAHİ OLARAK BİPEDAL HALE GETİRİLMİŞ C57B16  
FARE SOYUNDA RALOKSİFEN ÖSTRADİOL VE NİTRİKOKSİT  
TEDAVİSİNİN İDİOPATİK SKOLYOZ GELİŞİMİNE ETKİLERİ**

**Dr. Can Emre BAŞ**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA  
2014**

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**CERRAHİ OLARAK BİPEDAL HALE GETİRİLMİŞ C57B16  
FARE SOYUNDA RALOKSİFEN ÖSTRADİOL VE NİTRİKOKSİT  
TEDAVİSİNİN İDİOPATİK SKOLYOZ GELİŞİMİNE ETKİLERİ**

**Dr. Can Emre BAŞ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Halil Gökhan DEMİRKIRAN**

**ANKARA**  
**2014**

## ÖZET

AIS multifaktöriyel bir hastalıktır. Patogenezinin bilinmesi hastalığın önlenmesinde ve deformitenin ilerlemesinde kullanılacak tedavileri belirleyebilir. Biz yaptığımız çalışma ile AIS etiyolojisini ve farmakolojik ajanların bipedal hale getirilmiş C57Bl6 skolyoz insidansı ve eğrilik ilerlemesi üzerine etkilerini araştırdık. Aynı zamanda bipedalitenin omurga sagittal plan deformiteleri ve pelvis antropometrisi üzerine etkilerini araştırdık. Yüz yirmisekiz tane C57B16 fare temin edilerek annelerinden güvenle ayrılacak zamana gelince (3 haftalıkken) tesisimize getirildi. Yirmi sekiz hayvan dörtayaklı bırakılırken diğerleri tesise varır varmaz ön ayak amputasyonuna ve kuyruklarının kesilmesine maruz bırakıldı. Sonrasında fareler 5 gruba ayrıldı: Kuadripedal kontrol, Bipedal kontrol, Raloksifen verilen bipedal grup, Östrojen verilen bipedal grup, Nitrikoksit verilen bipedal grup. Beşinci, 20. ve 40. haftalarda farelere ön-arka ve yan skolyoz röntgenleri, KMD ölçümleri yapıldı. Belirli sayıda fare sakrifiye edilerek bilgisayarlı tomografi çekildi, büyüme plağı analizi ve reseptör açısından incelenmek üzere ilgili merkezlere gönderildi. Deformiteler hem açısal olarak hem de insidans bakımından değerlendirildi. Beşinci ve 20. haftalarda 5 derece Cobb açısı için sınır kabul edildi. Gruplar arası skolyoz insidansı açısından anlamlı fark bulunamadı ( $p=0.528$  ve  $p=0.132$ ). Kırkıncı haftada ise örnek sayısındaki azlık nedeniyle gruplar kıyaslanamadı ama kuadripedal grupta skolyoz oranı % 100. Raloksifen grubunda hem insidans hem de eğrilik derecesi 20. ve 40. haftalarda benzer seviyede kaldı. Torakal kifoz açısından değerlendirildiğinde farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama torakal kifoz açısı  $57.2 \pm 12.3$  derece, 20. haftada kalan 111 farede ortalama torakal kifoz açısı  $53.4 \pm 13.9$ , 40. haftada kalan 56 farede ortalama torakal kifoz açısı  $47.7 \pm 9.4$  derece ölçüldü. Gruplar arasında bipedal grubun torakal kifozdaki düşüşe belirgin etkisinin olduğu görüldü. Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama spinosakral açı  $80.5 \pm 27.5$  derece, 20. haftada kalan 111 farede ortalama spinosakral açı  $48.2 \pm 10.3$ , 40. Haftada kalan 56 farede ortalama spinosakral açı  $60.4 \pm 12$  derece ölçüldü. Bipedal grupta kuadripedal gruba göre 20. ve 40. haftalarda ortalama değerler daha düşüktü. Torakal kifozda ve spinosakral açıdaki bu düşüşler bipedal kalmanın daha erekte bir omurga ile sonuçlanacağını düşündürüyor. Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama pelvis eğimi  $12.3 \pm 7.3$  derece, 20. haftada kalan 111 farede ortalama pelvis eğimi  $16.3 \pm 7.3$ , 40. Haftada kalan 56 farede ortalama pelvis eğimi  $13.5 \pm 8.1$  derece ölçüldü. Bipedal grupta ağırlıklı olarak kuadripedal gruba göre değerlerin düşük olması pelvis hacminin bipedal kalma ile düştüğünü gösterdi. IHK boyamalara bakıldığında ise östrojen reseptör  $\beta$  değerleri gruplar arasında anlamlı bir fark oluşturmadı. Calmodulin reseptör seviyeleri ise bipedal kontrol grupta daha yüksek seviyelerde çıktı. Bu çalışma ile raloksifenin deneysel olarak oluşturulan skolyoz ilerlemesini engellediğini gösterdik.

Anahtar kelimeler: adölesan idiyopatik skolyoz, nitrik oksit, östrojen, raloksifen, kalmodulin reseptör, östrojen reseptör, etiyopatogenez

## ABSTRACT

AIS is a multifactorial disease. Understanding pathogenesis of the disease may be helpful in treatment for preventing the disease and progression of the curve. We investigated etiopathogenesis of AIS and effects of the pharmacological agents in scoliosis incidence and progression of the curve. Also the effects of bipedality on the sagittal spine deformities and pelvic anthropometry. One hundred and fifty eight mice were transported to our facility when they can be separated from their parents (3 weeks-old). Except for 28 mice all of them were rendered bipedal with forelimb and tail amputation. All of them were separated to groups according to pharmacological agents: quadrupedal control group, bipedal control group, raloxifen group, nitric oxide group, estrogen group. Bone densitometry measurements and X rays were obtained at 5., 20. and 40. weeks. Specific numbers of mice were sacrificed for spine samples to send relevant centres. Deformities were analyzed for both scoliosis incidence and curve angles. Lower limit for scoliosis Cobb angle was 5 degrees. There was no difference in scoliosis incidence ( $p=0.528$  and  $p=0.132$ ). At 40. week because of insufficient numbers of samples, there was no comparison between groups, but the scoliosis incidence was % 100 in quadrupedal control group. Raloxifen group had similar scoliosis incidence and curve degrees at 20. and 40. week. Thoracic kyphosis was  $57.2 \pm 12.3$  at 5. Week in 24 mice,  $53.4 \pm 13.9$  at 20. Week in 111 mice and  $47.7 \pm 9.4$  degrees at 40. Week in remaining 56 mice. Bipedal group had lower thoracic kyphosis degrees than quadrupedal group. Spinosacral angle was  $80.5 \pm 27.5$  at 5. Week in 24 mice,  $48.2 \pm 10.3$  at 20. Week in 111 mice and  $60.4 \pm 12$  degrees at 40. Week in remaining 56 mice. Bipedal group had lower spinosacral degrees than quadrupedal group. These were thought to be relevant to bipedality. Pelvic incidence was  $12.3 \pm 7.3$  at 5. Week in 24 mice,  $16.3 \pm 7.3$  at 20. Week in 111 mice and  $13.5 \pm 8.1$  degrees at 40. Week in remaining 56 mice. Bipedal group had lower pelvic incidence degrees than quadrupedal group probably because bipedality lowers pelvic volume. Estrogen receptor  $\beta$  values were similar in all groups in immunohistochemical investigation. Calmodulin receptor levels were higher in bipedal control group. With this study we showed that Raloxifen prevents the progression of experimental scoliosis.

Keywords: adolescent idiopathic scoliosis, nitric oxide, estrogen, raloxifen, calmodulin receptor, estrogen receptor, pathogenesis

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	viii
GRAFİKLER	ix
TABLolar	x
1. AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Adölesan İdiopatik Skolyoz (AİS)	6
2.1.1 AİS Prevalansı	8
2.1.2 Etiyopatogenez	8
2.2. Nöromuskuler Skolyozun Bir Formu Olarak Modellenen Aıs	18
2.2.1 Melatonin kas tonusu düzenleyicisi etkisi	18
2.2.2. Kalmodulin: AİS'te önemi nedir?	19
2.3. Spinal Kolonda Büyümede Bir Lokal Defekt Olarak Ais Modeli	21
2.4. Vertebral kolonun bir tarafının trabeküler oluşumunda veya mineralizasyonunda mekanik başarısızlığın bir sonucu olarak AİS modeli	22
2.5. Ortak Payda: İki Ayaklılık	24
3. MATERYAL VE METODLAR	27
3.1. Hayvanlar	27
3.2. Radyolojik Analiz:	29
3.3. Büyüme plağı analizi:	29
3.4. Osteoblastlarda östrojen (E2) ve melatonin (M) reseptörleri açısından	30
3.5. İstatiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
4.1 Skolyoz	31
4.2 Torasik Kifoz	35
4.3 Lomber Lordoz	37

4.4	Spinopelvik Açđ	40
4.5	Spinosakral Açđ	42
4.6	Pelvik Eğim	45
4.7	Pelvis Kemik Dansitometre	48
4.8	Omurga Kemik Dansitometre	51
4.9	Haftalara göre Gruplar arası kıyaslamalar	53
4.10	İmmunohistokimyasal (İH) Değerlendirme	55
5.	TARTIŞMA	59
6.	SONUÇLAR	63
	KAYNAKLAR	64

**KISALTMALAR**

5HT	: 5-hidroksi-triptofan
AİS	: Adölesan İdiyopatik Skolyoz
ALP	: Alkalen fosfataz
ark	: Arkadaşları
BMD/BMC	: Kemik mineral yoğunluğu/içeriği
CaM	: Kalmodulin Mekanizması
ECM	: Ekstraselüler matriks
İH	: İmmunohistokimyasal
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
MSS	: Merkezi sinir sistemi
MTNR1A	: Melatonin reseptör 1A
nNOS	: Nöral nitrik oksit sentaz
OD	: Otozomal Dominant
PMCA	: Plasma membran Ca <sup>+2</sup> -ATPase
SERCA	: Sarko/endoplasmik retikulum Ca <sup>+2</sup> -ATPase
SERM	: Selektif östrojen reseptör modülatörlerinin
SNPs	: Tek nükleotid polimorfizmi
X R	: Radyolojik görüntüleri

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil 1.</b>	Risser Sign ve evreleri	7
<b>Şekil 2.</b>	Melatonin kimyasal yapısı	16
<b>Şekil 3.</b>	C57Bl6 fare	27
<b>Şekil 4.</b>	Ön arka ve yan grafi ve ölçüm örneği	29
<b>Şekil 5.</b>	Yirminci haftada RLX ve NTG gruplarından Er- $\alpha$ boyama örneği	55
<b>Şekil 6.</b>	Beşinci hf Q gruptan Er- $\beta$ boyama örneği	56
<b>Şekil 7.</b>	Yirminci hf B gruptan Er- $\beta$ boyama örneği	56
<b>Şekil 8.</b>	Yirminci hf E2 grubundan CaM boyama örneği	57
<b>Şekil 9.</b>	Yirminci hf NTG grubundan CaM boyama örneği	57



## GRAFİKLER

<b>Grafik 1.</b> Haftalara göre skolyoz insidansları	34
<b>Grafik 2.</b> Haftalara göre torasik kifoz ölçümleri	36
<b>Grafik 3.</b> Haftalara göre lomber lordoz açısı	39
<b>Grafik 4.</b> Haftalara göre spinosakral açı	44
<b>Grafik 5.</b> Haftalara göre pelvik inkline değeri	47
<b>Grafik 6.</b> Haftalara göre pelvis kemik dansitometre değerleri	50
<b>Grafik 7.</b> Haftalara göre Er- $\alpha$ değerleri	56
<b>Grafik 8.</b> Haftalara göre Er- $\beta$ değerleri	57
<b>Grafik 9.</b> Haftalara göre CaM değerleri	58

**TABLULAR**

<b>Tablo 1.</b> AIS'da eğrilik tipleri için tanımlanmış ilerleme kriterleri	7
<b>Tablo 2.</b> Çalışma planı	28
<b>Tablo 3.</b> Gruplara göre Cobb açısı değerleri	31
<b>Tablo 4.</b> Beşinci haftadaki skolyoz insidansı	33
<b>Tablo 5.</b> Yirminci haftadaki skolyoz insidansı	33
<b>Tablo 6.</b> Kırkıncı haftadaki skolyoz insidansı	34
<b>Tablo 6.</b> Gruplara göre torasik kifoz açıları	35
<b>Tablo 7.</b> Gruplara göre lomber lordoz açıları	37
<b>Tablo 8.</b> Gruplara göre spinopelvik açıları	40
<b>Tablo 9.</b> Gruplara göre spinosakral açıları	42
<b>Tablo 10.</b> Gruplara göre pelvik inkline açıları	45
<b>Tablo 11.</b> Gruplara göre pelvis kemik dansitometre değerleri	48
<b>Tablo 12.</b> Gruplara göre omurga kemik dansitometre değerleri	51
<b>Tablo 13.</b> Gruplar arası kıyaslama	53

## 1. AMAÇ

Omurganın yaygın deformitelerinden biri olan skolyoz eski çağlardan beri bilinmekte olup hastalar üzerinde sosyal ve psikolojik baskı oluşturur. Hipokrat sırttaki eğrilikleri sağlıklı insanlarda dahi görülebilen çok çeşitli türlerinin olduğunu belirtmiştir[1]. Genel olarak skolyoz aksiyel iskeletin üç planda da etki edebildiği bir deformitedir. Etkilenen seviyelerde sıklıkla lateral deviasyon ve aksiyel rotasyon görülür.

İdiopatik skolyoz infantil ve juvenil/adölesan İdiyopatik skolyoz olarak 2 ayrı fenomendir. Bizim çalışmamızda adölesan İdiyopatik skolyoz incelendi.

1960'lardan beri potansiyel etiyolojik mekanizma için çeşitli çalışmalar yapıldı, ama bu çalışmalar bu kompleks hastalığın değişik yönlerinin tümünü açıklayamadı. Etiyolojide genetik faktörlerin olduğunu gösteren çalışmalar yapılmış olsa da net bir bağlantı kurulamamış ve bununla ilgili izole küçük bir alt grupta veya ailede bu çalışmaların sürdürülmesinin zorluğu belirtilmiştir[2, 3]. Ayrıca çeşitli çalışmalarda bu hastalığın multifaktöriyel olduğu gösterilmiş. Bu faktörler;

- 1) Genetik Faktörler
- 2) Bağ dokusu Bozuklukları
- 3) İskelet Kası Bozuklukları
- 4) Nörolojik Köken
- 5) Biyomekanik Faktörler
- 6) Büyüme ve Gelişmeye Bağlı Faktörler
- 7) Trombosit Anomalileri
- 8) Melatonin Anomalileri

olarak sıralanabilir. Bu faktörlerin bir kısmının aynı anda etki ettiği düşünülüyor ve bu yüzden etiyoloji araştırılırken sebebi belirlemek zorlaşabiliyor.

Cerrahi tedaviler ekonomik açıdan pahalı ve ciddi komplikasyon risklerini beraberinde getiren tedavilerdir. Ayrıca genç hastalarda çok seviyeli füzyon düzgün fakat hareketsiz, katı bir omurga ile sonuçlanır.

Konservatif tedavi daha güvenli bir izlemdir. İncelenen çalışmalarda ortezlerin 'bekle ve gör' yaklaşımından daha efektif olduğunu gösteren çok az ve çok düşük kalitede data olduğunu belirtiyorlar[4]. Ayrıca hastaların ergenlik döneminde dışarıdan belli olabilecek bir cihaz kullanmaları çoğu zaman sorunlu olabiliyor.

AİS'da bu gibi sebepler nedeni ile etkili, maliyeti düşük, uygulanabilir, önleyici ve daha az invaziv bir tedavi yöntemi bulunmalı.

Daha önce calmodulin inhibitörlerinin (tamoksifen ve trifluoperazine) ile skolyotik deformite oluşumunu inhibe etmediğini C57Bl6 fare türlerinde gösterildi [5]. Ama yapılan çalışmada tamoksifenin deformite progresyonunu düşürdüğünü gösterildi. Ayrıca daha önce osteopenin skolyozda primer bir faktör olmadığını gösteren bir çalışma yapıldı[6]. Daha önceki çalışmalarda melatonin-calmodulin sisteminin skolyoz ile ilgili olduğunu ama calmodulin yolunun daha az araştırıldığını saptandı. Ayrıca daha önceki çalışmalarda östrojenlerin AIS da kritik rol aldığını belirtildi[7]. Östrojenlerin üzerine kliniğimizde yapılan bir çalışmada ise Tamoksifen ve Raloksifenin skolyozu engellemediği ama ilerlemesini azalttığı görülmüştür[8]. Nitrik oksit ise daha önce AIS hastalarında paravertebral kasların konveks tarafında nitrik oksit sentazın ve kalmodulinin daha az saptanması üzerine etiolojide rol alabileceğini gösteriyor[9]. Bizim kliniğimizde yapılan bir çalışmada ise kalmodulin konveks tarafta daha fazla olduğunu gösterdik[10]. Araştırmanın bir başka kolunda ise büyüme plaklarındaki defekti araştıracağız. Daha önce skolyozun bir büyüme anomalisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcut[11].

Bu araştırmanın amacı raloksifen (calmodulin antagonisti) , östradiol (östrojen) ve nitrogliserin( NO verici) skolyoz etiolojisini ve ilerlemesinde etkisini göstermektir.

## 2.GENEL BİLGİLER

Skolyoz omurganın patolojik lateral deviasyonu olarak tanımlanır. Radyolojik olarak 10 derecenin üzerindeki eğrilikler patolojik olarak kabul edilmektedir. Eğriliğin derecesi arttıkça vertebral cisimlerin ön kısımları eğrilik apeksinde konveksite tarafına doğru rotasyona uğrar. Bu deformite psikolojik, kozmetik ve sosyoekonomik buhrana sebep olup; sıklıkla kardiyopulmoner sıkıntılara yol açarak hayatın kısalmasına sebep olabilir[12].

Skolyozda en sık kullanılan sınıflama Skolyoz Araştırma Topluluğunun (Scoliosis Research Society-SRS) tarafından yapılmıştır[13].

### YAPISAL SKOLYOZ

#### I. İDİOPATİK SKOLYOZ

##### A) İnfantil (0-3 yaş)

-Kendiliğinden gerileyen

-İlerleyici

##### B) Jüvenil (4-10 yaş)

##### C) Adolesan (10 yaşından iskelet olgunlaşmasına kadar)

##### D) Erişkin

#### II. NÖROMUSKÜLER SKOLYOZ

##### A) Nöropatik

##### 1. Üst Motor Nöron

###### a) Serebral Palsi

###### b) Spinoserebellar Dejenerasyon

- Freidreich Hastalığı

- Charcot-Marie-Tooth Hastalığı

- Roussy-Levy Hastalığı

###### c) Siringomiyeli

###### d) Spinal Kord Tümörü

###### e) Spinal Kord Travması

###### f) Diğer

##### 2. Alt Motor Nöron

- a) Poliomyelit
  - b) Diğer viral myelitler
  - c) Travmatik
  - d) Spinal Musküler Atrofi
    - Werdnig-Hoffmann
    - Kugelberg-Welander
  - e) Myelomeningosel (Paralitik)
3. Disotonomi (Riley-Day Sendromu)

4. Diğer

B) Myopatik

- 1. MCC (Artrogripozis)
- 2. Müsküler Distrofi
  - a) Duchenne (Psödohipertrofik)
  - b) Limb-girdle
  - c) Facioscapulohumeral
- 3. Fiber Tip Disproporition
- 4. Konjenital Hipotoni
- 5. Myotonia Distrofika
- 6. Diğer

III. KONJENİTAL SKOLYOZ

A) Formasyonda Yetersizlik

- 1. Kama vertebra
- 2. Hemivertebra

B) Segmentasyon Yetersizliği

- 1. Tek taraflı (Unsegmented Bar)
- 2. İki taraflı (Sinostoz)

C) Karışık (Segmentasyon + Formasyon Yetersizliği)

IV. NÖROFİBROMATOZİS

V. MEZENŞİMAL HASTALIKLAR

- A) Marfan Sendromu
- B) Ehler-Danlos Sendromu
- C) Diğer

## VI. ROMATOİD HASTALIKLAR

### VII. TRAVMATİK

A) Kırık

B) Cerrahi

1. Laminektomi sonrası

2. Torakoplasti sonrası

C) Radyasyona bağlı

### VIII. EKSTRA SPİNAL KONTRAKTÜRLER

A) Ampiyem sonrası

B) Yanık sonrası

### IX. OSTEOKONDRODİSTROFİ

A) Diastrofik cücelik

B) Mukopolisakkaridozis

C) Spondiloepifiziel Displazi

D) Multipl Epifiziel Displazi

E) Diğer

### X. KEMİK ENFEKSİYONU (Akut veya Kronik)

### XI. METABOLİK HASTALIKLAR

A) Raşitizm

B) Osteogenezis İmperfekta

C) Homosistinüri

D) Diğer

### XII. LUMBOSAKRAL EKLEMLE İLGİLİ

A) Spondilolizis ve Spondilolistezis

B) Lumbosakral bölgede konjenital anomali

### XIII. TÜMÖRLER

A) Vertebral kolon

1. Osteoid Osteoma

2. Histiositozis-X

3. Diğer

B) Spinal Kord Tümörleri

## **YAPISAL OLMAYAN SKOLYOZ**

I. Postural skolyoz

II. Histerik skolyoz

III. Sinir kökleri irritasyonu

A) Disk hernisi

B) Tümörler

IV. İnflamatuvar (örn. apandisit)

V. Alt ekstremitte eşitsizliğine bağlı

VI. Kalça eklemi kontraktürlerine bağlı

Bu sınıflama içinde bizim etiyojisini araştırdığımız skolyoz türü 'Adölesan İdiopatik Skolyoz' dur.

