

T1200



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

IVF HASTALARINDA ESTRADİOL
DALGALANMALARININ "KEMİK TURNOVER"
ÜZERİNE ETKİSİ

T1200/1-1

UZMANLIK TEZİ

Dr. Havva YILMAZ

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Mine ÜNER

"Bu proje, Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığınca 97 02 0103.02 numara ile desteklenmiştir"

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir"

Antalya, 1999

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Merkez Kütüphanesi

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca, yetişmemde emeği geçen Anabilim Dalımız Başkanı Prof.Dr.Bilal TRAK ve tez danışmanım Prof.Dr.Mine ÜNER başta olmak üzere, Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Prof.Dr.Orhan ERMAN, Doç.Dr.Ömür TAŐKIN, Doç.Dr.C Gürkan ZORLU, Yrd Doç.Dr.Kemal ÖZGÜR ve Yrd Doç.Dr.Tayup ŐİMŐEK ile, laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından ötürü Doç.Dr.Öznur ONGUN ve Uz.Dr.Halide AKBAŐ'a, katkı ve desteklerinden dolayı birlikte çalışmaktan zevk duyduğum tüm arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Havva YILMAZ

Antalya, 1999

İçindekiler

	<u>Sayfa No:</u>
Giriş ve Amaç	1 - 2
Genel Bilgiler	3 - 15
Materyal ve Metod	16 - 21
Bulgular	22 - 26
Tartışma	27 - 36
Sonuçlar	37 - 38
Özet	39 - 40
Kaynaklar	41 - 47

Giriş ve Amaç

"Long-step down" ovulasyon indüksiyon protokolü uygulanan invitro fertilizasyon (IVF) hastalarında bu protokole göre tedavi öncesi menstruel siklus midluteal fazında "gonadotropin releasing hormon agonist"i (GnRH-a) ile hipotalamus-hipofiz-over aksı suprese edilmektedir. Dolayısıyla yaklaşık 2 hafta süren bu tedavi ile estradiol değerleri baskılanmaktadır. Takip eden siklusun 3.günü ise "gonadotropin" ile ovulasyon stimülasyonuna başlanmaktadır. Yaklaşık 10 gün süren bu stimülasyon sonunda ise estradiol değerleri 3000-4000 pg/ml gibi oldukça yüksek değerlere ulaşmaktadır (1). Bu safhada oosit pick-up yapılan hastaların estradiol değerleri kısa sürede normal fertil düzeylere düşmektedir.

Bu tedavi protokolünde vakaların hormon düzeylerinde kısa süreli, ancak büyük dalgalanmalar olmaktadır. Bu durumun "kemik turnover"ı üzerine etkisi bilinmemektedir. Bugüne kadar hormon düzeyleri ve kemik rezorpsiyonu ile kemik formasyonu arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların çoğu menopoze hastalar, östrojen replasmanı ve kısmen jinekolojik nedenlerle GnRH-a kullanan hastalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bugün jinekolojik nedenlerle GnRH-a kullanımını takiben (2,3) ya da menopoz ile (4) oluşan hipoöstrojenizmin kemik rezorpsiyonunda artışa neden olduğu kesin olarak bilinmektedir. Yine GnRH-a kullanımı sonrası hipoöstrojenizmin ortadan kalkması ile kemik rezorpsiyonunun geri

dönüşümlü olduğu (5), menopoze hastalarda hormon replasman tedavisinin kaçınılmaz olduğu (6) klasik bilgi halini almıştır. Bunun yanısıra gebeliğin kemik turnover ve kemik kitlesi üzerindeki etkisi (7,8), yenidoğanlarda (9) ve pubertede (10) kemik turnover değişiklikleri gibi spesifik konularda çalışmalar yapılmıştır. Oysa literatürde IVF hastalarında "kemik turnover"ı ile ilgili yapılmış çalışma yoktur.