### **2.1. Adölesan İdiopatik Skolyoz (AİS)**

İdiopatik skolyoz diğer sendromlar, konjenital deformiteler ve inflamatuvar sebepler dışlanarak konan bir tanıdır. SRS'e göre 3 farklı yaş grubuna göre sınıflanır[14]:

- 1) İnfantil İdiopatik Skolyoz (0-3 y)
- 2) Juvenil İdiopatik Skolyoz (4-9 y)
- 3) Adölesan İdiopatik Skolyoz (10-20 y)

En sık görülen tip AİS'dur. Tipik olarak kızlarda görülür. Tipik eğim paterni sağ torasik eğriliktir. AİS'da erken ölüme sebep olmadan nefes darlığı gibi akciğer semptomlarının oluşabilmesi için genelde tek torasik eğriliklerde ve 80 derece ve üstü Cobb açısının olması gereklidir[15]. Hafif-orta dereceli skolyozlarda sırt ağrısı popülasyondan farklı değildir. AİS'da ilerleme riskini oluşturan faktörler ise aşağıda gösterilmiştir[16].



**Tablo 1.** AIS'da eğrilik tipleri için tanımlanmış ilerleme kriterleri

Torasik	Lomber	Torakolomber	Kombine
Cobb açısı > 50	Cobb açısı > 30	Cobb açısı > 30	Cobb açısı > 50
Apikal vertebra rotasyonu > % 30	Apikal vertebra rotasyonu > % 30	Apikal vertebra rotasyonu > % 30	
Mehta açısı > 30	Eğrilik yönü	Translasyon-imbalsans	
	L5 vertebra pozisyonu		
	Translasyon-imbalsans		

Ayrıca yapılan bir çalışmada deformitenin ilerlemesinin en güçlü 3 değişkeni: Eğriliğin miktarı, Risser Sign ve hastanın yaşı olduğu belirtiliyor[17]. Aynı çalışmada rotasyonel belirginliğin ve cinsiyetin eğrilik ilerlemesine katkısının olmadığı gösterilmiş.

**Şekil 1.** Risser Sign ve evreleri

### 2.1.1 AİS Prevalansı

Skolyoz tanısı için seçilen Cobb açısına göre skolyoz prevalansı toplumda değişiyor. Eğer patolojik eğrilik için Cobb açısı alt sınırı 10 derece kabul edilirse adölesan popülasyonda (10-16 yaş) AİS % 2-3 oranında görülür. Bu sınır 20 derece olduğunda % 0.3-0.5 iken 40 derecede % 0.1 oranında görülür[18]. Akciğer tuberkülozu tarama amaçlı çekilen grafilerde saptanan Cobb açısı 10 dereceden büyük skolyoz oranı ise % 1,9 bulunmuş[19]. Ülkemizde yapılan araştırmada ise % 1,5 oranında skolyoz saptanmıştır[20]. Bir başka çalışmada yaş insidansına göre eğrilikler erken başlangıçlı (0-8 yaş) ve geç başlangıçlı (8 yaş ve üstü) olarak (Early Onset vs Late Onset) olarak ikiye ayrılmış. İnsidans cinsiyet açısından kıyaslanınca erken başlangıçlı grupta kız erkek oranı 4/5 (K/E) iken geç başlangıçlı grupta oran 7/1 (K/E) saptanmış[21].

Tedavi yönteminin belirlenmesinde en önemli faktörlerden birisi de deformite ilerleme riskidir. Progresyon faktörleri aydınlatılırsa gereksiz tedavi oranı azalacaktır. Progresyonun belirlenmesi için yapılan en geniş araştırmalardan biri olan Lonstein Carlson'un çalışmasında;

Progresyon Faktörü =  $(Kobb\ açısı - 3 \times Risser\ Evresi) / Kronolojik\ Yaş$  olarak hesaplanmış[17].

### 2.1.2 Etiyopatogenez

AİS'da deformiteye sebep olan faktörler çok uzun süredir araştırılmış olmasına rağmen patogenezin multifaktöriyel olduğu görülmüştür.

#### 2.1.2.1 Genetik Faktörler

Klinik incelemelerde ve popülasyon çalışmalarında skolyozun hastaların akrabalarında artmış insidansı saptanmıştır[22-24]. 15 derecenin üzerinde skolyotik eğrilikleri olan kadınlarda yapılan bir çalışmada bu bireylerin kızlarında % 27 oranında skolyoz saptanmış[25]. Hastaların ve yakınlarının skolyoz prevalansı açısından incelendiği bir çalışmada ise 1. derece akrabalarda oran % 11 iken 2. ve 3. derece akrabalarda % 2.4 ve 1.4'e düşüyor[24].

Monozigot ikizlerde yapılan çalışmalarda skolyotik deformitenin birlikteliği % 73 oranında iken dizigot ikizlerde bu oran % 36[21, 26-29]. Bu oran indeks hastaların 1. Derece yakınlarında fizik-muayane ile skolyoz oranının değerlendirildiği çalışmalara oranla çok daha fazla. Bunun sebebi ikiz çalışmalarında radyolojik olarak ölçümlerin yapılması: fizik muayane ile hafif derecede skolyozlar gözden kaçabilirken radyolojide false-positive oranı belirgin azalıyor[2, 21].

Hastalığın ailesel doğası bilinse de kalıtım tipi tartışmalı. Populasyon çalışmalarında otozomal dominant (OD), X-bağımlı, multifaktöriyel kalıtım paternleri görülmüş[23, 30, 31].

Sonuç olarak yapılan çalışmalarda İdiyopatik skolyozun tek gene bağlı kalıtımla (single-gene disorder) aktarıldığı görülmüş. Kalıtım ekspresyon açısından dominant veya resesif olabilir[2].

#### **2.1.2.2 Bağ Dokusu Bozuklukları**

Bağ dokusu elemanları olan kollajen ve elastik bağlar spinal kolonu destekleyen esas elemanlardan biridir ve skolyoz patofizyolojisinde önemli rol oynarlar. Marfan sendromu gibi birçok bağ dokusu hastalığının fenotipik özelliklerinden birisinin skolyoz olması İdiyopatik skolyozun etkenlerinden birisinin bağ dokusu olduğunu düşündürür[2].

Intervertebral diskte proteoglikan ve kollajen içeriklerinin miktarı ve kalitesi ile ilgili çalışmalarda İdiyopatik skolyozlu hastalarda nucleus pulposus'un anormal glikozaminoglikan ve kollajen içeriğine sahip olduğu gösterildi[32, 33]. Bu durumun tersi bazı araştırmacılar tarafından gösterildi: bu yazarlar içerikteki değişikliğin anormal mekanik güçlere sekonder olarak skolyoz nedeniyle oluştuğunu öne sürdü[34, 35]. Ayrıca bu incelemelerde intervertebral disk kalsifikasyonunun eğriliğin rijiditesi ile bağlı olduğu ve görülmeye başladığı evreye bağlı olarak skolyoz ilerlemesinin derecesini gösterebileceği belirtilmiş[35].

### 2.1.2.3 İskelet Kası Bozuklukları

Etiyolojide uzun süredir üzerinde durulan olası sebeplerden biri paraspinal kas anomalileridir. AİS'da paravertebral kaslarda 2 tip kas lifinin bulunduğu görülmüş;

Tip 1: Yavaş Kasılan tip(slow twitch)

Tip 2: Hızlı Kasılan tip(fast twitch)

AİS'lu hastalarda yapılan bir çalışmada Tip 2 kas liflerinde azalma saptanmıştır[36]. Bir başka çalışmada kas lifleri dağılımında eğriliğin konveksite tarafında normal dağılım görülürken konkavite tarafında Tip 1 liflerde azalma saptanmış[37]. Yarom ve ark. yaptıkları çalışmalarda hastalık dışı bölgelerden alınan kas liflerinde (deltoid, gluteus, trapezius...) benzer dağılım bularak hastalığın myopatik bir mekanizması olabileceğini gösterdiler. Ayrıca paraspinal bölgeden ve uzak bölgelerden alınan kas dokusunun histolojik incelemelerinde myofilaman diziliminde bozukluklar ve Z-çizgilerinde değişimler saptamışlar[38-40]. Kas liflerinde lipid, glikojen ve membranöz cisimlerin arttığı görülmüş[41]. İdiopatik skolyoz vakalarında gluteal bölgede ve eğrili apeksindeki paraspinal kaslardan alınan örneklerde myopatik değişiklikler saptanmış. Bu da hastalığın primer bir kas hastalığı olabileceğini de göstermiş; ayrıca lokal değil yaygın bir hastalık olduğunu düşündürmüştür[42]. Paraspinal bölge kas liflerinde artmış kas içcikleri ve kalsiyum içeriğinde artış saptandı. Sonuç olarak kas lifi, fibrillerin morfolojisi, histokimyası gibi çeşitli alanlarda yapılan çalışmalarda, myotendon birleşim yerinde bir anomali, kalsiyum, bakır ve çinko konsantrasyonlarında, platelet agregasyonunda bozukluklar olduğu ortaya çıkarılmıştır[42-45]. AİS hastalarında elektromyografik aktiviteleri açısından erekör spina kaslarında yapılan deneylerde anlamlı fark bulunamamış[46].

### 2.1.2.4 Nörolojik Köken

Uzun yıllardır nörobilim ile uğraşan birçok araştırmacı AİS ile nörolojik etiyojiler açısından çalışmalar yaptı. Ama bu çalışmaların sonuçları birbiri ile çelişiyordu[40, 47-50]. Vibrasyon hissinin değerlendirilerek dorsal kolon disfonksiyonunun araştırıldığı çalışmalarda sonuçların değişken olması

nedeniyle belirli bir çıkarım yapılamamış[49]. Periferik propriosepsiyon için de aynı şey geçerli [48]. Ama görsel ve propriosepsiyon testleri kombine edilince skolyozlu hastalarda kontrollere göre kötü sonuçlar saptanmış[40].

Çeşitli yayınlarda okulovestibular patolojiyi düşündürecek anormal nistagmus gözlenmiş [50-52]. Bu sonuçları destekleyen başka çalışmalarda vardı [48, 52,53]. Nörolojik anormalliğin olduğu bölgenin paramedian pontine reticular formasyon olarak düşünülüyor; preokular motor nukleusu vestibular nukleusa bağlayan merkez[2].

Başka araştırmacılar tarafından serebral korteks araştırıldı ve skolyoz nedeniyle cerrahi yapılan hastalarda elektromyografi ve kortikosensör uyarılmış potansiyeller incelendi. Hastalarda tarafla uyumlu anormal ve asimetric kortikal gecikmeler görüldü[54, 55].

Çoklu seviyede anterior ve posterior rizotomiler ile memelilerde deneysel skolyoz oluşturulmuştur[56]. Ayrıca Clarke kolonlarına ve posterior gri maddeye torakal omurga seviyesinde zarar verilince de skolyoz oluşturulmuş[57]. Ayrıca tavşanlarda paraOrtanca pontine retiküler formasyonun olduğu bölge ve civarı zedelenecek deneysel skolyoz oluşturulmuş[51, 58].

#### **2.1.2.5 Biomekanik Faktörler**

Spinal dokuların mekanik faktörleri, omurga dizilimi, anormal yüklenmeler (güçler veya deplasmana bağlı), omurganın desteklenme şekli skolyoz gelişimine katkı yapabilir. Bir yapının nasıl desteklendiği onun mekanik davranışında önemli rol oynar[2]. Bu nöromusküler skolyozda önemli ölçüde farkedilmiş bir durum: pelvis oblikliği spinal stabilite için önemli bir faktördür[59]. Skolyoz gelişimi abdominal kasların zayıflığına veya yetersiz desteğine bağlı olabileceği de gösterilmiş [59], ama bu patogenez İdiyopatik skolyozda ayrıntılı çalışılmamış.

Azalmış kemik kalitesinin omurga eğikliğinde önemli rol oynayabileceği de İdiyopatik skolyozlu hastaların kendi yaş grupları ile kemik dansitometrelerinin karşılaştırılması sonrası düşünölmeye başlanmıştır [60-

63]. Şu anda azalmış kemik kalitesinin İdiyopatik skolyozda önemli rol oynadığını kesin kanıtlayan bir çalışma yok.

Yumuşak doku ve eklem elastikiyeti nedeniyle kas ve ligaman gerginliğinin azalması ile ilgili çalışmalarda birbiri ile çelişen sonuçlar göstermiş [64-66] . Eklem gevşekliği skolyoz için önemli bir risk faktörü olabilir ama bunun önemli bir etiyolojik faktör olduğunu gösteren bulgu yok.

Etiyolojide araştırılan bir diğer konu omurgaya asimetrik yüklenim; bir tarafta kollapsa sebep olarak eğriliğe yol açabilir. Yapılan bir çalışmada normal çocuklarda, nöromusküler skolyozlu çocuklarda ve İdiyopatik skolyozlu çocuklarda refleksler karşılaştırılmış. Bu çalışmada asimetrik kas güçsüzlüğüne yol açan asimetrik lokalize sinir defekti saptamışlar[67].

Sevastik ve ark tarafından üretilen bir teoriye göre torakal omurgaların sağa rotasyona yatkın olması nedeniyle skolyoz gelişiminin sol taraftaki kostaların fazla büyümesi ile oluşabileceği düşünülmüş[61]. Bu teoriye bir destek de tavşanlarda unilateral olarak kostalarda fazla büyüme oluşturulmuş ve insanlardakine benzer İdiyopatik skolyoz gelişimi sağlanmış[68, 69]. Normelli ve ark yaptıkları çalışmada normal insanlarda ve sağ torasik skolyozlu hastalarda karşılaştırıldığında skolyozlu hastaların sol taraftaki kostalarının sağa göre daha uzun olduğu görülmüş[70, 71]. Bu teoriyi bir başka destek de sol tarafın daha fazla büyümesine sebep olacak şekilde vaskülarite artışının saptanması olmuş [72]. Son olarak bu bilgiler ışığında 46 derecelik skolyozlu bir hastanın unilateral kosta rezeksiyonu ile tedavisi bildirilmiş[73].

İdiyopatik skolyozun oluşmasına sebep olacak belirli bir biyomekanik faktör bulunamamış. Bu konu ileri araştırmalara açık bir konu.

#### **2.1.2.6 Büyüme ve Gelişmeye Bağlı Faktörler**

İdiyopatik skolyoz ile hipokifoz bağlantılıdır: anterior ve posterior yapılar arası büyüme dengesizliği hipokifoza sebep olur. Bu hipoteze göre anteriordaki yapılar posterior yapılardan daha hızlı büyüyüp vertebral cisimlerin ileri doğru eğilmelerine sekonder lateral rotasyon yaptığı düşünülmüş. Prospektif bir çalışmada Nissinen ve ark skolyozlu çocukların daha uzun olduklarını daha az kifoza sahip olduklarını görmüş[74]. Bu

çalışmanın bir başka sonucu da skolyoz hastalarında oturma yükseklikleri daha fazla saptanmış.

Miller ve ark yaptıkları bir çalışmada ise İdiyopatik skolyoz ve kontrol hastalarında vertebral büyüme açısından karşılaştırıldıklarında torakolomber omurga yüksekliğinde radyolojik olarak bir fark saptanmamış[75]. Ama skolyotik omurgaların yükseklikleri Bjure ve ark [76] yöntemi ile düzeltildiğinde skolyotik omurgalarda kontrol gruba göre belirgin yükseklik saptanmış. 6. torakal vertebranın yüksekliği İdiyopatik skolyozlu hastalarda belirgin yüksek bulunmuş. Başka çalışmalarda da eğrilikleri fazla olan hastalarda daha az olan hastalara göre daha uzun boy görülmüş [77, 78]. Carr ve ark skolyozun ilerlemesinde önemli rol oynasada büyümenin etiolojide önemli bir rolünün olmadığını belirtmiş[78].

İdiyopatik skolyozun etiolojisinde büyüme hormonlarının varlığı birçok yazar tarafından çalışılsa da sonuçlar birbiri ile çelişen şekildeydi. Yapılan bir çalışmada idiyopatik skolyozu olan ve olmayan kızlarda somatomedin-A ve büyüme hormone düzeyleri arasında kıyaslama yapılmış ve idiyopatik skolyozlu hastalarda açlık büyüme hormone düzeyleri daha yüksek çıkmış [79]. Ayrıca skolyoz hastalarında egzersiz sonrası büyüme hormonunda daha hızlı artış saptanmış. Serum somatomedin-A düzeyleri de idiyopatik skolyoz grubunda daha yüksek çıkmış. Misol ve ark yaptıkları çalışmalarda kontrol hastaları ile skolyoz hastalarının glukoz tolerans testi ve insulin aracılı hipoglisemi sonrası büyüme hormone düzeyleri arasında fark saptanmamış[80]. Ayrıca somatomedin-A düzeyleri arasında kontrol grubuna göre bir fark saptanmamış[80, 81].

İdiopatik skolyozlu hastaların akranlarına göre daha uzun boylu ve zayıf olduğu şeklinde genel kanı vardır. Skolyotik omurga ise genel olarak normal omurgaya göre daha ince ve uzun oluyor. Bu omurga formunun bükülmeye yatkın olduğu düşünülüyor. Büyümenin fazla olduğu erken ergenlik gibi dönemlerde posterior ligamanların anteriordaki büyümeye yetersiz cevabına bağlı gerginliği nedeniyle daha fazla büküldüğü düşünülüyor.

Sonuç olarak yapılan çalışmalardan iki temel sonuç çıkıyor:

1) Bu çalışmalarda yaş önemli bir faktör; erken adölesan yaşlarda yapılan çalışmalarda İdiyopatik skolyozlu hastalarda daha hızlı büyüme olduğundan sadece genç hastalarda patoloji görülebiliyor.

2) Somatomedin-büyüme hormone aksı hakkında son on yılda oldukça yeni bilgi kazanıldı. Somatomedin-A'yı değerlendirilen çalışmalarda bu yeni bilgiler ışığında tekrar değerlendirilmeli[2].

Büyümenin üzerinde tiroksinden seks hormonlarına kadar birçok hormone etki ettiği için tek hormon ile büyümenin değerlendirilmesi oldukça zor. Bu yüzden izole bir hormone araştırılarak büyüme-skolyoz arası ilişkiyi değerlendirmek yetersiz olabilir.

### 2.1.2.7 Trombosit Anomalileri

İskelet kası ve trombositlerdeki kasılabilen elemanlar birbirine benzediği için (aktin ve myosin); kasılabilen proteinlerde bir sorun varsa trombositlerin de etkilenebileceği düşünülmüş. Trombositlerin kasılabilir elemanları aksiyel iskeletten bağımsız olduğu için eğer bir değişiklik görülüyorsa skolyozun sekonder etkilerine bağlı görülmez.

Birçok hastalıkta iskelet kaslarında kalsiyum ve fosfor düzeyleri yüksek bulunmuş; bu hastalarda trombositlerdeki intrasellüler kalsiyum ve fosfor düzeyleri de yüksek bulunmuş[82]. Trombositlerin bir kısmı diğerlerinden daha büyükmüş. Bu çalışmada patolojinin altında yatan mekanizmanın hücre zarında veya kontraktıl elemanlar arasında transport sağlayan bağlantılarda bir defekt olduğu düşünüldü. Bir başka çalışmada trombositlerde myosin adenzin trifosfat ve hücreiçi kasılabilir elemanların aktivitesinde düşüş saptanmış[83]. Ayrıca idiyopatik skolyozlu hastalarda adenzin difosfat ve adrenalın ile trombosit agregasyonunda azalma saptanmış. Skolyoz hastalarındaki ve normal bireylerdeki trombositlerin analizini yapan bir çalışmada skolyoz hastalarının trombositlerinde 'yoğun cisimciklerin' sayısında artış olduğu görülmüş[82].

Kalmodulin ökaryotik hücrelerde kalsiyum fonksiyonunda ve birçok enzimatik fonksiyonun ayarlanmasında önemli rol oynayan bir kalsiyum



bağlayıcı proteindir. Ayrıca kas ve trombositlerdeki aktin ve myozin üzerinden kasılabilir elemanlara etki eder. Trombositlerdeki artmış kalmodulin seviyelerinin AİS'da ilerleme ile ilişkisi bulunmuş. Kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada trombosit kalmodulin seviyeleri ilerleyici skolyoz hastalarında stabil skolyoz hastalarına ve kontrol gruba göre daha yüksek çıkmış[83]. Bu çalışmada yazarlar trombosit kalmodulin seviyelerinin risser evrelemesi gibi skolyozda ilerleme riskini belirten faktör olduğunu belirtiyor.

### 2.1.2.8 Melatonin Anomalileri

Dubousset ve ark tarafından 1983'te yapılan çalışma sonrası epifizektomi sonrası tavuklarda rutin skolyoz gelişmesini düşük melatonin üretilmesine bağlanmış[84]. Bu çalışma sonrası 30 AİS hastası kontrol grubu ile karşılaştırılarak melatonin seviyeleri ölçülmüş: ilerleyici skolyoz hastalarında (eğrilikte yılda 10 dereceden fazla artış gösteren hastalar) % 35 daha düşük melatonin saptanmış[85].

Bagnall ve ark melatonin etkisinin büyüme hormonu aracılığı ile olduğunu düşünüyorlardı[86]. Büyüme hormonu tedavisi alan hastalarda skolyotik eğriliklerde hızlı bir artış saptanmış[87]. Allen ve ark yaptıkları çalışmada büyüme hormonu tedavisi sırasında eğriliklerin arttığını göstermiş[88]. Ama hala büyüme hormonu ile melatonin arası ilişki belirli değil.

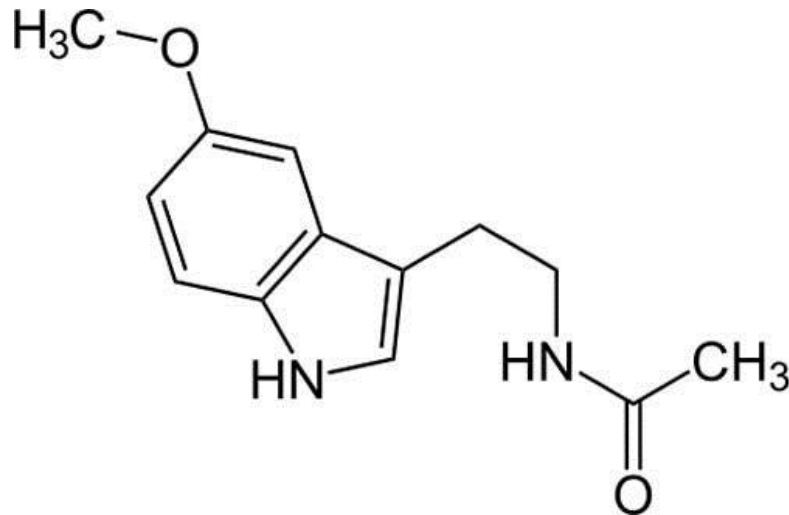
Melatonin etkisinin gerçekleştirilmesinde diüurnal salınımın önemi büyük ve birçok durumda bu salınım şekli bozulur. Ama buna rağmen bu durumlarda skolyoz görülmemiş. Ayrıca skolyoz hastalarında düşük melatonin seviyelerinde beklenen uyku bozuklukları ve bağışıklık sistemi bozuklukları görülüyor. Ayrıca skolyoz hastalarında melatonin yapımında bozukluk görülmemiş. Bazı çalışmalarda melatoninin kalmodulin üzerinden etki ettiği gösterilmiş[85]. Bu yüzden melatoninin skolyoz gelişiminde sekonder rol aldığı düşünülüyor.

Özet olarak AİS etiyolojisinde birçok hipotez varken kabul görmüş en yaygın fikir multifaktöriyel bir hastalık olduğudur. Biz bu hipotezlerden çalışmamızda özellikle melatonin, kalmodulin ve büyüme-gelişme faktörleri üzerinde durarak hipotezimizi oluşturduk.

### Epifizektomi Uygulanmış Hayvan Modelleri

Pineal bezin çıkarılması sonrası birçok çalışmada deney hayvanlarında yüksek oranda skolyoz ile sonuçlandı. Ayrıca bu araştırmacılar pineal bezin iskelet kasına reimplantasyonu sonrası veya melatonin replasman tedavisi sonrası skolyozun önlenebileceğini gösterdi[89, 90]. Tavuklar gibi pineal bezi çıkarılmış farelerde de önayakların ve kuyruğun amputasyonu sonrası iki ayaklı halde dolaşmaya zorlandığında (% 100 oranda deformite) skolyotik deformitenin gelişebileceği gösterilmiştir[91].

Epifizektomili tavuklarda yapılan kontrollü bir çalışmada; 5-hidroksi-triptofan (5HT), kan beyin bariyerini geçebilen bir serotonin öncülü, skolyotik deformitenin önlenmesinde etkili olduğu gösterildi[92]. Serotonin(melatonin öncülü) uygulamasının tek başına deformiteyi önlemede pek etkili olmazken; muhtamelen serotonin kan beyin bariyerini geçemediğinden, 5HT'nin etkili olması melatoninin etkili olabileceğini göstermiştir. İleri çalışmalarda Machida ve çalışma arkadaşları skolyozun genetik olarak melatonininden yoksun C57B16 türündeki farelerde bu fareler önceki çalışmalarda olduğu şekilde iki ayaklı yürümeye zorunlu hale getirildiklerinde 100% oranında geliştiğini gösterdi[91]. Bu sonuçlar melatoninin yolunun bu modellerde ve dolayısıyla insanlarda da skolyoz gelişiminde etkili olabileceğini gösterir.



**Şekil 2.** Melatonin kimyasal yapısı

Bizim kliniğimiz de dahil olmak üzere birçok grubun yaptığı çalışmalarda epifizektomize tavuklarda çok düşük kan melatonin seviyeleri saptandığında bile % 100 oranın skolyotik deformite oluşturma başarısızdır. Bu serilerde istikrarlı şekilde % 50-60 oranında skolyotik deformite saptandı [90, 93-96]. Kliniğimizde C57Bl6 farelerde yapılan çalışmalar skolyotik deformiteyi oluşturmada % 100 oran göstermeyi başaramadı[5]. Bunun dışında melatonin kullanımı ve pineal bez transplantasyonu da skolyoz oluşumunu engellemede aynı şekilde tekrarlanamadı [96, 97]. Bu sonuçlar şu soruları ortaya çıkardı:

- 1) Machida ve ark. ile diğer araştırmacılar arasındaki fark nedir?
- 2) Çok düşük seviyelerde melatonin tüm hayvanlarda oluşturulduysa neden tüm hayvanlar skolyoz geliştirmiyor?

Bu sorular cevapsız kaldı ama başka faktörlerin bu modellerde skolyotik deformite oluşturmada rol alabileceğini düşündürdü.

Kuş türleri memelilere göre ilkindir. Bu yüzden daha evrimleşmiş hayvan modelleri çalışmalar için uygun olduğu düşünüldü. Epifizektomi yapılmış kemirgenlerde tasarlanan bir çalışmada dört ayaklı hiçbir grupta skolyoz oluşturamadı[98]. Machida ve ark sağladığı güçlü kanıtlara ve skolyoz gelişiminin cerrahi prosedür sonrası tek başına gelişmeyeceğini gösteren bilgilere rağmen gelişmiş hayvan modellerinde skolyoz gelişiminde 5 HT-serotonin-melatonin yolağının olup olmadığı ile ilgili anlaşmazlık var.

AİS hastalarındaki kan melatonin seviyelerinde ve AİS tedavisindeki gereken kan melatonin seviyelerinde de ciddi bir anlaşmazlık var. Machida ve ark ilerleyici skolyoz hastalarında melatonin uygulaması ile etkisi geri dönebilecek kan melatonin seviyelerinde belirgin düşüklük saptadıklarını iddia ettiler[99] ama diğer çalışmalar AİS hastalarında düşük melatonin seviyeleri saptama olasılığını reddetti[86].

AİS hastalarında kan melatonin seviyelerinde çok fazla düşme veya melatonin olmamasının etkilenen bireylerde AİS sebebi olması teorisi çok yüzeysel bir iddia olabilir. Ama diğer taraftan pineal bezin melatonin veya diğer ürünlerinin AİS gelişimindeki birçok patojenik mekanizmalardan biri olduğu neredeyse kesin bir gerçek. Genetik bağlantılı çalışmalarda melatonin reseptör 1A (MTNR1A) polimorfizminin AİS oluşumu ile bağlantılı olduğunu

gösterdi[100] ama melatonin reseptör 1B polimorfizmi ile bağlantısını gösteremedi[101, 102]. Başka çalışmalarda osteoblast hücrelerinde melatonin sinyal yollarının AIS hastalarında defekt olduğu gösterilmiş[103] ve bu defektin serin kalıntılarının fosforilasyonunu etkileyerek normalde melatonin hücre reseptörleri ile bağlantılı G inhibitör proteinlerinin aktivitesini etkilediğini göstermiştir[104].

Yapılan ölçümlerde skolyoz hastalarının tomboositlerinde ve osteoblastlarında Kalsiyum-ATPase (sarko/endoplasmik retikulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase, SERCA; ve plasma membran Ca<sup>2+</sup>-ATPase, PMCA) ekspresyonunda anormalliklerin olduğuna dair kanıtlar var, bu da kaspas-3 hücre farklılaşmasında defekt olduğunu düşündürür[105]. Kalmodulin bu sistemi regüle ediyor olabilir. Bu yüzden; melatonin (ve/veya kalmodulin) ile AIS etiopatogenezi arasında bir bağlantı var gibi görülüyor ama mekanizması hala belirsiz. Bizim ve diğer çalışmacıların yaptığı araştırmalarla bunlarla sınırlı olmamak üzere önerdiğimiz etkileşen mekanizmalar şunlardır:

1) AIS nöromusküler skolyozun bir tipidir (iki ayaklı olmanın sebep olduğu bir ters mekanik çevre ile birlikte) ; hormonal ve diğer kimyasal faktörlerin iskelet kas ve tonusunda düzenleyici olarak rol aldığı

2) AIS kimyasal ve hormonal faktörlerin büyüme düzenlemesinde rol aldığı spinal kolonun (iki ayaklı olmak gibi çevresel bir mekanik ters etki ile birlikte) büyüme anormalliğinin bir sonucu olarak modellenenabilir

3) AIS kimyasal ve hormonal faktörlerin kemik oluşumunun, mineralizasyonun ve/veya rezorpsiyonun düzenlemesinde rol aldığı vertebral kolonun (iki ayaklı olmak gibi çevresel bir mekanik ters etki ile birlikte) bir tarafının trabeküler oluşumunda veya mineralizasyonunda mekanik başarısızlığın bir sonucu olarak modellenenabilir

## **2.2. Nöromusküler Skolyozun Bir Formu Olarak Modellenen AIS**

### **2.2.1 Melatonin kas tonusu düzenleyicisi etkisi**

Radyoaktif işaretleme ile barsakta, böbrekte, akciğerde, kalpte, kan damarlarında ve vas deferenste varlığını gösterecek şekilde melatonin

reseptörleri afinitelerine ve yoğunluklarına göre periferik dokularda çalışabiliyor[106]. İlerleyen çalışmalar melatoninin vasküler[107] ve intestinal[108] düz kas tonusunun modülasyonunda etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca civciv myokard hücre kültürlerinde kasılabilirlikte melatoninin ve 5-HT4 reseptörlerinin etkilerinin olduğunu gösteren kanıtlar var[109]. Bu bulgular melatonin ve 5-HT4 reseptörlerinin iskelet kas tonusu modülasyonunda önemli rol oynayabileceğini önerir; ki bu da pinealektomize hayvanlarda spinal deformitelerin oluşumunu düşündürebilir. Yayımlanan bir makalede bu durumu insanlara bağladı: Melatonin ve 5-HT aktivitesinin düşmesi duruşla ilgili iskelet kaslarının tonusunda düşme ile sonuçlanabilir ve AIS patogeneziinde çok önemli olabilir [110] alternatif olarak hayvanlarda pineal bezin çıkarılması regülatör protein(lerin) artmasına veya azalmasına sebep olabilir. Melatonin sekresyonu düzenlemesi ile ilgili bir analiz kalmodulinin melatonin sekresyonunda durdurucu veya başlatıcı etkisi olan bir nörotransmitter olduğunu önerir[111].

### **2.2.2. Kalmodulin: AIS'te önemi nedir?**

Kalmodulin cAMP temelli enzim sistemlerini düzenleyen bir bağlayıcı reseptördür. Kalmodulin hücre zarındaki kalsiyum geçişini kontrol ederek kas hücrelerinin kasılabilir özelliklerini düzenler[112] ve kalmodulin ayrıca myofibrillerdeki kasılabilir proteinler, aktin ve myozin ile direkt etkileşir.

Eskiden beri AIS hastalarında trombosit fonksiyon bozuklukları belirlenmişti [82], ama asıl patolojinin mekanizması çözülemedi. AIS hastalarında trombositlerde yükselmiş kalsiyum ve fosfor düzeyleri [113, 114], intraselüler kasılabilir protein seviyelerinde azalmış aktivite [114, 115], azalmış agregasyon [116, 117] ve anormal myozin yapısı[114] var. İlginç bir şekilde çeşitli çalışmalar özellikle ilerleyici idiyopatik skolyoz hastalarında artmış intraselüler kalmodulin seviyelerini göstermiştir[2, 83]. Sonraki çalışmalarda megakaryositopoiesis (trombosit maturasyonu) kadar osteoblast farklılaşmasını belirten Ca<sup>2+</sup>ATPase ekspresyonunun skolyozda anormal olduğunu göstermişler ve skolyozda melatonin eksikliğinin megakaryosit parçalanmasını artırması ve trombosit üretimini artıran sitokin ağının

düzenlenmesinde rol oynayarak etkili olabileceğini göstermişlerdir[105]. Trombositlerin iskelet kaslarının minyatürlerine benzediğinden bu bulgular AIS hastalarının paravertebral kaslarının anormalliklerinin spinal deformitelerin gelişmesinde ve ilerlemesinde esas rol oynadığını önerir. Mehta ve ark yaptıkları bir çalışmada trombositlerde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (NOS) olduğunu göstermiştir[118]. Nitrik oksit ile ilgili bir çalışmada ise makaslayıcı kuvvetlerin indüklediği NOS'ın osteoartritte etkili olabileceği gösterilmiş[119]. Bu bilgiler AIS'da patogenezin bir faktörünün de nitrik oksit olduğunu düşündürmüştür[120]. Bir çalışmada AIS hastalarının eğriliklerinin konveks tarafındaki kaslarda kalmodulin ve nöral nitrik oksit sentaz (nNOS) düzeylerinin belirgin düşük olduğu gösterilmiştir[9]. Paravertebral kaslardaki kalmodulin aktivitesi ile trombositlerdeki kalmodulin aktivitesi arasındaki ilişki belirlendiğinde AIS gelişmesinde ve ilerlemesindeki mekanizmalar daha iyi anlaşılacaktır.

Kliniğimizde yapılan aynı temalı çalışmalarda melatonin ve kalmodulinin skolyoz mekanizmaları ve patogenezindeki önemini 3 farklı yönden vurgular. İlk kısımda cerrahiye giden adölesan İdiyopatik skolyoz hastaları doku melatonin ve kalmodulin seviyeleri trombositlerde ve iskelet kaslarından elde edilerek ölçülüp cerrahi tedaviye gitmeyen ve kronik spinal problemleri olmayan hastaların değerleri ile kıyaslandı[10]. Bu çalışmanın sonucu önceki çalışmaların aksine plazma kalmodulin seviyelerinin kontrol grup hastalarından belirgin farklı olmadığını ve bu da trombosit kalmodulin seviyelerinin skolyoz gelişimi yakın olan hastaları belirlemek için bir tarama testi olarak kullanımın uygun olmayacağını gösterdi. Benzer şekilde doku melatonin seviyelerinin skolyoz hastalarında kontrol hastalardan belirgin farklı olmadığını gösterdi. Bulgularımıza dayanarak serum seviyelerindeki değişiklik olmadığını gösteren çalışmalar doğrultusunda doku seviyelerinde de değişiklik olmayacağı farzedilebilir. Ayrıca iskelet kaslarındaki kalmodulin seviyelerinin konveks taraftaki düzeyin konkav taraftaki düzeye göre daha farklı olduğu gösterildi. Yukarıda belirtilen çalışmadan zıt olarak konveks taraftaki kas kalmodulin seviyelerinin yüksek olduğunu göstermiştir. Bu kalmodulinin iskelet kası kasılmasının düzenlenmesinde görev alan ve bu kaslar arasındaki

elektrofizyolojik farklılıkların kalmodulin konsantrasyonunda farklılıklarını yansıttığını gösteren önemli bir bulgudur. Kalmodulin bir etken faktör olmasa bile skolyotik eğriliklerin progresyonunda önemli faktörlerden biri olabilir. Başka deyişle kalmodulin deformite oluşumunda tetikleyici faktör olmasa bile progresyonun kontrolünde sekonder kalmodulin içeriğinin dengesizliği bir faktör olabilir[10].

Bu hipotez 2 farklı hayvan modellerindeki çalışmalarla- pinealektomize tavuk modellerinde ve C57B16 fare modeli ile test edildi[5, 121]. Bu çalışmalar kalmodulin inhibitörlerinin pinealektomize tavuk modellerinde ve C57B16 fare modelinde skolyotik deformitenin oluşumunu engellemediğini göstermiştir. Ama diğer taraftan tamoksifenin iki hayvan modelinde de deformite progresyonunu düşürdüğü gösterildi. Bu gözlem kalmodulinin deformite progresyonunun üzerindeki etkisi ile ilgili hipotezimizi doğru olabileceğini gösteriyor. Bunun dışında tamoksifen trifluoperazine ile veya tek başına kontrol grubu hayvanlarına göre belirgin yüksek sayıda eğriliğin geri dönmesine sebep oldu. Tamoksifenin ve raloksifenin ilginç bir şekilde damarsal düz kaslarda tonusta negatif etkiye sahip olduğu gösterildi [122] ve hayvan modellerindeki deformitenin geri dönüşü etkisi temelde bu etkide olabilir. Ama tamoksifenin kalmodulin üzerindeki etkisi ile değil de özellikle östrojen ve diğer moleküller aracılığı ile değişik bir yoldan etki edebileceği vurgulanmalıdır.

### **2.3. Spinal Kolonda Büyümede Bir Lokal Defekt Olarak AIS Modeli**

AİS doğal öyküsü büyüme ile yakından ilişkili. Klinik olarak bunun (alçalan/çöken tiplerin-nöromusküler veya dejenaratif aksine) yükselen (uzayan/büyüyen) tipte bir deformite olduğu iddia edilebilir, nitekim deformite başlangıcı çok hızlı büyüme evresindedir ve ayrıca eğriliğin ilerlemesi büyüme hızı oranı ve kalan büyüme potansiyeli ile çok yakından ilişkilidir. Yukarıda tartışılan hayvan modellerinde de belirgin olan büyümeye bağımlılık fenomeni hiçbir olgun hayvanda deneysel skolyoz modellerinin geliştirilemesine ait hiçbir kanıtın bulunmaması ile açıktır. Ayrıca genel olarak bilinen bir gerçek olarak 'konjenital deformite' gibi spinal deformiteler vertebral kolonun büyüme

dengesizliğinden kaynaklanarak gelişir; belirgin olarak koronal planda asimetri varsa skolyoz, sagittal planda olursa kifoz veya seyrek olarak lordoz, ve ikisinde birden olursa kifoskolyoz oluşur. Birçok çalışma benzer büyüme plak anomalilerini idiyopatik skolyoz hastalarında da olabileceğini göstermiştir. Day ve ark manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile yaptığı bir çalışmada büyüme plaklarının konkav ve konveks taraflarında benzer büyüme plağı anomalilerinin olduğunu önermişler ve büyümede bir bozulmanın deformite gelişmesinde potansiyel sebep olduğunu önermişler[123]. Benzer şekilde Rusova ve ark büyüme plakları aktivitesinde primer bir defekti düşündüren belirgin derecede azalmış glikozaminoglikan sülfatlanması ve asetilasyonunu gösterdi[11]. Hayvan skolyoz modellerinden ve insanlardan alınan vertebral end-platelerin eğri yüklenmenin histomorfolojik olarak değişik düzeylerde hücre çoğalmasına[124] ve farklılaşmasına[35], ayrıca kollajen kompozisyonu farklılaşmasına[125] yol açtığı görülerek primer büyüme bozulmasında herhangi bir ipucu göstermede başarısız olmuştur.

Büyümenin ilgili olabileceği bir başka mekanizma ise AİS hastalarında büyüme düzenlenmesinde bir defekt olabileceğidir. Gerçekten de gen kodlayan bölgelerdeki düzenleyici proteinlerin birçok tek nükleotid polimorfizminin (SNPs) AİS'da skolyoz oluşumu ve gelişimiyle bağlantılı olabilir[126-128]. Bu SNPs AİS hastalarındaki yaygın osteoporoz ile ilişkili de olabilir (aşağıda tartışılmıştır)[128]. Benzer şekilde büyüme parametreleri ve kemik mineral yoğunluğu/içeriğini (BMD/BMC) etkileyen kan Leptin seviyelerinin belirgin seviyede düştüğü gösterilmiştir[100]. Sonuçta AİS hastalarında büyüme bozukluklarının olduğuna dair kanıtlar vardır ama bu kısım yukarıda bahsedilen hipotetik mekanizmalardan en az keşfedilen bölümdür.