Yapılan çalışmalar hem GnRH-a hem de hormon replasman tedavisinin uzun vadeli, en az 3-6 aylık etkilerini araştırmışlardır. Ve muhtemel fizyolojik sınırlar içerisindeki kan hormon düzeylerinin etkileri değerlendirilmiştir. IVF programlarında ise tüm bunların aksine hormon düzeyleri 10-15 gün gibi kısa sürelerde ve fizyolojik sınırların çok üstündeki düzeylerde değişmektedir. İlginç bir nokta, buradaki östrojen değerlerindeki yükselme, ekzojen östrojen alımına değil, Gnt alımı sonrası foliküllerden salınan endojen östrojene bağlıdır. Bu değişikliklerin kemik turnover üzerine etkisi ise araştırılmamıştır.

Planlanan bu çalışmanın amacı, hormon düzeylerinde kısa süreli ve büyük dalgalanmalar olan IVF hastalarında "kemik turnover"ını belirlemektir.

Çalışmada kullanılmış olan test, idrarda "cross-linked N-telopeptide of type I collagen" (NTx) ölçümüdür. Bu testin kullanılmasının nedeni, NTx bilinen biyokimyasal indikatörler içinde kemik rezorpsiyonundaki kısa süreli değişiklikleri belirleyebilen en spesifik ve sensitif indikatör özelliğindedir (11-14). NTx molekülü kemiğe spesifiktir ve osteoklastik aktivitenin son ürünü olarak idrarda bulunur. Kemik yapıdaki değişimleri gösteren osteodansitometri ise ancak 6 aylık değişimleri gösterebilmektedir (15).

Genel Bilgiler

Kemik Turnover

Adütlterde iskelet boyutu ne artar, ne de azalır. Buna rağmen kemik devamlı olarak değişiklik gösterir ve kemik yıkımına neden olan hücrelerin aktivitesi, kemik yapımını sağlayan hücrelerinin aktivitesine eşittir. Yetişkinde bu aktivite “kemik remodelling” olarak ifade edilir. Kemik remodeling hızına da “kemik turnover” denir. Remodelling, kemik rezorpsiyon proçesinin kemik formasyonu tarafından takibini içerir ve stress karşısında adaptasyon ve kendi kendine tamir mekanizması oluşturur.

Kemik remodelling basamakları hem osteoporotik hem de sağlıklı kemik dokuda net olarak tanımlanmıştır (16,17).

Kemik remodelling basamakları:

İlk basamak, bilinmeyen faktörlerin stimülasyonuna cevap olarak kemik yüzeyine osteoklastların fokal atraksiyonudur. Osteoklastlar, kemik iliğinde oluşan monosit ya da monosit benzeri hücrelerden kaynaklanan, çok nükleuslu (50 kadar nükleus) büyük fagositik hücrelerdir. Erişkinde daima kemik yüzeyinin %1'inden daha az bir bölümünde aktivite gösterirler. Osteoklast hücrelerinin fokal atraksiyonunda yeri belirleyen faktörler bilinmemektedir.

Aktivasyon

Osteoklast hücrelerinin kemik yüzeyindeki lokusa atraksiyon olayı, aktivasyon olarak ifade edilir. Normalde her 10 saniyede bir aktivasyon oluşur ve bu frekans kemik dokusundaki yeni remodelling alanlarının sayısını belirler. Paratroid hormonu ve troid hormonu aktivasyon frekansını artırır. Kalsitriol de aktivasyon sıklığını artırır, ama bu fizyolojik bir etkiden ziyade farmakolojik bir etki olabilir. Gonadal steroidler ve kalsitoninler aktivasyonu inhibe eder.