#### **2.4. Vertebral kolonun bir tarafının trabeküler oluşumunda veya mineralizasyonunda mekanik başarısızlığın bir sonucu olarak AİS modeli**

Cheng ve ark tarafından yapılan çalışmalar ile AİS ile osteopeni arasındaki klinik ilişki dikkat çekmeye başladı [54, 63, 129]. Bu bulguların Vit



D sentezinde veya metabolizmasında bir problemin sonucu olarak düşünülse de ne bu sistemde ne de gene polimorfizminde herhangi bir defekt gösterilemedi [130, 131]. Yayımlanmamış pilot çalışmada iki ayaklı skolyozlu C57B16 farelerinde daha az trabeküler yoğunluk tamoksifen alan gruba göre saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında biz osteopenin bipedal osteoporotik fare modellerinde skolyoz gelişiminde primer faktör olup olmayacağına dair bir çalışma yaptık[6]. Bizim elde ettiğimiz sonuçlarda bu hayvanların epifizektomi olmamasına rağmen kontrol grupta % 65 hayvan ve osteopenik hayvanların % 82'sinde ortalama sıra ile 5,7-14,3 ve 8,05-15,55 arasında ( $p>0,05$ ) ölçülebilir skolyotik eğrilikler saptandı, bu da hipotezimize zıt olarak osteoporozun muhtamelen primer faktör olmadığını gösterir.

Ancak bu bulgular tamoksifen ve raloksifen gibi selektif östrojen reseptör modülatörlerinin (SERM) hayvan deneyleri modellerinde osteopeni ve skolyotik deformitenin tedavisinde etkili olabileceğini gösterir. Başka bir deyişle bu moleküllerin CaM antagonizması ile etki mekanizmasının kabulüyle başlayan çalışmada gözlemlenen etkilerin östrojen reseptör modülasyonunun anahtar mekanizma olduğu düşünülebilir-özellikle raloksifenin anti-CaM özelliğinin olmadığı düşünülürse.

Bu gözlemler östrojen ve/veya östrojen reseptörlerinin AİS patogenezisinde kilit faktör olabileceğini gösterir. Bu varsayım klinik olarak da bu hastalıkta cinsiyet tutulum farkının olması ile de örtüşüyor. Ayrıca skolyozlu bireylerde osteopeni de bu şekilde açıklanabilir, menapoz sonrası saptanan osteopeniye benzer şekilde. Çalışmalarda insanlarda AİS ile bağlantılı şekilde östrojen reseptör gen polimorfizmi saptandı[131].

Dr Moldovan'ın laboraturanın çalışmaları kemik hücrelerinin fonksiyonları ve iletişimi üzerindeki etkileri ile AİS'de östrojenler kritik rol oynar[7, 132]. Bu çalışmaların sonuçları östrojenlerin AİS orijini olmamakla beraber osteoblast sinyal defektlerinde rol alarak rol aldığını gösterir. Daha önce 17-beta-estradiol melatonine cevaplı AİS hastalarında cAMP üretimini düşerebildiğini gösterdik [104, 132]. Fizyolojik olarak Gi proteinine bağlı melatonin reseptörü MT2; spesifik bir AİS hastası grubunda hücreler 17-beta-östradiole maruz kalınca osteoblastlarda Gs proteinine dönüşüyor. Östrojenin

osteoblast metabolizması üzerindeki etkisi iyi bilinip literatürde ve klinik uygulamalarda dökümanite edilmesine rağmen AIS ile ilişkisi çok az biliniyordu. Osteoblast farklılaşmaması rijidlikte, elastikiyette ve kemiğin mekanik özelliklerinde artmış alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi, ekstraselüler matriks (ECM) sentezi ve kemik mineralizasyonu gibi etkilere sahiptir. Östrojenin kemik ECM'inde artmış ALP aktivitesi, kollajen sentezi ve kalsiyum depozisyonu gibi etkileri iyi bilinir.

## 2.5. Ortak Payda: İki Ayaklılık

Klinik çalışmalar ve hayvan deney modelleri skolyoz oluşumunda ortak paydanın iki ayaklılık olabileceğini önerir. Bugüne kadar dört ayaklı herhangi bir hayvanda veya hayvan deney modelinde skolyoz saptanmadı. Yukarıda bahsettiğimiz daha önceki çalışmamız da iki ayaklılığın skolyoz gelişiminde esas olduğunu gösterdi[6]. Castelein ve ark 2005 te yaptıkları bir çalışma ile iki ayaklılık ve skolyoz gelişiminin arasındaki bağı ile ilgili bir olası açıklama yaptılar[133]. Bu araştırmacılar spinal korda dört ayaklılarda olan tamamen fleksör momentlerin etkisinin ayakta duran insanlarda ağırlıklı olarak ekstansör e kaydığını önerdiler[133, 134]. Bu ekstansör momentler faset eklemleri serbest bırakarak 2 üstüste vertebra arasında arkaya translasyona belirgin karşı koymazken öne translasyona belirgin karşı koyar. Bu instabilite da ilgili fonksiyonel birimlerde instabiliteye yol açarak rotasyonel deformiteye oluşturup skolyoz oluşumunu tetikleyebilir[134]. Bu teori ayrıca insanlarla aynı postural dik duruşa sahip olmayan diğer iki ayaklı primat türlerinde insanlara özgü olan AIS görülmemesini açıklar. Aslında insanlar dışında sadece bir tane muhtamelen merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonuna sekonder nöromusküler orijinli skolyozu olan bir orangutanın case reportu mevcut[135].

Pinealektomi sonrası birçok balık türünde de (somonlar)[136] ve teleostların daha geniş bir grubunda dahil-skolyoz geliştirilebildiği belirtilmiştir[137]. Fjelldal ve ark çalışmasında pinealektomize somonlarda skolyoz gelişimi düşük kemik mineral içeriğine ve azalmış sertliğine, vertabral cisimlerin dirençliliğinin kısıtlanmasına ve azalmasına, bunun da balıklarda masif vücut kaslanmasının gelişmesine bağlanmış[136]. Bu bulgular

pinealektomize balıkların da osteopeni ve beraberinde mekanik problemler geliştirebileceğini gösterdiğinden önemlidir. Ek olarak masif vücut kaslanmasının balıklarda insanlardaki yerçekimi kuvveti ile ilişkilendirilebilecek aksiyel kuvvetler oluşturuyor olabilir. (balık modellerinde spinal yüklenmenin 4 ayaklı hayvanlardan daha doğru olabileceğini de gösterir)İki ayaklı olmanın etkileri spinal kolonun koronal plan deformiteleri ile sınırlı olmayabilir. İlginç bir şekilde diğer planlar hayvanlarda bugüne kadar araştırılmadı. Ayrıca skolyozlu veya skolyozsuz, pelvis ve spinal kolon bileşkesindeki spinapelvik bileşkedeki olası yapısal değişiklikler nerdeyse bilinmiyor. Özellikle havyan modellerinde mantıken skolyotik deformitenin başlangıcı ekstansör ve rotasyonel momentlerin metabolik ve hormonal rahatsızlıklara sahip olan yatkın hayvanlarda skolyozun tetiklenmesi ile oluşabilmesi olasıdır (yukarda bahsedildiği gibi). Bu yüzden postural faktörler ile birlikte metabolik ve/veya hormonal faktörleri analiz etmek çok önemlidir-ki bu durumların yokluğunda deformite gelişmez.

Bipedal deneysel hayvanlarda spinal kolonun yapısal ve biyokimyasal değişikliklerinin analizi insanlarda spinal kolon dejeneratif problemlere de ışık tuttu. Bu çalışmalar birkaç temel soruyu da cevaplayabilir:

a. Hayvan modellerinde insanlara benzer patolojiler yansıtan bulgular benzer şekilde hayvan modellerindeki patolojilere benzer bulgular insan patolojilerini yansıtır mı?

b. Pinealektominin ve diğer anti-melatonin müdahalelerinin benzer biyokimyasal ve hormonal sonuçlara yol açtığı düşünülürse, neden tüm bipedal melatonin yoksunu hayvanlarda skolyoz gelişmiyor? Bunun açıklaması 3 boyutlu spinopelvik parametrelerin bu hayvanlarda analiz edilmesi sonrası mekanik veya postural olabilir, veya bizim kabulümüz gerçekte yanlıştı, ve;

c. Skolyozla ilgili büyüme ve/veya mekanik problemler skolyotik deformitenin oluşumundan önce mi yoksa sonra mı geliyor? Histomorfolojik analiz ile aynı zamanda spinal kolonun 3 boyutlu analizleri ile birlikte büyüme ve/veya mekanik bozuklukları tetikleyen olay belki deformiteyi üreten olayla birlikte belirlenebilir.

d. Hangi farmakolojik ajan (TMX,RLX,östrojen,NO vericiler) hangi zaman(lar)da, hangi mekanizma(lar) ile deformiteyi durdurup ve/veya geri çevirmede etkili olabilir?

e. AİS'un tam mekanizmasını belirleyecek noktada olmadığımızı bilerek,deformitenin oluşumundaki ve ilerlemesindeki patolojik mekanizmaları belirleyebilir miyiz? Ve bu temelde AİS'u insanlarda farmokolojik olarak tedavi edebilir miyiz?

f. Son olarak eğer oluşum ve ilerleme mekanizmaları bazı bireylerde(hayvanlarda) baskın olarak mekanik iken diğerlerinde biyokimyasal ise, bu altgrupları biz ayırabilir miyiz- ki böylece bir grubu mekanik yollarla tedavi ederek (bu grup belki de ortezlerden yarar görecektir) diğer grubu hormonal/farmokolojik yollarla (bu grup ortezlere daha dirençli olduğu varsayılarak) tedavi edebilir miyiz?

### 3. MATERYAL VE METODLAR

#### 3.1. Hayvanlar

Yüz elli altı tane C57B16 fare Avusturalya'dan Charles River laboratuvarlarından temin edildi. Bu fareler annelerinden güvenle ayrılacak zamana gelince (3 haftalıkken) Hacettepe Üniversitesi Canlı Hayvan Tesislerine ulaştırılıp proje boyunca bu tesiste gözlemlendi. Kafes başına 5-10 fare olacak şekilde kafeslerde korunacaklar ve merkezin akredite olduğu standart bakım protokollerine uygun bir şekilde sınırsız yemek ve su ile desteklendi.

Yirmi sekiz hayvan dört ayaklı bırakılacakken diğerleri tesise varır varmaz ön ayak amputasyonuna ve kuyruklarının kesilmesine maruz bırakıldı. Bu prosedürler genel anestezi altında uygulandı ve daha önceki ilgili raporlarda ayrıntılı bir şekilde anlatıldı (Akel ve ark 2009). Daha sonra bütün gruplar tablo 1'de anlatıldığı üzere gruplara ayrıldı.



**Şekil 3.** C57Bl6 fare

**Tablo 2. Çalışma planı**

Zaman	Dört ayaklı		Bipedal kontrol		Bipedal RLX		Bipedal E2		Bipedal NTG		Toplam
	RM	FM	RM	FM	RM	FM	RM	FM	RM	FM	
<b>5 hf</b>	5	5	7	7	0	0	0	0	0	0	24
<b>20 hf</b>	4	4	6	6	6	6	4	4	4	4	48
<b>40 hf</b>	5	4	8	8	8	8	3	3	4	5	56
<b>Toplam</b>	14	14	21	21	14	14	7	7	8	9	128*

RM: Ralph Marcucio, FM: Florina Moldovan, hf: hafta

RLX: Raloksifen, E2: Estradiol, NTG: Nitrogliserin, NO vericisi

\* Bizim laboratuvarımızda beklenen amputasyona bağlı mortalite % 10'dan azdır.

Farmakolojik ajanların uygulanması 5. haftadan itibaren günlük içme sularına katarak yapıldı. Ortalama fare vücut ağırlığı genelde başlangıçta 15 gramdır ve ortalama genelde günlük 3-5 ml su içerler. Vücut ağırlığı ile orantılı şekilde bu miktar artar. Bu çalışmada fareler için bu ajanlar ile ilgili belirlenmiş dozlar bulunmamakla birlikte önerilen insan dozları temel alınarak uygulanacak dozlar:

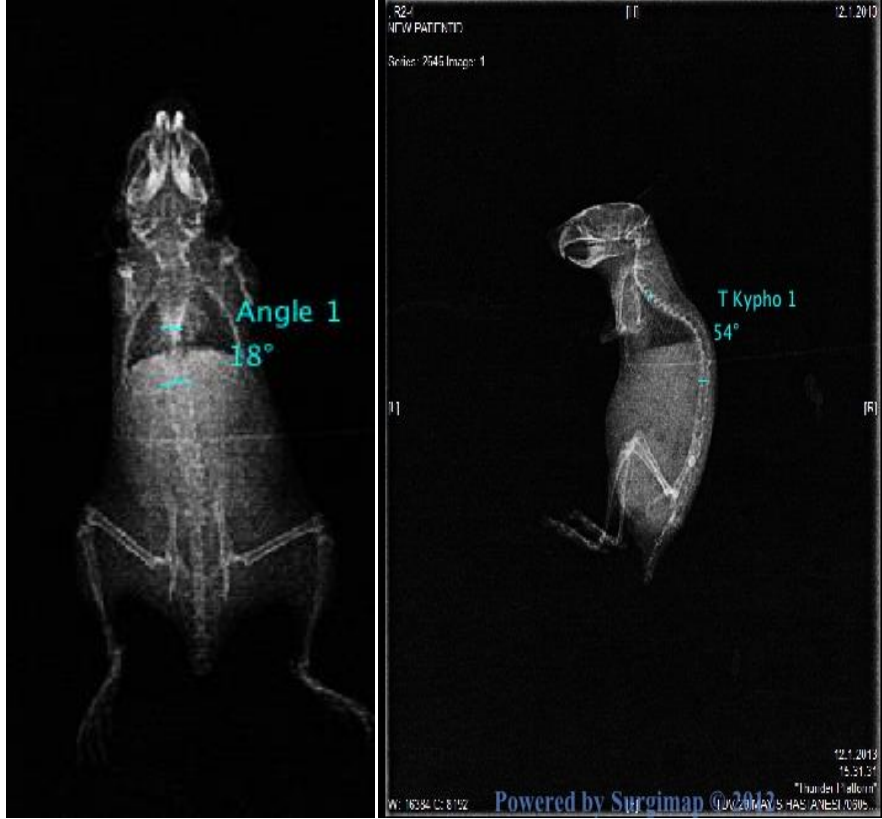
- 1 mg/kg/gün TMX
- 0,5 mg/kg/gün E2
- 0,2 mg/kg/gün NTG.

'5 hf' gruplara ayrılacak olan farelerden amputasyon sonrası 5. haftanın sonunda koronal ve sagittal olarak radyolojik görüntüleri (X R) çekilecek ve feda edildi (akel ve ark 2009), özel gruplara bölünecek ve ilgili merkezlere sertifikalı mektuplar ile gönderildi. Kalan bütün hayvanlar 20. haftanın sonunda X R leri çekildi, ve '20 hf' gruplarda olan bütün fareler feda edilerek ilgili merkezlere sertifikalı mektuplar ile gönderildi. '40 hf' gruplarda olan farelerde 40 haftanın sonunda X R çekilerek feda edilip gönderildi.

4 tane fare 5. haftaya gelene kadar kaybedildi. Yirmi iki fare amputasyon sırasında kaybedildi. Sonrasında 20. haftaya kadar 20 fare kaybedildi. Daha sonra fare kaybimiz olmadı.

### 3.2. Radyolojik Analiz:

X-R'ler ölçülebilen koronal eğim (skolyoz) ve sagittal parametrelerde torasik kifoz, lomber lordoz, spinopelvik açı, spinosakral açı ve pelvis eğime göre analiz edilecek. Bu ölçümler (ve skolyoz insidansı) değişik gruplarda çalışmanın 20. ve 40. haftalarında gelişimleri boyunca kıyaslanacak.



**Şekil 4.** Ön arka ve yan grafi ve ölçüm örneği (Surgimap kullanılmıştır)

### 3.3. Büyüme plağı analizi:

UCSF'ya gönderilen spesimenler Ralph Marcucio tarafından histomorfometre ve büyüme plakları fiziksel karakterleri açısından analiz edilecek.

### **3.4.Osteoblastlarda östrojen (E2) ve melatonin (M) reseptörleri açısından**

Saint Justine'e gönderilen spesimenler Florina Moldovan tarafından osteoblastlarda östrojen (E2) ve melatonin (M) reseptörleri açısından karakterleri açısından analiz edilecek.

### **3.5. İstatiksel Analiz**

Çalışmanın istatiksel analizinde SPSS14 kullanılmıştır. İstatiksel olarak  $p<0.05$  anlamlı olarak kabul edilmiştir. Ölçülen skolyoz derecelerinin 5., 20. ve 40. hafta minimum ve maksimum dereceleri belirlenmiştir. Her haftaya göre gruplar içerisinde skolyoz açısı, torakal kifoz açısı, lomber lordoz açısı, spinopelvik ve spinosakral açılar, pelvis eğimi, pelvis ve omurga kemik dansitometri sonuçları değerlendirilmiştir. Beşinci haftada sadece Kuadripedal ve bipedal gruplar arasında değerlendirme yapıldığı için Mann-Whitney U ile ölçümler karşılaştırılmıştır. Yirminci ve 40. haftalarda gruplar 2'den fazla olduğu için Kruskal Wallis testi ile incelenmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1 Skolyoz

**Tablo 3.** Gruplara göre Cobb açısı değerleri

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	12	9.6	8.1	5.0	14.2	5.0	13.0	0.0	22.0
Hafta 20	28	11.9	9.0	8.6	15.3	11.5	13.0	0.0	35.0
Hafta 40	13	16.5	12.8	9.5	23.4	15.0	21.0	0.0	39.0
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	28	12.4	7.3	9.6	15.1	11.5	9.0	0.0	26.0
Hafta 40	15	18.7	16.1	10.6	26.9	13.0	33.0	0.0	43.0
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	22.9	18.0	14.6	31.2	20.5	17.0	0.0	73.0
Hafta 40	6	25.2	18.8	10.1	40.2	21.5	25.0	0.0	53.0
<u>Nitrogliserin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	17.3	14.4	10.7	24.0	16.5	22.0	0.0	44.0
Hafta 40	8	18.4	13.0	9.3	27.4	17.0	22.0	3.0	38.0
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	9	8.1	5.5	4.5	11.7	6.0	9.0	2.0	17.0
Hafta 20	15	18.8	10.4	13.5	24.1	15.0	14.0	8.0	42.0
Hafta 40	9	23.3	10.2	16.6	30.0	23.0	8.0	11.0	40.0
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	21	9.0	7.0	6.0	11.9	5.0	10.0	0.0	22.0
Hafta 20	107	15.8	12.3	13.4	18.1	13.0	16.0	0.0	73.0
Hafta 40	51	19.7	14.0	15.8	23.5	16.0	27.0	0.0	53.0

CI: confidence interval, IQR: interquartile range, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 14 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $9.6 \pm 8.1$  derece, ortanca değeri 5 derece hesaplandı. Bipedal grupta 20. haftada kalan 28 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $11.9 \pm 9$  derece, ortanca değeri 11.5 derece hesaplandı. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $11.9 \pm 9$  derece, ortanca değeri 11.5 derece hesaplandı.

Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 28 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $12.4 \pm 7.3$  derece, ortanca değeri 11.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 15 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $18.7 \pm 16.1$  derece, ortanca değeri 13 derece hesaplandı.

Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $22.9 \pm 18$  derece, ortanca değeri 20.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 15 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $25.2 \pm 18.8$  derece, ortanca değeri 21.5 derece hesaplandı.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $17.3 \pm 14.4$  derece, ortanca değeri 16.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 8 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $18.4 \pm 13$  derece, ortanca değeri 17 derece hesaplandı.

Kuadripedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 9 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $8.1 \pm 5.5$  derece, ortanca değeri 6 derece hesaplandı. Yirminci haftada kalan 17 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $18.8 \pm 10.4$  derece, ortanca değeri 6 derece hesaplandı. Kırkıncı haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama Cobb açısı  $23.3 \pm 10.2$  derece, ortanca değeri 23 derece hesaplandı.

Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 21 farede ortalama Cobb açısı  $9 \pm 7$  derece, ortanca değer 5 derece ölçüldü. 20. Haftada kalan 107 farede ortalama Cobb açısı  $15.8 \pm 12.3$ , ortanca değer 13 derece ölçüldü. 40. Haftada kalan 51 farede ortalama Cobb açısı  $19.7 \pm 14$ , ortanca değer 16 derece ölçüldü.