Rezorpsiyon

Kemik rezorpsiyon fazı boyunca küçük yoğun kitleler halinde bulunan osteoklastlar kemik yüzeyinde erozyona neden olur. Osteoklastlar villusa benzer çıkıntılarını kemiğe doğru uzatırlar. Bu villuslardan iki tip madde salgılanır: Osteoklast lizozomlarından serbestleyen proteolitik enzimler ve sitrik asit ile laktik asidin de bulunduğu ve mitokondri ile salgı veziküllerinden serbestleyen birçok asitler. Enzimler, kemiğin organik matriksini sindirir veya eritirken asitler de kemik tuzlarını eritmektedir. Aynı zamanda, kemik tuzları ve kollajenin tüm parçacıkları osteoklastlar tarafından fagosite edilerek sindirilirler ve oluşan ürünler kana verilir. Osteoklast hücre kümeleri gelişirken 3 hafta kadar 0,2-1 mm genişliğinde ve birkaç milimetre uzunluğunda tüneller açarlar. Takiben multinükleer hücreler kaybolur, yerine biraz rezorpsiyon ve rezorpsiyon kavitesini düzleştirme kapasitesi olan mononükleer hücreler gelir. Sonraki 7-10 günde kavite yüzeyinde proteoglikan, glikoprotein ve asit fosfatazdan zengin, ama kollajenden fakir örtücü bir tabaka birikir. "Reversal faz" olarak tanımlanan bu faz, osteoklastların yönettiği kemik rezorpsiyonunun durması ve kemik formasyonun başlaması arasındaki interval dönemdir.

“Coupling” fenomeni ve formasyon

Rezorpsiyon ve reversal dönem tamamlandıktan sonra coupling denen süreç ile kemikteki aşınmış alanlara osteoblastlar gelir ve böylece osteoid matrix sentezlenir. Tek bir osteoklastın aktivitesi ile yıkılabilen kemik miktarının sentezi için 100-150 osteoblast gerekir. Coupling fazı için sinyal bilinmemektedir, ama rezorpsiyon kavitesi içindeki reversal hücreler, reversal yüzeydeki örtücü (cement) yüzey veya kemik matrix içindeki kollagen fragmanları veya transforming growth faktör gibi kemotaktik proteinlerin ortaya çıkması ile yönetiliyor olabilir. Oluşan yeni kemik miktarı osteoblastların aktivite ve sayısına da bağlıdır. Osteoblastlar rezorpsiyon kavitesi içindeki hücre tabakasıdır ve mineralize olmayan kemik dokuyu ve diğer matrix proteinlerini içine alan osteoid matrix tabakalarını sentezler. Osteoid, kollajen ve osteokalsin gibi kemik proteinlerini içeren preosseoz dokudur. 5-10 günlük bir sürede matürleşir. Aylarca süren kemik depolanması ile yeni kemik oluşur. Tüm yaşayan kemiklerde sürekli olarak hafif bir osteoblastik aktivite görülür. Kemik yüzeyinin %4 kadarında her zaman aktivite vardır, böylece sürekli olarak yeni kemik yapımı olmaktadır.

Mineralizasyon

Osteoblastlar tarafından matriks formasyonunun başlamasından birkaç gün sonra yeni oluşan osteoid formasyonunda mineralizasyon başlar. Burada kalsifikasyon ile ilişkili olduğu bilinen alkalen fosfataz enzimi, osteoblastlar tarafından salınan ve kemik matriksine mineral adsorpsiyonunda önemli olan kemik proteini osteokalsin fonksiyon gösterir. Matriks sentezi tamamlandığında osteoblast morfolojisi değişir ve mineralizasyon boyunca uzarlar. Mineralizasyon tamamlandığında osteoblastlar düzleşir ve remodelling tamamlanır.

Aktivasyon, rezorpsiyon, reversal faz, formasyon ve mineralizasyon normalde kemik yüzeyinin küçük bir kısmında oluşur, kullanılabilir yüzeyin %90'a yakını herhangi bir zamanda inerttir. Oluşan kemiğin bir kısmı olan "bone structural unit" sentez ve mineralizasyon için birkaç ay alır. Aksine osteoklastik kemik rezorpsiyon süreci günler içinde tamamlanır. Bu, kemikteki formasyon yüzeyinin rezorpsiyon yüzeyinden neden daha çok olduğunu açıklar (18-20).

Kemikte sürekli yenilenme neden gerekli?

Kemikte sürekli depolanma ve absorpsiyonun önemli fizyolojik fonksiyonları vardır:

- Kemiğin uğradığı stress ile orantılı olarak gücünü arttırmaktadır. Böylece ağır yüke maruz kalan kemik kalınlaşır.
- Kemiğin şekli bile, stress maddelerine göre mekanik gücü desteklemek için yeniden düzenlenebilir.
- Yaşlı kemik rölatif olarak daha zayıf ve kırılabilir duruma geldiği için, organik matriks dejenere oldukça yeni organik matrikse gerek duyulmaktadır. Bu yolla kemiğin normal dayanıklılığı devam ettirilir. Gerçekten de, depolama ve absorpsiyonu çok hızlı olan çocukların kemikleri, depolama ve absorpsiyon hızı azalmış olan yaşlıların kemiklerine göre daha az kırılır.

Kemik Turnover ve Östrojen

Çocukluk ve adölesan dönemde kemik remodelling primer olarak kemik büyümesi ile ilişkilidir. Bu durum kemik kütlelerinin pik düzeye ulaştığı 30-35 yaşına kadar olur. Yetişkinlerde rezorpsiyon ve formasyon genellikle dengelidir ve kemiğin toplam kütlesi sabit kalır. Bununla birlikte

pik kemik kütlesine ulaşıldıktan sonra rezorpsiyon/formasyon arasında hafif bir dengesizlik ortaya çıkar. Artan yaş ile birlikte rezorpsiyon, formasyonu aşar ve kemik kütlesinde hafif azalma olur. Menopoz sonrası ise kemik remodeling hızı (kemik turnover) artışı ile kemik kaybı hızlanır. İlk 5-10 yıl için kayıp ortalama her yıl %2'dir.

Östrojen kemik remodelling olayında, dengeli kemik metabolizmasının sağlanmasında önemli rol oynar. Bunu:

- kemik mineral ve kollajenini koruyarak
- barsaklardan kalsiyum absorpsiyonunu arttırarak
- kemik koruyucu hormon olan kalsitonin salınımını stimüle ederek sağladığına inanılmaktadır.

En önemlisi, östrojen, kemik remodelling siklusunun aktivasyon frekansını inhibe etmek için yüksek afiniteli reseptörler sayesinde kemik hücrelerinde direkt etkiye sahiptir (21).

Menopozun başlamasıyla kemik remodelling süreci değişir. Bu dönemde östrojen üretimi dramatik olarak azalır ve kemik rezorpsiyon seviyesinde artmaya neden olur (22). Net kemik kaybı rezorpsiyon, formasyonu aştığı zaman remodelling süreçte oluşan dengesizlik ile karakterizedir.

Osteoporoz sıklıkla kemik atrofisinin bir tipi olarak kabul edilir. Bu terim en son noktayı tarif ederken, menopoz sırasında ve sonrasında oluşan olaylar, kemik aktivitesindeki genel artışı içerir. Memelilerde yapılan çalışmalar östrojen eksikliğinden sonra aktivasyon frekansındaki artıştan dolayı kemik yüzeyinin hücresel aktivitesinde 2-3 kat artış olduğunu göstermiştir. Oofektomi sonrası en erken olay aktivasyondaki artışa bağlı hidroksiprolinin idrar atılımında artıştır ve takiben kemik rezorpsiyonunda artma olur. Bunu kemik formasyonundaki artış izler, bu da osteokalsin

veya alkalen fosfataz aktivitesi ile gösterilir (23). Bu cevap paterni kemik rezorpsiyonunda primer artış ve bunu takip eden kemik formasyondaki artış ile bağlantılıdır, böylece tüm turnover elemanları artar.