**Tablo 4.** Beşinci haftadaki skolyoz insidansı

	<b>5. Haftada skolyoz varlığı</b>					
	Bipedal		<u>Kuadripedal</u>		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Skolyoz yok (<=5)	7	58.3	4	44.4	11	52.4
Skolyoz var (>5)	5	41.7	5	55.6	10	47.6
Toplam	12	100.0	9	100.0	21	100.0

Comparison	Test	P	Significance level
Bipedal vs. <u>Kuadripedal</u>	Chi square	0.528	<0.05

5. haftada skolyoz varlığı açısından bakıldığında; 5 derecelik Cobb açısı skolyoz için sınır kabul edilirse bipedal grupta 7 (58.3 %), kuadripedal grupta 4 farede (44.4 %), toplamda 11 farede (52.4 %) skolyoz yok. Skolyoz ise bipedal grupta 5 (41.7 %), kuadripedal grupta 5 farede (55.6 %), toplamda 10 farede (47.6 %) saptanmış. İki grup kıyaslanınca anlamlı bir fark yok (p=0.528).

**Tablo 5.** Yirminci haftadaki skolyoz insidansı

	<b>20. hafta skolyoz varlığı</b>											
	Bipedal		<u>Raloksifen</u>		Estradiol		Nitrogliserin		<u>Kuadripedal</u>		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Skolyoz yok (<=5)	8	28.6	5	17.9	3	16.7	6	33.3	0	0.0	22	20.6
Skolyoz var (>5)	20	71.4	23	82.1	15	83.3	12	66.7	15	100.0	85	79.4
Toplam	28	100.0	28	100.0	18	100.0	18	100.0	15	100.0	107	100.0

Comparison	Test	P	Significance level
All <u>gruplars</u>	Chi square	0.132	<0.05

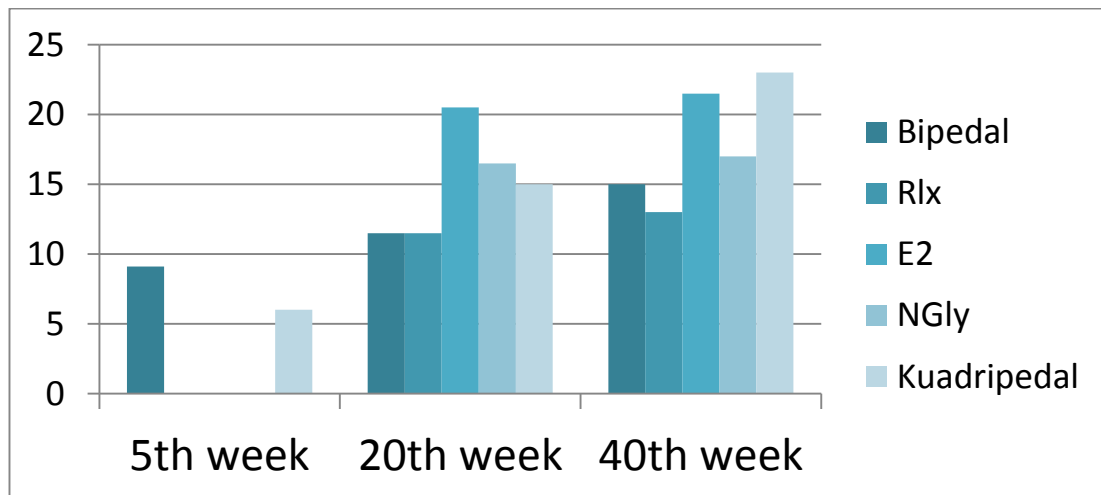
5. haftada skolyoz varlığı açısından bakıldığında; 5 derecelik Cobb açısı skolyoz için sınır kabul edilirse bipedal grupta 8 (28.6 %), kuadripedal grupta 0 farede (0 %), raloksifen grubunda 5 (17.9 %), estradiol grubunda 3 (16.7 %), nitrogliserin grubunda 6 (33.3 %); toplamda 22 farede (20.6 %) skolyoz yok. Skolyoz ise bipedal grupta 20 (71.4 %), kuadripedal grupta 15 farede (100 %), raloksifen grubunda 23 (82.1 %), estradiol grubunda 15 (83.3 %), nitrogliserin grubunda 12 (66.7 %); toplamda 85 farede (79.4 %) saptanmış. Gruplar kıyaslanınca anlamlı bir fark bulunamadı(p=0.132).

**Tablo 6.** Kırkıncı haftadaki skolyoz insidansı

	40. hafta skolyoz varlığı											
	Bipedal		Raloksifen		Estradiol		Nitrogliserin		Kvadripedal		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Skolyoz yok (<=5)	3	10.7	4	14.3	1	5.6	1	5.6	0	0.0	9	8.4
Skolyoz var (>5)	10	35.7	11	39.3	5	27.8	7	38.9	9	60.0	42	39.3
Toplam	13	46.4	15	53.6	6	33.3	8	44.4	9	60.0	51	47.7

Comparison	Test	P	Significance level
All gruplars	Chi square	Bazı gruplardaki yetersiz örnek sayısı nedeniyle hesaplanamadı	<0.05

40. haftada skolyoz varlığı açısından bakıldığında; 5 derecelik Cobb açısı skolyoz için sınır kabul edilirse bipedal grupta 3 (10.7 %), kvadripedal grupta 0 farede (0 %), raloksifen grubunda 4 (14.3 %), estradiol grubunda 1 (5.6 %), nitrogliserin grubunda 1 (5.6 %); toplamda 9 farede (8.4 %) skolyoz yok. Skolyoz ise bipedal grupta 10 (35.7 %), kvadripedal grupta 9 farede (100 %), raloksifen grubunda 11 (39.3 %), estradiol grubunda 5 (27.8 %), nitrogliserin grubunda 7 (38.9 %); toplamda 42 farede (39.3 %) saptanmış. Bazı gruplardaki yetersiz örnek sayısı nedeniyle gruplar arası fark hesaplanamadı.

**Grafik 1.** Haftalara göre skolyoz insidansları

Kvadripedal gruptaki 20. ve 40. hafta sonuçları değerlendirildiğinde anlamlı bir artış olduğu görülmektedir ( $p=0.035$ ).

## 4.2 Torasik Kifoz

**Tablo 6.** Gruplara göre torasik kifoz açıları

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	Ortanca	IQR	Minimum	Maksimum
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	14	56.8	12.7	50.1	63.4	60.0	15.0	26.0	77.0
Hafta 20	29	48.5	14.0	43.4	53.6	48.0	14.0	21.0	76.0
Hafta 40	16	45.5	8.4	41.4	49.6	44.0	8.5	30.0	63.0
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	29	54.6	15.3	49.0	60.1	62.0	20.0	21.0	78.0
Hafta 40	16	48.6	10.3	43.5	53.6	46.5	14.0	37.0	70.0
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	58.8	9.8	54.3	63.4	60.0	15.0	40.0	74.0
Hafta 40	6	48.8	8.7	41.9	55.8	48.5	15.0	38.0	59.0
<u>Nitrogliserin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	61.1	10.2	56.3	65.8	63.0	14.0	41.0	81.0
Hafta 40	9	52.7	9.8	46.3	59.1	53.0	15.0	41.0	67.0
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	10	57.8	12.4	50.1	65.5	55.5	15.0	36.0	76.0
Hafta 20	17	45.8	12.3	39.9	51.6	43.0	16.0	26.0	67.0
Hafta 40	9	44.6	8.8	38.8	50.3	43.0	11.0	32.0	59.0
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	24	57.2	12.3	52.3	62.1	59.5	15.0	26.0	77.0
Hafta 20	111	53.4	13.9	50.8	56.0	56.0	19.0	21.0	81.0
Hafta 40	56	47.7	9.4	45.3	50.2	44.5	13.0	30.0	70.0

GA: güvenli aralık, ÇAG: çeyrekler arası genişlik, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 14 farede ölçülen ortalama kifoz açısı  $56.8 \pm 12.7$  derece, ortanca değeri 60 derece hesaplandı. Bipedal grupta 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama kifoz açısı  $48.5 \pm 14$  derece, ortanca değeri 48 derece hesaplandı. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama kifoz açısı  $45.5 \pm 8.4$  derece, ortanca değeri 44 derece hesaplandı.

Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama kifoz açısı  $54.6 \pm 15.3$  derece, ortanca değeri 62 derece hesaplandı. 40. haftada

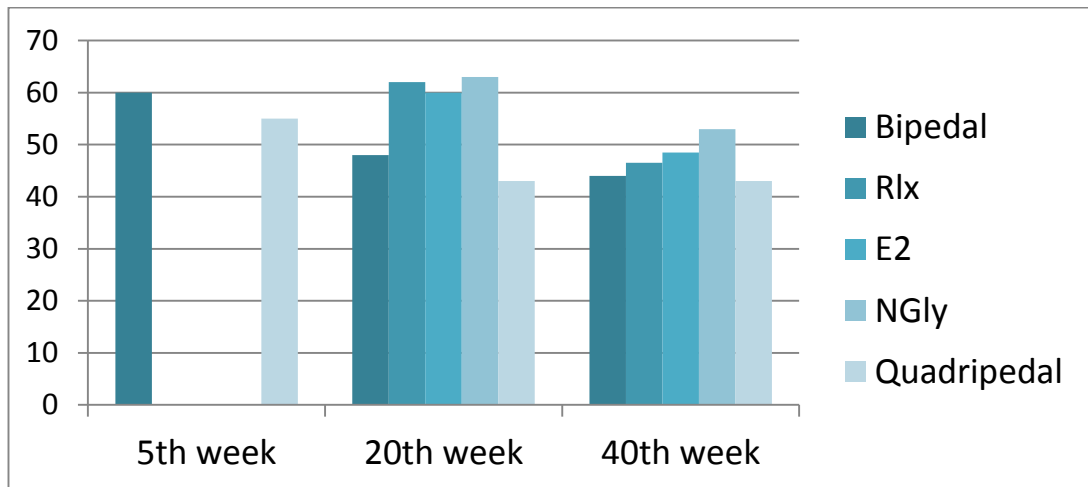
kalan 16 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $48.6 \pm 10.3$  derece, ortanca değeri 46.5 derece hesaplandı.

Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $58.8 \pm 9.8$  derece, ortanca değeri 60 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 6 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $48.8 \pm 8.7$  derece, ortanca değeri 48.5 derece hesaplandı.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $61.1 \pm 10.2$  derece, ortanca değeri 63 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $52.7 \pm 9.8$  derece, ortanca değeri 53 derece hesaplandı.

Kuadripedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 10 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $57.8 \pm 12.4$  derece, ortanca değeri 55.5 derece hesaplandı. Yirminci haftada kalan 17 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $45.8 \pm 12.3$  derece, ortanca değeri 43 derece hesaplandı. Kırkıncı haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama kifoza açısı  $44.6 \pm 8.8$  derece, ortanca değeri 43 derece hesaplandı.

Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama torakal kifoza açısı  $57.2 \pm 12.3$  derece, ortanca değer 59.5 derece ölçüldü. 20. haftada kalan 111 farede ortalama torakal kifoza açısı  $53.4 \pm 13.9$ , ortanca değer 56 derece ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama torakal kifoza açısı  $47.7 \pm 9.4$ , ortanca değer 44.5 derece ölçüldü.



**Grafik 2.** Haftalara göre torasik kifoza ölçümleri

### 4.3 Lomber Lordoz

**Tablo 7.** Gruplara göre lomber lordoz açıları

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	14	5.3	3.1	3.7	6.9	5.5	3.0	0.0	12.0
Hafta 20	29	4.9	6.3	2.6	7.2	5.0	5.0	-8.0	20.0
Hafta 40	16	6.8	4.5	4.6	9.0	7.5	6.5	-4.0	14.0
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	29	8.3	8.9	5.0	11.5	5.0	10.0	-11.0	29.0
Hafta 40	16	4.2	6.2	1.1	7.2	4.0	5.5	-14.0	15.0
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	1.8	6.8	-1.4	4.9	3.0	4.0	-15.0	13.0
Hafta 40	6	4.8	2.9	2.5	7.2	4.5	5.0	1.0	8.0
<u>Nitroglicerin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	4.7	3.0	3.3	6.1	4.0	3.0	1.0	14.0
Hafta 40	9	4.0	1.5	3.0	5.0	4.0	2.0	2.0	7.0
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	10	6.5	4.0	4.1	8.9	6.0	5.0	1.0	13.0
Hafta 20	17	7.8	4.6	5.6	9.9	7.0	5.0	1.0	16.0
Hafta 40	9	7.8	5.2	4.4	11.2	8.0	8.0	1.0	17.0
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	24	5.8	3.5	4.4	7.2	6.0	3.5	0.0	13.0
Hafta 20	111	5.7	6.9	4.4	6.9	5.0	6.0	-15.0	29.0
Hafta 40	56	5.6	4.9	4.3	6.8	5.0	5.5	-14.0	17.0

: güvenli aralık, ÇAG: çeyrekler arası genişlik, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 14 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $5.3 \pm 3.1$  derece, ortanca değeri 3 derece hesaplandı. Bipedal grupta 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $4.9 \pm 6.3$  derece, ortanca değeri 5 derece hesaplandı. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $6.8 \pm 4.5$  derece, ortanca değeri 7.5 derece hesaplandı.

Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $8.3 \pm 8.9$  derece, ortanca değeri 5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $4.2 \pm 6.2$  derece, ortanca değeri 4 derece hesaplandı.

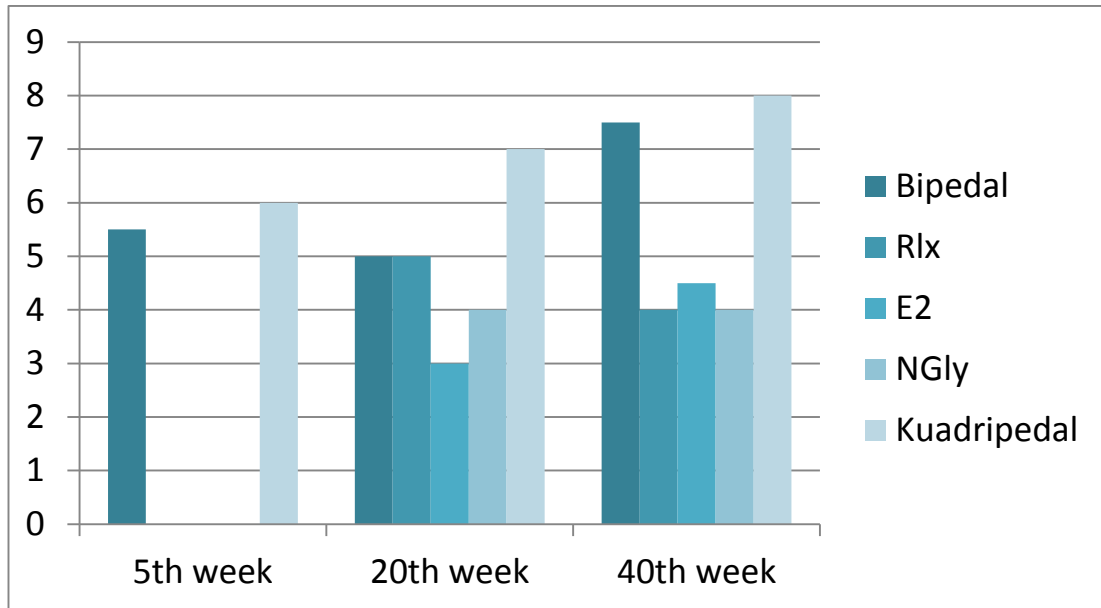
Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $1.8 \pm 6.8$  derece, ortanca değeri 3 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 6 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $4.8 \pm 2.9$  derece, ortanca değeri 4.5 derece hesaplandı.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $4.7 \pm 3$  derece, ortanca değeri 4 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $4 \pm 1.5$  derece, ortanca değeri 4 derece hesaplandı.

Kuadripedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 10 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $6.5 \pm 4$  derece, ortanca değeri 6 derece hesaplandı. Yirminci haftada kalan 17 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $7.8 \pm 4.6$  derece, ortanca değeri 7 derece hesaplandı. Kırkıncı haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama lordoz açısı  $7.8 \pm 5.2$  derece, ortanca değeri 8 derece hesaplandı.

Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama lomber lordoz açısı  $5.8 \pm 3.5$  derece, ortanca değer 6 derece ölçüldü. 20. haftada kalan 111 farede ortalama lomber lordoz açısı  $5.7 \pm 6.9$ , ortanca değer 5 derece ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama lomber lordoz açısı  $5.6 \pm 4.9$ , ortanca değer 5 derece ölçüldü.





**Grafik 3.** Haftalara göre lomber lordoz açısı

#### 4.4 Spinopelvik Açı

**Tablo 8.** Gruplara göre spinopelvik açılar

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	14	97.4	27.4	83.1	111.8	108.0	57.0	58.0	135.0
Hafta 20	29	111.9	12.6	107.4	116.5	114.0	19.0	84.0	133.0
Hafta 40	16	110.8	9.2	106.3	115.3	112.5	11.5	93.0	126.0
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	29	109.5	11.9	105.2	113.8	107.0	13.0	86.0	139.0
Hafta 40	16	108.1	17.4	99.5	116.6	108.5	10.0	49.0	129.0
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	97.9	9.5	93.6	102.3	97.5	15.0	82.0	114.0
Hafta 40	6	112.7	7.0	107.1	118.2	111.5	9.0	106.0	124.0
<u>Nitrogliserin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	102.1	7.7	98.5	105.6	100.5	12.0	90.0	117.0
Hafta 40	9	107.1	24.5	91.1	123.1	114.0	7.0	54.0	138.0
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	10	124.0	22.5	110.0	138.0	128.5	8.0	64.0	144.0
Hafta 20	17	106.3	9.8	101.7	110.9	104.0	11.0	94.0	130.0
Hafta 40	9	116.6	8.6	111.0	122.1	115.0	7.0	107.0	131.0
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	24	108.5	28.4	97.2	119.8	117.5	39.5	58.0	144.0
Hafta 20	111	106.6	11.8	104.4	108.7	106.0	15.0	82.0	139.0
Hafta 40	56	110.6	14.8	106.7	114.4	112.5	10.0	49.0	138.0

GA: güvenli aralık, ÇAG: çeyrekler arası genişlik, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 14 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $97.4 \pm 27.4$  derece, ortanca değeri 108 derece hesaplandı. Bipedal grupta 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $111.9 \pm 12.6$  derece, ortanca değeri 114 derece hesaplandı. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $110.8 \pm 9.2$  derece, ortanca değeri 112.5 derece hesaplandı.

Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $109.5 \pm 11.9$  derece, ortanca değeri 107 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $108.1 \pm 17.4$  derece, ortanca değeri 108.5 derece hesaplandı.

Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $97.9 \pm 9.5$  derece, ortanca değeri 97.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 6 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $112.7 \pm 7$  derece, ortanca değeri 111.5 derece hesaplandı.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $102.1 \pm 7.7$  derece, ortanca değeri 100.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $116.6 \pm 8.6$  derece, ortanca değeri 115 derece hesaplandı.

Kuadripedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 10 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $124 \pm 22.5$  derece, ortanca değeri 128.5 derece hesaplandı. Yirminci haftada kalan 17 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $106.3 \pm 9.8$  derece, ortanca değeri 104 derece hesaplandı. Kırkıncı haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama spinopelvik açısı  $116.6 \pm 8.6$  derece, ortanca değeri 115 derece hesaplandı.

Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama spinopelvik açısı  $108.5 \pm 28.4$  derece, ortanca değer 117.5 derece ölçüldü. 20. haftada kalan 111 farede ortalama spinopelvik açısı  $106.6 \pm 11.8$ , ortanca değer 106 derece ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama spinopelvik açısı  $110.6 \pm 14.8$ , ortanca değer 112.5 derece ölçüldü.

## 4.5 Spinosakral Açı

**Tablo 9.** Gruplara göre spinosakral açıları

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<b>Bipedal</b>									
Hafta 5	14	82.2	32.7	65.1	99.3	63.5	64.0	52.0	136.0
Hafta 20	29	46.6	7.8	43.8	49.4	50.0	12.0	32.0	58.0
Hafta 40	16	56.5	11.2	51.0	62.0	56.5	18.0	36.0	78.0
<b><u>Raloksifen</u></b>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	29	42.8	9.9	39.2	46.3	45.0	13.0	17.0	59.0
Hafta 40	16	59.8	12.0	53.9	65.6	57.0	9.0	45.0	97.0
<b><u>Estradiol</u></b>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	47.1	8.8	43.1	51.2	44.5	16.0	35.0	65.0
Hafta 40	6	57.3	7.5	51.4	63.3	56.5	10.0	48.0	69.0
<b><u>Nitrogliserin</u></b>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	49.2	8.0	45.5	52.8	49.5	11.0	39.0	65.0
Hafta 40	9	63.1	17.0	52.0	74.2	61.0	8.0	43.0	104.0
<b><u>Kuadripedal</u></b>									
Hafta 5	10	78.1	19.3	66.1	90.1	72.0	11.0	61.0	130.0
Hafta 20	17	60.1	9.7	55.5	64.6	57.0	11.0	49.0	84.0
Hafta 40	9	67.6	7.9	62.4	72.7	64.0	13.0	60.0	80.0
<b><u>Bütün gruplar</u></b>									
Hafta 5	24	80.5	27.5	69.5	91.5	69.5	39.0	52.0	136.0
Hafta 20	111	48.2	10.3	46.2	50.1	48.0	13.0	17.0	84.0
Hafta 40	56	60.4	12.0	57.2	63.5	60.5	11.0	36.0	104.0

GA: güvenli aralık, ÇAG: çeyrekler arası genişlik, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 14 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $82.2 \pm 32.7$  derece, ortanca değeri 63.5 derece hesaplandı. Bipedal grupta 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $46.6 \pm 7.8$  derece, ortanca değeri 50 derece hesaplandı. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $56.5 \pm 11.2$  derece, ortanca değeri 56.5 derece hesaplandı.

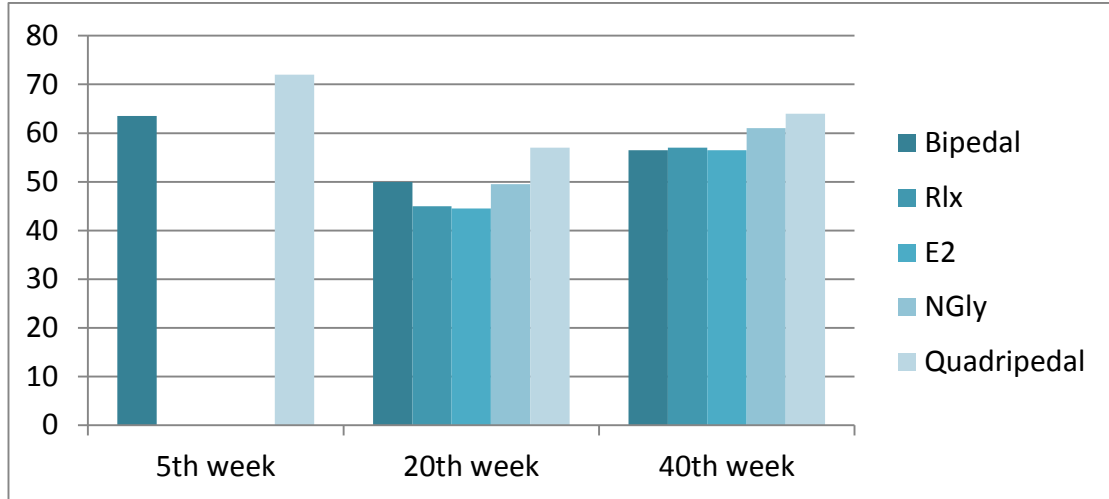
Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $42.8 \pm 9.9$  derece, ortanca değeri 45 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $59.8 \pm 12$  derece, ortanca değeri 57 derece hesaplandı.

Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $49.2 \pm 8$  derece, ortanca değeri 49.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 6 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $57.3 \pm 7.5$  derece, ortanca değeri 56.5 derece hesaplandı.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $49.2 \pm 8$  derece, ortanca değeri 49.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $63.1 \pm 17$  derece, ortanca değeri 61 derece hesaplandı.

Kuadripedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 10 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $78.1 \pm 19.3$  derece, ortanca değeri 72 derece hesaplandı. Yirminci haftada kalan 17 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $60.1 \pm 9.7$  derece, ortanca değeri 57 derece hesaplandı. Kırkıncı haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama spinosakral açısı  $67.6 \pm 7.9$  derece, ortanca değeri 64 derece hesaplandı.

Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama spinosakral açısı  $80.5 \pm 27.5$  derece, ortanca değer 69.5 derece ölçüldü. 20. haftada kalan 111 farede ortalama spinosakral açısı  $48.2 \pm 10.3$ , ortanca değer 48 derece ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama spinosakral açısı  $60.4 \pm 12$ , ortanca değer 60.5 derece ölçüldü.



**Grafik 4.** Haftalara göre spinosakral açı

Bipedal grupta 20. Hafta ve 40. Hafta sonuçları kıyaslandığında anlamlı bir artış saptanmış ( $p=0.01$ ). Raloksifen grubunda 20. Ve 40. Hafta sonuçları değerlendirildiğinde anlamlı bir artış saptanmış ( $p=0.001$ ). Östrojen grubu değerlendirildiğinde 20. Ve 40. Haftalarda sonuçlarda anlamlı artış görüldü ( $p=0.008$ ). Nitrogliserin grubu 20. Ve 40. Hafta sonuçları değerlendirildiğinde yine anlamlı bir artış görüldü ( $p=0.015$ ).

## 4.6 Pelvik Eğim

**Tablo 10.** Gruplara göre pelvik inkline aıllar

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	14	14.3	7.1	10.5	18.0	14.0	11.0	3.0	26.0
Hafta 20	29	15.4	8.0	12.6	18.3	16.0	11.0	1.0	29.0
Hafta 40	16	12.3	9.2	7.7	16.8	9.5	14.0	1.0	28.0
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	29	14.8	6.1	12.6	17.0	14.0	8.0	5.0	26.0
Hafta 40	16	13.6	8.4	9.5	17.7	12.0	13.0	2.0	32.0
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	18.7	7.1	15.4	22.0	18.5	9.0	9.0	34.0
Hafta 40	6	13.8	10.6	5.4	22.3	12.5	16.0	4.0	30.0
<u>Nitrogliserin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	13.4	7.8	9.8	17.0	11.5	15.0	4.0	29.0
Hafta 40	9	11.9	6.5	7.6	16.2	14.0	11.0	3.0	18.0
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	10	9.6	6.9	5.3	13.9	9.0	15.0	1.0	19.0
Hafta 20	17	20.8	4.9	18.4	23.1	19.0	7.0	12.0	31.0
Hafta 40	9	16.9	5.4	13.3	20.4	18.0	8.0	9.0	23.0
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	24	12.3	7.3	9.4	15.2	12.0	11.5	1.0	26.0
Hafta 20	111	16.3	7.3	14.9	17.6	17.0	11.0	1.0	34.0
Hafta 40	56	13.5	8.1	11.4	15.6	13.0	12.0	1.0	32.0

GA: güvenli aralık, ÇAG: eyrekler arası genişlik, N: rnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 14 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $14.3 \pm 7.1$  derece, ortanca değeri 14 derece hesaplandı. Bipedal grupta 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $15.4 \pm 8$  derece, ortanca değeri 16 derece hesaplandı. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $12.3 \pm 9.2$  derece, ortanca değeri 9.5 derece hesaplandı.

Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 29 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $14.8 \pm 6.1$  derece, ortanca değeri 14 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 16 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $13.6 \pm 8.4$  derece, ortanca değeri 12 derece hesaplandı.

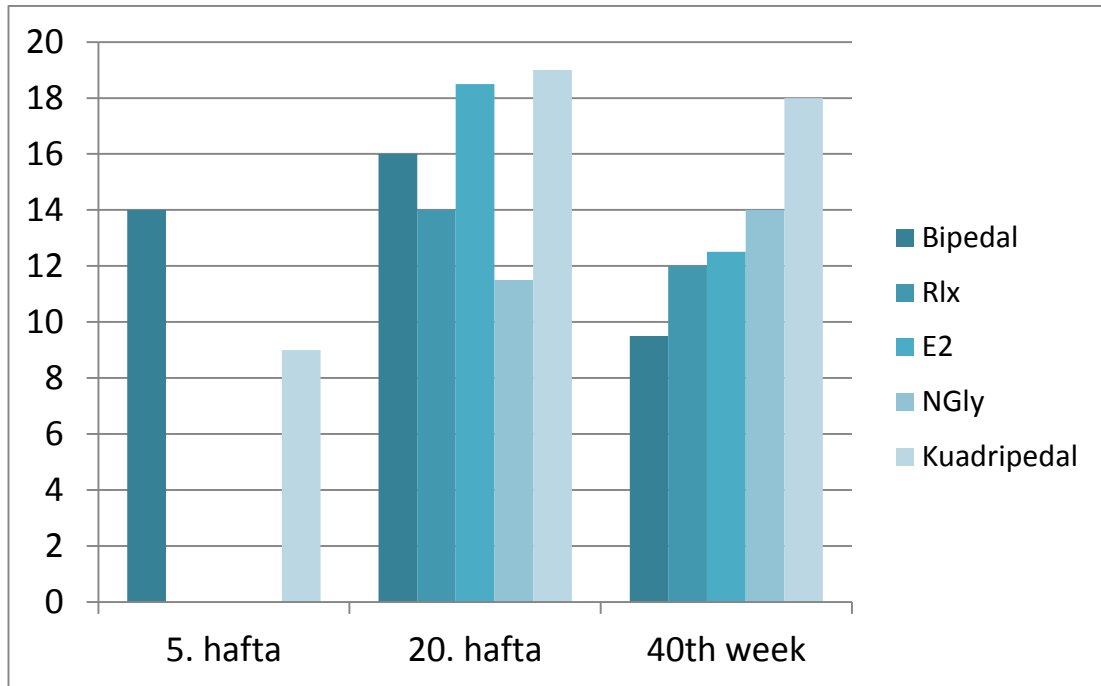
Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $18.7 \pm 7.1$  derece, ortanca değeri 18.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 6 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $13.8 \pm 10.6$  derece, ortanca değeri 12.5 derece hesaplandı.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $13.4 \pm 7.8$  derece, ortanca değeri 11.5 derece hesaplandı. 40. haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $11.9 \pm 6.5$  derece, ortanca değeri 14 derece hesaplandı.

Kuadripedal grupta 5. Haftada sakrifiye edilen 10 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $9.6 \pm 6.9$  derece, ortanca değeri 9 derece hesaplandı. Yirminci haftada kalan 17 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $20.8 \pm 4.9$  derece, ortanca değeri 19 derece hesaplandı. Kırkıncı haftada kalan 9 farede ölçülen ortalama pelvik inkline  $16.9 \pm 5.4$  derece, ortanca değeri 18 derece hesaplandı.

Farelerin tamamına bakıldığında 5. haftada 24 farede ortalama pelvik inkline  $12.3 \pm 7.3$  derece, ortanca değer 12 derece ölçüldü. 20. haftada kalan 111 farede ortalama pelvik inkline  $16.3 \pm 7.3$ , ortanca değer 17 derece ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama pelvik inkline  $13.5 \pm 8.1$ , ortanca değer 13 derece ölçüldü.





**Grafik 5.** Haftalara göre pelvik inkline değeri

## 4.7 Pelvis Kemik Dansitometre

**Tablo 11.** Gruplara göre pelvis kemik dansitometre değerleri

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	27	0.051	0.005	0.050	0.053	0.052	0.006	0.043	0.062
Hafta 40	16	0.053	0.007	0.050	0.057	0.052	0.008	0.039	0.068
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	28	0.049	0.007	0.046	0.051	0.048	0.006	0.039	0.075
Hafta 40	16	0.053	0.009	0.049	0.058	0.054	0.010	0.038	0.078
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	0.053	0.007	0.049	0.056	0.051	0.013	0.040	0.066
Hafta 40	6	0.058	0.006	0.053	0.063	0.060	0.010	0.050	0.065
<u>Nitrogliserin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	0.048	0.006	0.045	0.051	0.049	0.009	0.040	0.060
Hafta 40	9	0.051	0.006	0.047	0.055	0.053	0.008	0.042	0.061
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	17	0.053	0.007	0.050	0.056	0.050	0.006	0.045	0.067
Hafta 40	9	0.052	0.008	0.047	0.057	0.056	0.010	0.039	0.059
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	108	0.051	0.006	0.049	0.052	0.050	0.008	0.039	0.075
Hafta 40	56	0.053	0.008	0.051	0.055	0.053	0.009	0.038	0.078

GA: güvenli aralık, ÇAG: çeyrekler arası genişlik, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 20. haftada kalan 27 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.051 \pm 0.005$ , ortanca değeri 0.052 ölçüldü. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.053 \pm 0.007$ , ortanca değeri 0.052 ölçüldü.

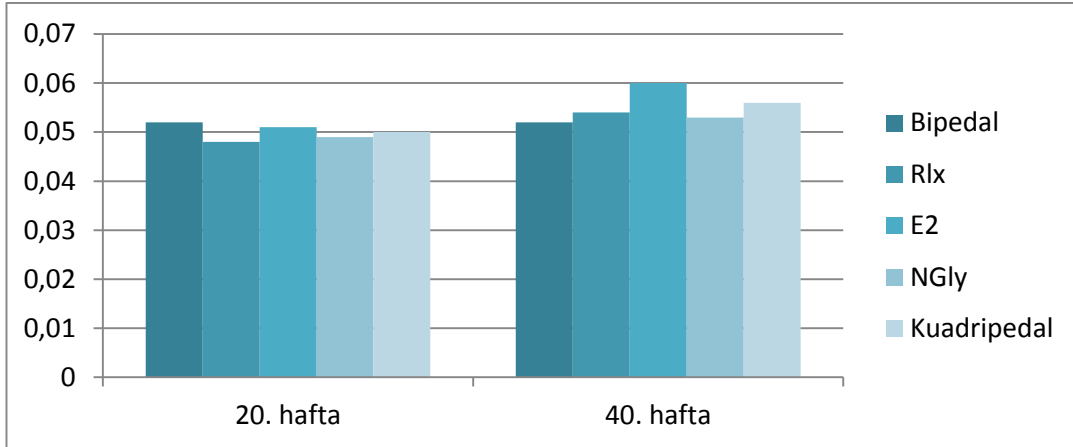
Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 28 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.049 \pm 0.007$ , ortanca değeri 0.048 ölçüldü. 40. haftada kalan 16 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.053 \pm 0.009$ , ortanca değeri 0.054 ölçüldü.

Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.053 \pm 0.007$ , ortanca değeri 0.051 ölçüldü. 40. haftada kalan 6 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.058 \pm 0.006$ , ortanca değeri 0.060 ölçüldü.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.048 \pm 0.006$ , ortanca değeri 0.049 ölçüldü. 40. haftada kalan 9 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.051 \pm 0.006$ , ortanca değeri 0.053 ölçüldü.

Kuadripedal grupta 20. haftada kalan 17 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.053 \pm 0.007$ , ortanca değeri 0.050 ölçüldü. 40. haftada kalan 9 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.052 \pm 0.008$ , ortanca değeri 0.056 ölçüldü.

Farelerin tamamına 20. haftada kalan 108 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.051 \pm 0.006$ , ortanca değer 0.050 ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.053 \pm 0.008$ , ortanca değer 0.053 derece ölçüldü.



**Grafik 6.** Haftalara göre pelvis kemik dansitometre değerleri

Raloksifen grubunun 20. Ve 40. Hafta pelvis kemik dansitometre sonuçları değerlendirildiğinde anlamlı bir artış saptandı ( $p=0.041$ ).

## 4.8 Omurga Kemik Dansitometre

**Tablo 12.** Gruplara göre omurga kemik dansitometre değerleri

	N	Ortalama	SD	95% CI-lower	95% CI-upper	<u>Ortanca</u>	IQR	Minimum	<u>Maksimum</u>
<u>Bipedal</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	27	0.054	0.007	0.051	0.057	0.054	0.006	0.045	0.076
Hafta 40	16	0.058	0.008	0.054	0.061	0.058	0.010	0.047	0.076
<u>Raloksifen</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	28	0.057	0.009	0.054	0.061	0.058	0.009	0.039	0.091
Hafta 40	16	0.060	0.015	0.053	0.067	0.058	0.011	0.045	0.109
<u>Estradiol</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	0.055	0.006	0.052	0.058	0.056	0.009	0.046	0.065
Hafta 40	6	0.066	0.007	0.060	0.072	0.067	0.014	0.058	0.075
<u>Nitrogliserin</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	18	0.054	0.011	0.049	0.059	0.053	0.007	0.042	0.092
Hafta 40	9	0.057	0.005	0.053	0.060	0.057	0.006	0.048	0.065
<u>Kuadripedal</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	17	0.056	0.006	0.053	0.059	0.056	0.008	0.045	0.066
Hafta 40	9	0.054	0.006	0.051	0.058	0.053	0.005	0.047	0.066
<u>Bütün gruplar</u>									
Hafta 5	0								
Hafta 20	108	0.055	0.008	0.054	0.057	0.054	0.009	0.039	0.092
Hafta 40	56	0.059	0.010	0.056	0.061	0.058	0.011	0.045	0.109

GA: güvenli aralık, ÇAG: çeyrekler arası genişlik, N: örnek sayısı, SD: standart sapma

Sonuçlara bakıldığında bipedal grupta 20. haftada kalan 27 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.054 \pm 0.007$ , ortanca değeri 0.054 ölçüldü. Bipedal grupta 40. haftada kalan 16 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.058 \pm 0.008$ , ortanca değeri 0.058 ölçüldü.

Raloksifen grubunda 20. haftada kalan 28 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.057 \pm 0.009$ , ortanca değeri 0.058 ölçüldü. 40. haftada kalan 16 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.060 \pm 0.015$ , ortanca değeri 0.058 ölçüldü.

Estradiol grubunda 20. haftada kalan 18 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.055 \pm 0.006$ , ortanca değeri 0.056 ölçüldü. 40. haftada kalan 6 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.066 \pm 0.007$ , ortanca değeri 0.067 ölçüldü.

Nitrogliserin grubunda 20. haftada kalan 18 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.057 \pm 0.005$ , ortanca değeri 0.057 ölçüldü. 40. haftada kalan 9 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.057 \pm 0.005$ , ortanca değeri 0.057 ölçüldü.

Kuadripedal grupta 20. haftada kalan 17 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.056 \pm 0.006$ , ortanca değeri 0.056 ölçüldü. 40. haftada kalan 9 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.054 \pm 0.006$ , ortanca değeri 0.053 ölçüldü.

Farelerin tamamına 20. haftada kalan 108 farede ortalama omurga kemik dansitometre değeri  $0.055 \pm 0.008$ , ortanca değer 0.054 ölçüldü. 40. Haftada kalan 56 farede ortalama kemik dansitometre değeri  $0.059 \pm 0.01$ , ortanca değer 0.058 derece ölçüldü.

## 4.9 Haftalara göre Gruplar arası kıyaslamalar

**Tablo 13.**Gruplar arası kıyaslama

Kıyaslama	P	Test
Skolyoz		
Hafta 5	0.917	Mann Whitney U
Hafta 20	0.066	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.562	Kruskall Wallis
Torasik kifoz		
Hafta 5	1.000	Mann Whitney U
Hafta 20	<b>0.001</b>	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.448	Kruskall Wallis
Lomber lordoz		
Hafta 5	0.461	Mann Whitney U
Hafta 20	<b>0.043</b>	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.221	Kruskall Wallis
Spinopelvik açı		
Hafta 5	<b>0.004</b>	Mann Whitney U
Hafta 20	<b>0.000</b>	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.622	Kruskall Wallis
Spinosakral açı		
Hafta 5	0.348	Mann Whitney U
Hafta 20	<b>&lt;0.001</b>	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.131	Kruskall Wallis
Pelvic inkline		
Hafta 5	0.120	Mann Whitney U
Hafta 20	<b>0.016</b>	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.523	Kruskall Wallis
Pelvis KMD		
Hafta 20	<b>0.024</b>	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.461	Kruskall Wallis
Spine KMD		
Hafta 20	0.099	Kruskall Wallis
Hafta 40	0.100	Kruskall Wallis

Skolyoz açıları değerlendirildiğinde 5. Haftada bipedal ve Kuadripedal gruplar Mann-Whitney U testi ile kıyaslandı. P değeri 0.917 saptandı. Yirminci ve kırkinci haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.066 ve 0.562 bulundu.

Torakal kifoz açıları değerlendirildiğinde 5. Haftada bipedal ve Kuadripedal gruplar Mann-Whitney U testi ile kıyaslandı; P-değeri 1.0 saptandı. Yirminci ve kırkinci haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.001 ve 0.448 bulundu.

Lomber lordoz açıları değerlendirildiğinde 5. Haftada bipedal ve Kuadripedal gruplar Mann-Whitney U testi ile kıyaslandı; P-değeri 0.461 saptandı. Yirminci ve kırkinci haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.043 ve 0.221 bulundu.

Spinopelvik açı değerlendirildiğinde 5. Haftada bipedal ve Kuadripedal gruplar Mann-Whitney U testi ile kıyaslandı; P-değeri 0.004 saptandı. Yirminci ve kırkinci haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.000 ve 0.622 bulundu.

Spinosaakral açı değerlendirildiğinde 5. Haftada bipedal ve Kuadripedal gruplar Mann-Whitney U testi ile kıyaslandı; P-değeri 0.348 saptandı. Yirminci ve kırkinci haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.001'in altında ve 0.131 bulundu.

Pelvis inkline değerlendirildiğinde 5. Haftada bipedal ve Kuadripedal gruplar Mann-Whitney U testi ile kıyaslandı; P-değeri 0.12 saptandı. Yirminci ve kırkinci haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.016 ve 0.523 bulundu.

Pelvis kemik dansitometre sonuçları değerlendirildiğinde 20. ve 40. haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.024 ve 0.461 bulundu.