Normal kemik remodelling olayında, osteoklastların neden olduğu rezorpsiyon yeni kemik formasyonu tarafından izlenir. Osteoblastların sayısı rezorpsiyon yüzeyindeki artışı kapatmak için artar, ama menopozdan sonra mineralizasyon hızında azalma olur ve osteoblastların performansı normalden daha azdır. Östrojenin osteoblast performansını etkilemesindeki mekanizma bilinmemektedir. Ancak direkt etkiye sahip olabilir, çünkü osteoblastlarda östrojen reseptörlerinin olduğu gösterilmiştir (24).

Kontrollü Ovulasyon İndüksiyonu

Spontan olarak ovulasyonu olan kadınlarda süperovulasyon indüksiyonu için gonadotropin uygulaması kontrollü ovarian hiperstimülasyondur.

GnRHa ve Gonadotropinler

Long protokol GnRHa kullanımı

Step-down gonadotropin rejimi

Ekzojen gonadotropin ile folliküler büyümenin stimülasyonu ve ovulasyon indüksiyonu öncesinde ve esnasında hipofiz-ovarian aksı suprese etmek için GnRHa başarıyla kullanılmaktadır (25).

GnRH agonistler ilk verildiğinde gonadotropin sekresyonunu artırır (flare-up etkisi), devamlı verildiğinde ise hipofiz desensitize olur ve GnRH

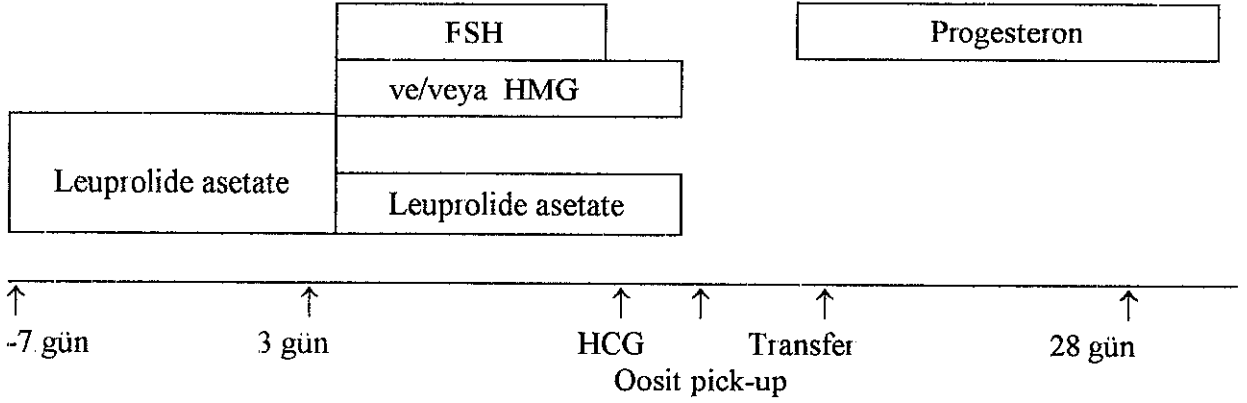
reseptörleri down regülasyona uğrar, bu da gonadotropin, LH/FSH oranı ve sex steroidlerinin supresyonuna neden olur.

Geçici olarak fonksiyonel gonadotropin-spesifik hipofizektomi, endojen gonadotropin sekresyonu olmaksızın "recruitment" fazı boyunca predominant FSH ortamı ile stimülasyon protokolüne olanak sağlar. Böylece yoğun endojen LH ortamı elimine edilir, aksi halde zamansız mayoz-inhibiting faktörlerin inhibisyonu ile ovumun yaşlanmasını provoke edebilir ve normal folliküler gelişim bozulabilir (26).

GnRHa'nın long protokol uygulamasında, önceki siklusun midluteal fazında analog tedavisine başlanır, 5-10 gün içerisinde hipofiz suprese olur, mensin başlaması bunun göstergesidir. Gonadotropin tedavisi, siklusun 3.günü veya estradiolün yeterli supresyonu gösterildiğinde başlanır. GnRHa, dozu azaltılarak hCG enjeksiyon gününe kadar gonadotropin ile birlikte kullanılmaya devam edilir.