Omurga kemik dansitometre sonuçları değerlendirildiğinde 20. ve 40. haftalarda 5 grup kendi aralarında Kruskall Wallis testi ile kıyaslandı ve P değerleri sırası ile 0.099 ve 0.1 bulundu.

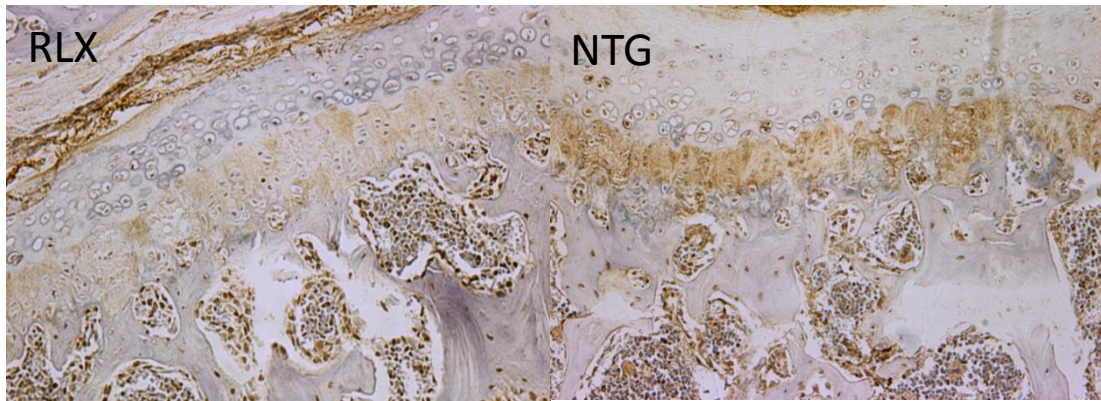


#### 4.10 İmmunohistokimyasal (İH) Değerlendirme

Çalışma sırasında 5., 20. Ve 40. Haftalarda Florina Moldovan tarafında osteoblastlarda östrojen ve kalmodulin reseptörleri için İH değerlendirme için fareler sakrifiye edilerek omurgalar hazırlanıp gönderildi.

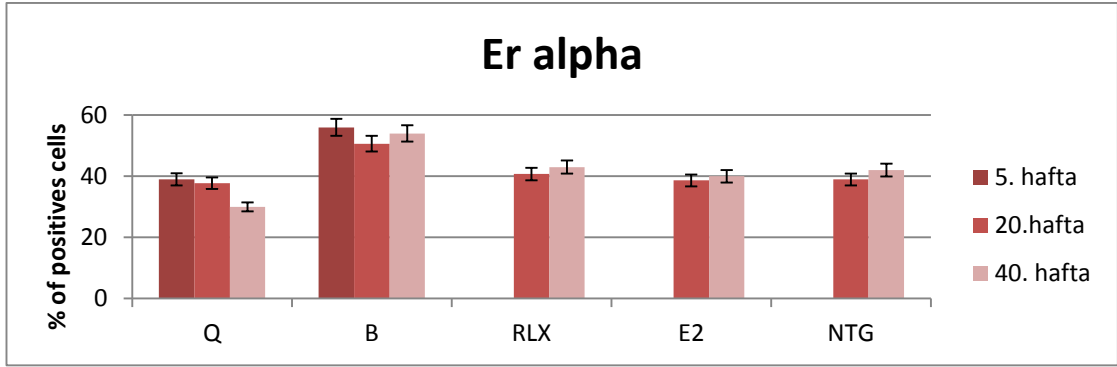
	<b><u>Kuadripedal</u></b> <b>(Q)</b>	<b>Bipedal</b> <b>kontrol (B)</b>	<b>Bipedal</b> <b>RLX</b> <b>(RLX)</b>	<b>Bipedal E2</b> <b>(E2)</b>	<b>Bipedal</b> <b>NTG</b> <b>(NTG)</b>
5	n=5	n=7	0	0	0
20 Hafta	n=5	n=7	n=7	n=7	n=7
40 Hafta	n=5	n=7	n=7	n=7	n=7

Haftalara göre Florina Moldovan'a gönderilen omurgalar



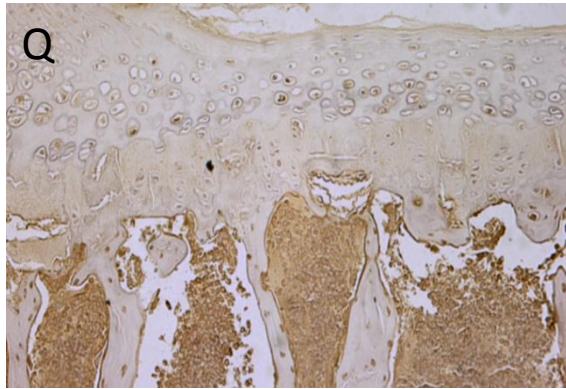
**Şekil 5.** Yirminci haftada RLX ve NTG gruplarından Er- $\alpha$  boyama örneği

İH olarak östrojen reseptör alfa (ER- $\alpha$ ), östrojen reseptör beta (ER- $\beta$ ) ve kalmodulin reseptörleri (CaM) incelendi. Sonuçlara bakıldığında ise bipedal kontrol grubunda bütün haftalarda diğer gruplara göre daha yüksek ER- $\alpha$  düzeyleri saptandı.

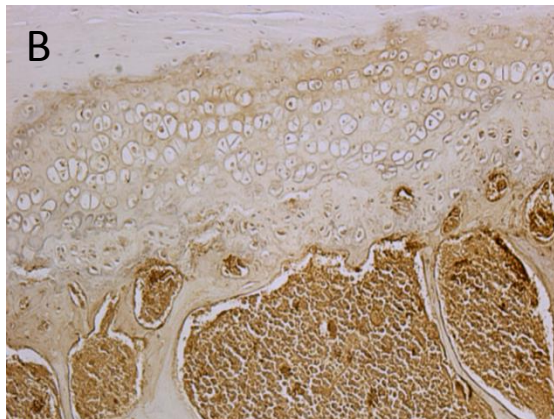


**Grafik 7.** Haftalara göre Er-  $\alpha$  değerleri

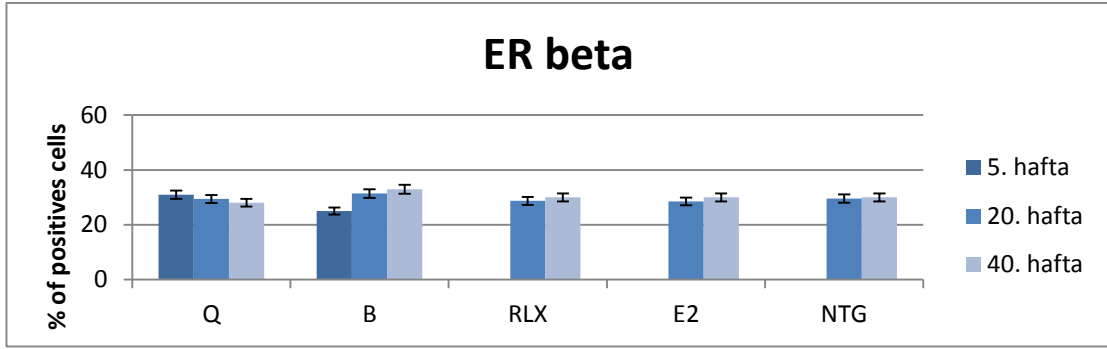
Er- $\beta$  seviyelerine bakıldığında bütün haftalarda tüm gruplarda benzer sonuçlar görölmüş.



**Şekil 6.** Beşinci hf Q gruptan Er- $\beta$  boyama örneği

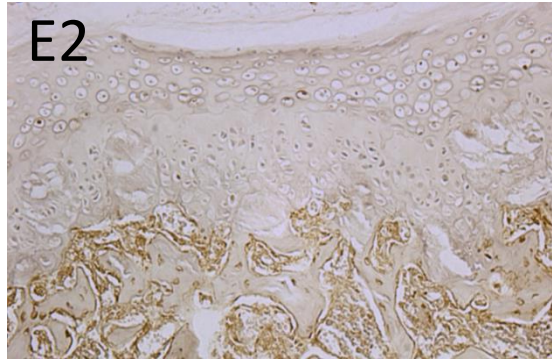


**Şekil 7.** Yirminci hf B gruptan Er- $\beta$  boyama örneği

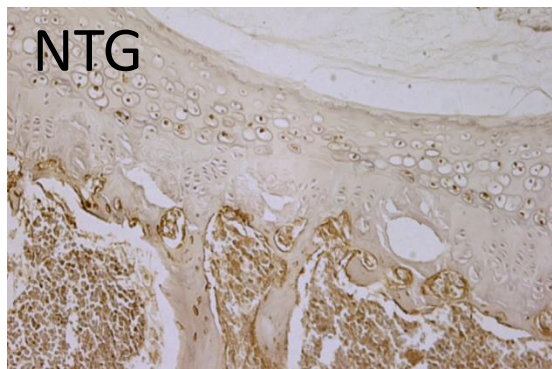


**Grafik 8.** Haftalara göre Er- $\beta$  değerleri

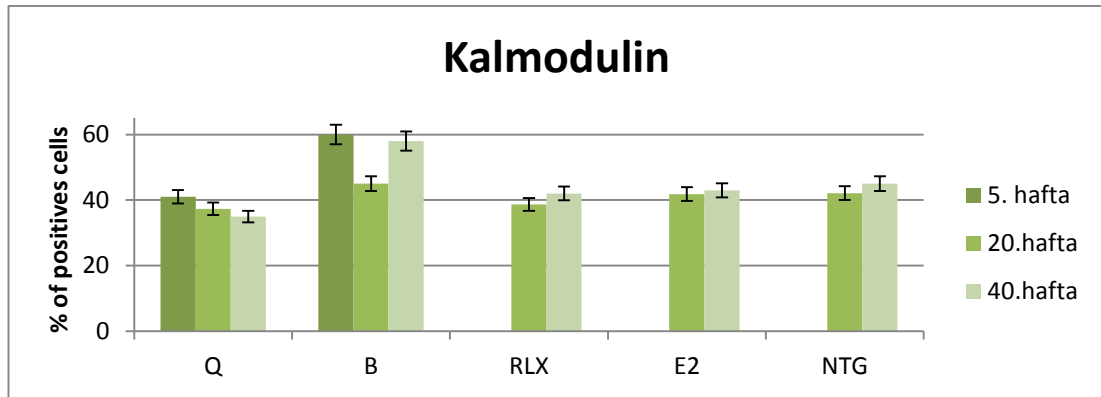
CaM seviyelerine bakıldığında bipedal kontrol grupta daha yüksek seviyelerde saptandı.



**Şekil 8.** Yirminci hf E2 grubundan CaM boyama örneği



**Şekil 9.** Yirminci hf NTG grubundan CaM boyama örneği



**Grafik 9.** Haftalara göre CaM değerleri

## 5. TARTIŞMA

AIS tedavi süreci zor ve tedavisi pahalı bir hastalık olduğu için hastalığın önlenmesinin tedaviden daha kolay olacağı bir gerçektir. Hastalığın önlenmesi için ise öncelikle patogenezinin aydınlatılması ve deformitenin ilerlemesinde etkili faktörlerin belirlenmesi şarttır. Sebepleri bilirse skolyozda önleyici veya ilerlemeyi engelleyici bir tedavi planı belirlenir. Yapılan çeşitli çalışmalarda deformite patogenezinde rol oynayan birçok faktörün olduğu görülmüştür. AIS etiopatogenezinde çeşitli dönemlerde farklı faktörler hastalığın gelişimi ve ilerlemesi açısından araştırılmıştır.

Bizim yaptığımız çalışma AIS etiolojisini ve farmakolojik ajanların bipedal hale getirilmiş C57Bl6 skolyoz üzerine etkisini araştırmıştır. Ayrıca bu oluşum içerisinde östrojen ve kalmodulin reseptörleri immunohistokimyasal boyamalar ile değerlendirildi. Nitrik oksit, raloksifen ve östrojen gibi farmakolojik ajanların ve bipedalitenin skolyoz prevalansı ve ilerlemesine etkisi, sagittal plan deformitesi üzerine etkisi, pelvis ve omurga kemik dansitometrisi sonuçlarına etkisi, pelvis antropolojisi üzerine etkileri araştırıldı.

Epifizektomi sonrası tavuklarda rutin skolyoz gelişmesini düşük melatonin üretilmesine bağlanmış[84]. Klinik bir çalışmada ise kontrol grubu ile karşılaştırılarak melatonin seviyeleri ölçülmüş: ilerleyici skolyoz hastalarında daha düşük melatonin saptanmış[85].

İskelet kası ve trombositlerdeki kasılabilir elemanlar birbirine benzediği için (aktin ve myosin); kasılabilir proteinlerde bir sorun varsa trombositlerin de etkilenebileceği düşünülmüş. Trombositlerin kasılabilir elemanları aksiyel iskeletten bağımsız olduğu için eğer bir değişiklik görülüyorsa skolyozun sekonder etkilerine bağlı görülmez. Skolyoz hastalarındaki ve normal bireylerdeki trombositlerin analizini yapan bir çalışmada skolyoz hastalarının trombositlerinde 'yoğun cisimciklerin' sayısında artış olduğu görülmüş[82]. Trombositlerdeki patoloji araştırıldığında ise bir başka mekanizmanın idiyopatik skolyoz patogenezinde rol aldığı görüldü: Kalmodulin. Kalmodulin kalsiyum fonksiyonunda ve birçok enzimatik fonksiyonun ayarlanmasında önemli rol oynayan bir kalsiyum bağlayıcı proteindir. Ayrıca kas ve trombositlerdeki aktin ve myozin üzerinden kasılabilir elemanlara etki eder.

Trombositlerdeki artmış kalmodulin seviyelerinin AIS'da ilerleme ile ilişkisi bulunmuş. Kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada trombosit kalmodulin seviyeleri ilerleyici skolyoz hastalarında stabil skolyoz hastalarına ve kontrol gruba göre daha yüksek çıkmış[83]. Bu çalışmada yazarlar trombosit kalmodulin seviyelerinin risser evrelemesi gibi skolyozda ilerleme riskini belirten faktör olduğunu belirtiyor.

Daha önce yapılan bir çalışmada Calmodulin antagonistlerinin C56B16 soyundaki farelerde 40. Hafta skolyoz insidansında ve ortalama Cobb açılarında düşüş sağladığı gösterilmişti[5]. Östrojenlerin AIS da kritik rol aldığı daha önce gösterildi[7]. Bipedal hale getirilmiş C57B16 farelerde Tamoksifen ve Raloksifenin skolyozu engellemediği ama ilerlemesini azalttığı görülmüştür[8]. Bu çalışmada Raloksifenin Tamoksifen kadar etkili olduğu görüldü ve ilaçların vertebra trabeküler hacimlerini arttırdığı; morfolojik olarak ise vertebral cisimde küçülmeye yol açtığı görülmüş.

Bizim çalışmamızda yaptığımız radyolojik incelemelerde Cobb açılarında bipedal ve quadripedal gruplarda farmakolojik ajan verilen gruplara göre 5., 20., 40. haftalarda anlamlı bir fark bulunamadı. Raloksifen grubunda ise skolyoz insidansı açısından 20. ve 40. haftalarda herhangi bir fark bulunamadı; raloksifenin skolyoz ilerlemesini durdurduğu saptandı. Tüm gruplarda bakıldığında raloksifen grubunun bütün haftalarda en düşük skolyoz indeksine sahip olduğu görüldü.

Çeşitli çalışmalarda bipedalitenin skolyoz gelişimi için gerekli bir faktör olduğu bulunmuştu [6][133]. Bizim çalışmamızda ise 40. haftada quadripedal grupta 20. ve 40. hafta skolyoz insidansları değerlendirildiğinde anlamlı bir artış görülmüştür.

Büyüme ve gelişme skolyozun patogeneğinde araştırılan önemli bir konu. Hipokifoza ile idiyopatik skolyoz neredeyse hep birarada olan deformitelerdir: anterior ve posterior yapılar arası büyüme dengesizliği hipokifoza sebep olur. Bu hipoteze göre anteriordaki yapılar posterior yapılardan daha hızlı büyüyüp vertebral cisimlerin ileri doğru eğilmelerine sekonder lateral rotasyon yaptığı düşünülmüş. Skolyozlu çocukların daha uzun

olduklarının, daha az kifoza sahip olduklarının ve daha yüksek oturma yüksekliğine sahip oldukları prospektif bir çalışmada görülmüş[74] [77, 78].

Çalışmamızda ayrıca sagittal plan açısından omurgalar da değerlendirildi. 5. haftada ortalama torakal kifoz açısı  $57.2 \pm 12.3$  derece, 20. haftada ortalama torakal kifoz açısı  $53.4 \pm 13.9$ , 40. haftada ise ortalama torakal kifoz açısı  $47.7 \pm 9.4$  ölçüldü. Bu sonuçların erekte pozisyonda kalmanın farelerde torakal kifozu azalttığı lehine yorumlanabilir. Bu sonucu destekleyen bir başka parametre ise spinosakral açı ölçümleri. 5. haftadaki ortalama spinosakral açı  $80.5 \pm 27.5$  derece, 20. haftada  $48.2 \pm 10.3$ , 40. haftada ise  $60.4 \pm 12$  derece ölçüldü.

Bir başka araştırdığımız konu ise bipedal kalmanın pelvik ölçümlere olan etkisiydi. Skolyozlu hastalarda yapılan çalışmalarda etiyojoloji araştırıldığında birçok biyomekanik faktörlerde saptanmıştır. Bu nöromusküler skolyozda önemli ölçüde farkedilmiş bir durum: pelvis oblikliği spinal stabilite için önemli bir faktördür[59]. Kırkıncı haftada ortalama pelvis eğimi  $16.9 \pm 5.4$  derece olarak hesaplandı. Bu değer bipedal gruplardaki farelerin 40. hafta pelvis eğimi ölçümlerinin ortalamasından yüksek olduğu görüldü.

Osteopeni ve skolyoz gelişimi etiopatogenezde önemli bir başka faktör olarak araştırıldı. Azalmış kemik kalitesinin omurga eğikliğinde önemli rol oynayabileceği de düşünülmüştür. Çalışmalarda idiyopatik skolyozlu hastaların kendi yaş grupları ile kemik dansitometrelerinin karşılaştırılması sonrası düşünölmeye başlanmıştır [60-63]. Bu konu ile ilgili daha önce osteopenin skolyozda primer bir faktör olmadığını gösteren bir başka çalışma yapıldı [6]. Bizim çalışmamızda ise osteopeni açısından KMD değerleri ölçülerek yapılan karşılaştırmalarda Raloksifen grubunun 20. ve 40. haftalarda belirgin artış saptandı. Gruplararası ise KMD ölçümleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı.

Daha önce deney hayvanlarında epifizektomi skolyoz ile sonuçlandı; bu araştırmacılar pineal bezin iskelet kasına reimplantasyonu sonrası veya melatonin replasman tedavisi sonrası skolyozun önlenebileceğini gösterdi[89, 90]. Epifizektomi sonrası farelerde de önayakların ve kuyruğun amputasyonu sonrası iki ayaklı halde dolaşmaya zorlandığında (% 100 oranda deformite)

skolyotik deformitenin gelişebileceği gösterilmiştir[91]. Birçok araştırmacının epifizektomize tavuklarda çok düşük kan melatonin seviyeleri saptandığında bile % 100 oranın skolyotik deformite oluşturma başarısız, % 50-60 oranında skolyotik deformite saptandı [90, 93-96]. Kliniğimizde C57Bl6 farelerde yapılan çalışmalar skolyotik deformiteyi oluşturmada % 100 oran göstermeyi başaramadı[5].

Selektif östrojen reseptör modölatörlerinin skolyoz progresyonunda nasıl etki ettiği tartışma konusu. Bizim hipotezimiz vertebralarda erken maturasyona sebep olarak büyümeyi engellediğidir. AIS etiolojisinde büyüme faktörlerinin olduğu daha önce araştırılmış bir konu. Anteriordaki yapılar posterior yapılardan daha hızlı büyüyüp vertebral cisimlerin ileri doğru eğilmelerine sekonder lateral rotasyon yaptığı düşüncesi büyümenin skolyoz etiolojisinde olduğu düşünülen hipotezlerden birisidir. Prospektif bir çalışmada Nissinen ve ark skolyozlu çocukların daha uzun olduklarını, daha az kiloza sahip olduklarını, daha yüksek oturma yüksekliğine sahip olduklarını görmüş[74]. Başka çalışmalarda da eğrilikleri fazla olan hastalarda daha az olan hastalara göre daha uzun boy görülmüş [77, 78]. Bizim çalışmamızda ise Raloksifen grubunda skolyoz insidansının diğer gruplara göre düşük olması ve Cobb değerlerinde 20. ve 40. haftalarda belirgin artışın olmaması bu hipotezimizi destekleyen bulgulardır.

Nitrik oksit ise daha önce AIS hastalarında paravertebral kasların konveks tarafında nitrik oksit sentazın ve kalmodulinin daha az saptanması üzerine etiolojide rol alabileceğini gösteriyor[9]. Yapılan bir çalışmada ise kalmodulin konveks tarafta daha fazla olduğunu gösterildi [10]. Bizim çalışmamızda ise NO verici olarak kullandığımız farmakolojik ajanlar kontrol grupları ile skolyoz insidansı ve Cobb açısı bakımından herhangi bir azalmaya sebep olmadı.



## 6. SONUÇLAR

Özet olarak bu çalışmanın sonuçları incelendiğinde;

- 1) Bipedal kalma torakolomber omurgada daha erekte bir pozisyon ile sonuçlanıyor.
  - Torakal kifozda düşme
  - Spinosakral açıda düşme
- 2) Bipedal kalma pelvis boyutlarında kısmen azalma ile sonuçlanıyor (pelvis eğiminde azalma)
- 3) Çalışma sonunda bipedal kalmanın skolyoz geliştirme için mutlak olmadığı gösterilmiş
  - Daha önceki çalışmaların ve bizim hipotezimizin aksine
- 4) Raloksifenin skolyoz ilerlemesini azalttığını gösterdik
  - Nitrikoksit vericilerinin ve östrojen içerikli ilaçların etkisi olduğu kanıtlanamadı.
- 5) Er- $\beta$  seviyelerine bakıldığında bütün haftalarda tüm gruplarda benzer sonuçlar görülmüş.
- 6) CaM seviyelerine bakıldığında bipedal kontrol grupta daha yüksek seviyelerde saptandı.

## KAYNAKLAR

1. adams, f., <hipp12.pdf>.
2. GT, L., *Etiology of Idiopathic Scoliosis: Current Trends in Research*. The Journal of Bone and Joint Surgery, 2000. 82-A.
3. al, C.e., <A Genetic Locus for Adolescent Idiopathic Scoliosis Linked to Chromosome 19p13.3.pdf>. Am. J. Hum. Genet. 71:401–406, 2002.
4. S, N., *Braces for idiopathic scoliosis in adolescents*. 2010.
5. Akel, <The effect of calmodulin antagonists on scoliosis bipedal C57BL6 mice model.pdf>. Eur Spine J, 2009.
6. Dede, <Is decreased bone mineral density associated with development of scoliosis A bipedal.pdf>. Scoliosis, 2011.
7. Leboeuf, <Do estrogens impact adolescent idiopathic scoliosis.pdf>. Trends in endocrinology&metabolism, 2009. 20(4).
8. Demirkiran, G., et al., *Selective estrogen receptor modulation prevents scoliotic curve progression: radiologic and histomorphometric study on a bipedal C57Bl6 mice model*. Eur Spine J, 2014. 23(2): p. 455-62.
9. Zhao Y, Q.G., *Expression of calmodulin and nNOS in the paraspinal muscles in idiopathic scoliosis*. 2004.
10. Acaroglu, <Comparison of the Melatonin and Calmodulin in Paravertebral Muscle and Platelets of Patients With or Without Adolescent Idiopathic Scoliosis.pdf>. Spine, 2009. 34.
11. TV, R., *Glycosaminoglycans of the vertebral body growth plate in patients with idiopathic scoliosis*. Bull Exp Biol Med., 2005.
12. Stehbens, W.E., <Pathogenesis of Idiopathic Scoliosis Revisited.pdf>. Experimental and Molecular Pathology 74, 49-60, 2003.
13. Goldstein, *Classification arid terminology of scoliosis*. Clin Orthop, 1973.
14. *Campbell's Operative Orthopaedics, 11th Edition*. p. 1922.
15. M, A., *Adolescent idiopathic scoliosis: natural history and long term treatment effects*. Scoliosis, 2006.
16. Acaroglu, *Adölesan İdiopatik Skolyozda Genel Değerlendirme ve Konservatif Tedavi*. TOTBİD Dergisi, 2002. 1(1): p. 10-14.

17. JE, L., *The Prediction of Curve progression in Untreated Idiopathic Scoliosis during Growth*. JBJS, 1984. 66-A(7).
18. GC, W., *Pediatric spinal deformities*. Neurosurg Focus, 2003. 14.
19. Eisberg, S.a., *The Incidence of Scoliosis in the State of Delaware*. JBJS, 1955. 37-A(6).
20. E, A., *Omurga hastalıkları ve deformiteleri, T.C. Dokuz Eylül Üniversitesi Yayınları*. 1991.
21. Wynne-Davies, R., *Familial (idiopathic) scoliosis*. JBJS [BR], 1968.
22. Fisher, D.G.a., *Idiopathic scoliosis: genetic and enviromental aspects*. J Med. Genet., 1967.
23. H.G., G., *Hereditary scoliosis*. British med j, 1934.
24. Wynne-Davies, R.a., *A genetic survey of idiopathic scoliosis in Boston,Massachusetts*. JBJS, 1973. 55-A.
25. Harrington, *The etiology of the idiopathic scoliosis*. Clin Orthop, 1977.
26. Fisher, D.G.a., *A twin study of idiopathic scoliosis*. Current Orthopaedic Practise, 1967. 55(A).
27. AJ, C., *Adolescent idiopathic scoliosis in identical twins*. JBJS, 1990. 72(B).
28. Kesling, *Scoliosis in twins: a meta-analysis of the literature and report of the six cases*. Spine, 1997. 22(17).
29. G., M., *Scoliosis in twins*. JBJS, 1959. 41(B).
30. Miller, *Genomic search for X-linkage in familial adolescent idiopathic scoliosis*. International Research Society of Spinal Deformities, 1998.
31. Czeziel, B., *Genetics of adolescent idiopathic scoliosis*. J Med. Genet, 1978. 15: p. 424-427.
32. Pedrini VA, P.I., *Glycosaminoglycans of intervertebral disc in idiopathic scoliosis*. J Lab Clin Med, 1973. 82.
33. al, T.e., *The contribution of the intervertebral disc to the scoliotic deformity*. Clin Orthop, 1981.
34. al, O.e., *Comparison of the biochemistry of proteoglycans isolated from normal, idiopathic scoliotic and cerebral palsy spines*. Spine, 1983. 8(4).

35. S, R., *The cartilage end-plate and intervertebral disc in scoliosis: calcification and other sequelae* J Orthop. Res., 1990. 11: p. 747-757.
36. al, S.e., *Spinal muscle in scoliosis: Part 2. The proportion and size of type 1 and type 2 skeletal muscle fibres measured using a computer-controlled microscope.* j Neurol Sci, 1976. 30.
37. al, B.e., *Muscle Fiber Types in Thoracic Erector Spinae Muscles Fiber Types in Idiopathic and Other Forms of Scoliosis.* Clin Orthop, 1987.
38. al, Y.e., *X-ray fluorescence analysis of muscles in scoliosis.* Spine, 1978.
39. al, Y.e., *Studies on spinal and peripheral muscles from patients with scoliosis.* Spine, 1979.
40. al, Y.e., *Proprioceptive function in children with adolescent idiopathic scoliosis.* Spine, 1981.
41. al, L.e., *Ultrastructures of nerve fibers and muscle spindles in adolescent idiopathic scoliosis.* Clin Orthop, 1983.
42. V, S., *Morphological and morphometric studies of muscle in idiopathic scoliosis.* Acta orthop., 1983.
43. al, K.e., *An ultrastructural study of multifidus muscle in progressive idiopathic scoliosis: Changes resulting from a sarcolemmal defect at the myotendinous junction.* Journal of the Neurological Sciences, 1980. 46(1).
44. al, M.e., *<Paraspinal muscle fibre type alterations associated with scoliosis an old problem revisited with new evidence.pdf>.* Eur Spine J, 1998.
45. Dastych M, V.O., *Zinc status in patients with idiopathic scoliosis.* Spine, 1990.
46. al, O.e., *<Electromyographic Analysis of Paravertebral Muscles in Patients with Idiopathic Scoliosis.pdf>.* Spine, 2011. 36(5).
47. Gregoric, M., *Postural control in scoliosis: A statokinesimetric study in patients with scoliosis due to neuromuscular disorders and in patients with idiopathic scoliosis.* Acta orthop. scand., 1981.
48. W, K., *Proprioceptive accuracy in idiopathic scoliosis.* Spine, 1992.

49. McInnes, E., *Vibratory response in adolescents who have idiopathic scoliosis*. JBJS, 1991. 73(8).
50. SAHLSTRAND, T., <A study of labyrinthine function in patients with adolescent idiopathic scoliosis I. An electro-nystagmographic study.pdf>. *acta orthop. scand.*, 1979. 50: p. 759-769.
51. al, Y.e., *Etiology of idiopathic scoliosis*. Clin Orthop, 1984.
52. O'Beirne, J., *Equilibrial dysfunction in scoliosis-cause or effect?* J Spinal Disord., 1989.
53. al, B.e., *Complex balance reactions in different sensory conditions: adolescents with and without idiopathic scoliosis*. Journal of Orthopaedic Research, 1993.
54. al, C.e., *Correlation between curve sensitivity, somatosensory evoked potentials, and magnetic resonance imaging in adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 1999. 24.
55. Maguire, J., *Intraoperative long-latency reflex activity in idiopathic scoliosis demonstrates abnormal central processing: A possible cause of idiopathic scoliosis*. Spine, 1993.
56. al, S.e., *Scoliosis induced by anterior and posterior rhizotomy*. Spine, 1989. 14.
57. JR, P., <Experimental scoliosis in primates a neurological cause.pdf>. JBJS [BR], 1982.
58. C, B., *Experimental kyphoscoliosis induced in rats by selective brain stem damage*. International Orthopaedics, 1992. 16(2).
59. KS, L., *The Importance of an Intact Abdominal Musculature Mechanism in Maintaining Spinal Sagittal Balance: Case Illustration in Prune-Belly Syndrome*. Spine, 1999. 24: p. 719-722.
60. A, W., *Observations on the corrective and operative treatment of structural scoliosis*. Arch. Surg., 1922.
61. B, S., *Vertebral rotation and pedicle length asymmetry in the normal adult spine*. Eur Spine J, 1995. 15: p. 95-97.
62. RS, R., *Mechanical properties of the tibia from chickens with idiopathic scoliosis*. J Biomech, 1983. 16: p. 59-67.

63. al, C.e., *Osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis: a primary problem or secondary to the spinal deformity?* Spine, 1997. 22.
64. G, M., *Joint flexibilities in structurally normal girls and girls with idiopathic scoliosis.* J Orthop. Res., 1983.
65. Fernandez, E., *Adolescent idiopathic scoliosis and joint laxity: a study with somatosensory evoked potentials.* Spine, 1993. 18.
66. Binns, M., *<Joint laxity in idiopathic adolescent scoliosis.pdf>*. JBJS, 1988. 70(B).
67. al, T.e., *Segmental neurophysiological mechanisms in scoliosis.* JBJS, 1979. 61(B).
68. al, A.e., *Induction of scoliosis in the growing rabbit by unilateral rib-growth stimulation.* Spine, 1988. 13: p. 1065-1068.
69. Shohat, M., *Growth and ethnicity in scoliosis.* Acta orthop., 1988.
70. H, N., *The thermal emission from the skin and the vascularity of the breasts in normal and scoliotic girls.* Spine, 1986.
71. H, N., *The length and ash weight of the ribs of normal and scoliotic persons.* Spine, 1985.
72. H, N., *The symmetry of the breasts in normal and scoliotic girls.* Spine, 1986. 11.
73. B, X., *Sagittal configuration of the spine and growth of the posterior elements in early scoliosis.* J Orthop. Res., 1994. 12(1).
74. M, N., *Trunk asymmetry, posture, growth, and risk of scoliosis: a three-year follow-up of Finnish prepubertal school children.* Spine, 1993.
75. al, S.e., *The length and proportions of the thoracolumbar spine in children with idiopathic scoliosis.* Acta orthop.scan., 1981.
76. al, J.B.e., *Correction of body height in predicting spirometric values in scoliotic patients.* Scand J Clin Lab Invest, 1968. 21.
77. al, A.e., *Stature and Idiopathic Scoliosis.* JBJS, 1985. 67(B).
78. AJ, C., *Family stature in idiopathic scoliosis.* Spine, 1993.
79. WILLNER, S., *<Growth hormone and somatomedin A in girls with adolescent idiopathic scoliosis.pdf>*. Acta Pediatr Scand, 1976.

80. al, M.e., *Growth hormone blood levels in patients with idiopathic scoliosis*. Clin Orthop, 1971.
81. al, S.e., *Plasma somatomedin activity in normal and scoliotic children*. Pediat.Res, 1977. 11.
82. al, Y.e., *Metal impregnation abnormalities in platelets of patients with idiopathic scoliosis*. Haemostasis, 1982.
83. al, K.e., *Levels of platelet calmodulin for the prediction of progression and severity of adolescent idiopathic scoliosis*. JBJS, 1994. 76(A).
84. M Machida, J.D., *Role of melatonin deficiency in the development of scoliosis in pinealectomised chickens*. JBJS, 1995. 77(B).
85. M Machida, J.D., *Melatonin: a possible role in pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 1996.
86. al, B.e., *Melatonin levels in idiopathic scoliosis: diurnal and nocturnal serum melatonin levels in girls with adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 1996.
87. Kawabata, H., *Idiopathic scoliosis and growth--a biomechanical consideration*. Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi, 1988.
88. DB, A., *Safety of human growth hormone therapy*. The Journal of Pediatrics, 1996. 128(5).
89. M Machida, J.D., *An experimental study in chickens for the pathogenesis of idiopathic scoliosis*. Spine, 1993.
90. al, T.e., *The effects of pineal gland transplantation on the production of spinal deformity and serum melatonin level following pinealectomy in the chicken*. Eur Spine J, 2003.
91. al, M.e., *<Experimental scoliosis in melatonin-deficient C57BL6J mice without pinealectomy.pdf>*. J. Pineal Res, 2006.
92. Machida, M., *Role of serotonin for scoliotic deformity in pinealectomized chicken*. Spine, 1997. 22.
93. al, W.e., *Characterization of the scoliosis that develops after pinealectomy in the chicken and comparison with adolescent idiopathic scoliosis in humans*. Spine, 1997. 22.

94. al, W.e., *Changes in serum melatonin levels in response to pinealectomy in the chicken and its correlation with development of scoliosis*. spine, 1998. 23.
95. al, T.e., *Unilateral enucleation affects the laterality but not the incidence of scoliosis in pinealectomized chicken*. Spine, 2006. 31(2).
96. al, B.e., *Pineal transplantation after pinealectomy in young chickens has no effect on the development of scoliosis*. Spine, 2001.
97. al, B.e., *The Effects of Melatonin Therapy on the Development of Scoliosis After Pinealectomy in the Chicken*. JBJS, 1999. 81.
98. al, O.K.e., *The Production of Scoliosis After Pinealectomy in Young Chickens, Rats, and Hamsters*. Spine, 1999.
99. M, M., *Serum melatonin levels in adolescent idiopathic scoliosis prediction and prevention for curve progression—a prospective study*. J Pineal Res, 2009.
100. Y, Q., *Decreased circulating leptin level and its association with body and bone mass in girls with adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 2007.
101. al, Q.e., *Melatonin receptor 1B (MTNR1B) gene polymorphism is associated with the occurrence of adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 2007. 32(16).
102. al, Q.e., *Lack of association between the promoter polymorphism of the MTNR1A gene and adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 2008. 33.
103. Moreau, A., *Melatonin signaling dysfunction in adolescent idiopathic scoliosis*. Spine, 2004. 29.
104. B, A., *Molecular determinants of melatonin signaling dysfunction in adolescent idiopathic scoliosis*. Clin Orthop, 2007.
105. Bredoux, R., *Human platelet Ca<sup>2+</sup>-ATPases: New markers of cell differentiation as illustrated in idiopathic scoliosis*. Platelets, 2006. 17(6): p. 421-433.
106. S.F., P., *Melatonin receptors in peripheral tissues: a new area of melatonin research*. Neurosignals, 1993. 2(4).
107. Mahle, C., *Melatonin modulates vascular smooth muscle tone*. j Biol Rhythms, 1997.



108. Lucchelli, A., *Investigation into the contractile response of melatonin in the guinea-pig isolated proximal colon: the role of 5-HT<sub>4</sub> and melatonin receptors*. British Journal of Pharmacology, 1997.
109. Mei, Y., *Melatonin and its analogs potentiate the nifedipine-sensitive high-voltage-activated calcium current in the chick embryonic heart cells*. J Pineal Res, 2001. 30.
110. Pompeiano O, M.D., Miele F, *Pineal gland hormone and idiopathic scoliosis: possible effect of melatonin on sleep-related postural mechanisms*. Archives italiennes de biologie, 2002.
111. Xia, Z., *Calmodulin-regulated adenylyl cyclases and neuromodulation*. Current Opinion in Neurobiology, 1997. 7(3).
112. Cheung, W., *Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation*. Science, 1980.
113. al, Y.e., *Microanalysis and X-ray fluorescence spectrometry of platelets in diseases with elevated muscle calcium*. European Journal of Clinical Investigation 1980. 10(2).
114. al, P.e., *Altered structural and functional properties of myosins, from platelets of idiopathic scoliosis patients*. J Orthop. Res., 1989. 7(2).
115. A, M., *Contractile protein studies on platelets from patients with idiopathic scoliosis*. Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis, 1982.
116. FLOMAN, Y., *Abnormalities of aggregation, thromboxane A<sub>2</sub> synthesis, and <sup>14</sup>C serotonin release in platelets of patients with idiopathic scoliosis*. Spine, 1983.
117. S, S., *Platelet aggregation abnormalities in idiopathic scoliosis*. J ped orth, 1985.
118. al, M.e., *Identification of constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in human platelets*. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1995.
119. Me1 S. Lee, M.C.D.T., Takashi Ikenoue, *<Effects of shear stress on nitric oxide and matrix protein gene expression in human osteoarthritic chondrocytes in vitro.pdf>*. Journal of Orthopaedic Research, 2002.

120. Richard Geoffrey BURWELL, P.H.D., <*Pathogenesis of progressive adolescent idiopathic scoliosis Platelet activation and vascular biology in immature vertebrae an alternative molecular hypothesis.pdf*>. Acta Orthop. Belg., 2006. 72.
121. al, A.e., *The effect of calmodulin antagonists on experimental scoliosis: a pinealectomized chicken model*. Spine, 2009. 34.
122. Leung, F., *Raloxifene, tamoxifen and vascular tone*. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2007. 34(8).
123. al, D.e., *The vertebral body growth plate in scoliosis: a primary disturbance in growth*. Scoliosis, 2008.
124. H Yoshihara, N.K., Y Matsuyama, *A histomorphologic study of scoliosis in pinealectomized chickens*. Spine, 2005. 30(20): p. 2244-2251.
125. M Cancel, G.G., D Thuillard-Crisinel, F Moldovan, *Effects of in vivo static compressive loading on aggrecan and type II and X collagens in the rat growth plate extracellular matrix*. Bone, 2009. 44(2): p. 306-315.
126. Y Yang, Z.W., T Zhao, H Wang, D Zhao, J Zhang, *Adolescent idiopathic scoliosis and the single-nucleotide polymorphism of the growth hormone receptor and IGF-1 genes*. Orthopedics, 2009. 32(6).
127. Yeung HY, T.N., Lee KM, Ng BK, Hung VW, Kwok R, Guo X, Qin L, Cheng JC, *Genetic association study of insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene with curve severity and osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis*. Studies in Health Technology and Informatics, 2006. 123: p. 18-24.
128. IS Eun, W.P., KT Suh, JI Kim, JS Lee, *Association between osteoprotegerin gene polymorphism and bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis*. Eur Spine J, 2009.
129. JCY Cheng, L.Q., CSK Cheung, *Generalized low areal and volumetric bone mineral density in adolescent idiopathic scoliosis*. JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH, 2000. 15(8).
130. Chen WJ, Q.Y., Zhu F, Zhu ZZ, Sun X, Liu Z, Chen ZJ, *Vitamin D receptor gene polymorphisms: no association with low bone mineral density in adolescent idiopathic scoliosis girls*. Chinese Journal of Surgery, 2008.

131. M Inoue, S.M., Y Nakata, H Kitahara, Y Otsuka, *Association between estrogen receptor gene polymorphisms and curve severity of idiopathic scoliosis*. Spine, 2002. 27.
132. al, K.L.e., *Estrogen cross-talk with the melatonin signaling pathway in human osteoblasts derived from adolescent idiopathic scoliosis patients*. j Pineal Res, 2008. 45(4).
133. RM Castelein, J.D., TH Smit, *The role of dorsal shear forces in the pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis—a hypothesis*. Medical hypotheses, 2005. 65(501-508).
134. JWM Kouwenhoven, R.C., *The pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: review of the literature*. Spine, 2008.
135. SB Naique, R.P., AA Cunningham, SP Hughes, *Scoliosis in an Orangutan*. Spine, 2003.
136. PG Fjellidal, S.G., *Pinealectomy induces malformation of the spine and reduces the mechanical strength of the vertebrae in Atlantic salmon, *Salmo salar**. j Pineal Res, 2004.
137. KF Gorman, F.B., *Idiopathic-type scoliosis is not exclusive to bipedalism*. Medical hypotheses, 2009.