IVF-ICSI'de kabul edilen görüş, fertilize olabilecek çok sayıda oosit elde etmek için gonadotropinlerin süperfizyolojik dozlarda kullanımınıdır. Step-down rejiminde ovulasyon indüksiyonuna konvensiyonel yüksek doz gonadotropin ile başlanır ve folliküller büyürken dozun basamaklı olarak azaltılması ile devam edilir. Bu protokol doğal siklusların erken ve midfolliküler fazı boyunca görülen serum FSH konsantrasyon profilini taklit etmek için düzenlenmiştir. Gonadotropin tedavisinin 2-3. gününden itibaren başlayarak günlük estradiol (E2) ölçümü ile siklus monitörize edilir, E2 seviyesi eşik değeri aştıktan sonra (genellikle siklusun 6-7.günü) seri ultrasonografik folliküler takip yapılır. Folliküllerin çapına (>16 mm), E2 seviyesine (>400-500 pg/ml) göre ovulatuar hCG dozunun uygun zamanı belirlenir. hCG verildikten 34-36 saat sonra oosit pick-up (OPU) ve IVF-ICSI yapılır. Takip eden 2-3 gün içinde embriyo transferi (ET) gerçekleştirilir. GnRHa kullanımının suboptimal, nonfizyolojik endokrin

ortama (özellikle LH için) neden olarak corpus luteumun devamlılığını sağlayamayacağı düşüncesiyle IVF-ET sonrası luteal faz ekzojen hormon (progesteron ve/veya hCG) ile desteklenir. OPU sonrası yaklaşık 2 hafta sonra β -hCG ile gebelik olup olmadığına bakılır (Şekil I).



Şekil I : Step-down protokol : GnRHa ve gonadotropinler*

*Şekil I, Adashi EY, Rock JA, Rosenwacks Z. Reproductive Endocrinology, Surgery and Tecnology. 1996, Philadelphia. P:2326'dan alınmıştır.

Kontrollü Ovulasyon İndüksiyonu ve Östrojen

GnRHa kullanımı ve östrojen-kemik turnover ilişkisi

GnRHa tüm dünyada çok sayıda kadında kullanılıyor olmasına rağmen, böyle bir tedavinin kısa süreli kemik kaybına olan etkisine ait veri yoktur. Mevcut çalışmalar 3-6 aydan fazla kullanımın etkisi üzerinedir.

GnRHa ile 6 ay tedavinin kemik dansitesine etkisini gösteren bazı veriler şöyledir (Tablo I) :

Tablo I: Kemik dansitesine GnRHa etkisi*

Analog	Araştırmacı	Kemik mineral dansitesi	
		Lomber	Radial
Decapeptyl	Golan	0.0% (DPA)	
Leuprolide	Damewood	0.0% (DPA)	
Buserelin	Dawood	-7.4% (QCT)	0.0% (SPA)
Nafarelin	Jacobson	-2.6% (DPA)	-2.5% (SPA)
Goserelin	Dodin	-8.2% (DPA)	
Leuprolide	Surrey	-5.6% (DEXA)	
Goserelin	Leather	-4.8% (DEXA)	
Buserelin	Nencioni	-1.5% (DPA)	-2.1% (SPA)

SPA, single-photon absorptiometry; DPA, dual-photon absorptiometry; QCT, quantitative computerized tomography; DEXA, dual-energy X-ray absorptiometry.

*Tablo I, Adashi EY, Rock JA, Rosenwacks Z. Reproductive Endocrinology, Surgery and Tecnology. 1996, Philadelphia. P:1667'den alınmıştır.

Lomber vertebra seviyesinde değerlendirildiğinde kemik kaybının %8.2 kadar yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. Oysa klimakterik dönemde bile bu oran genellikle %3' aşmaz (27).

GnRHa kullanımı sonucunda hipostrojenizme bağlı hem kemik rezorpsiyonunu, hem de kemik formasyonunu yansıtan parametrelerde artış mevcuttur (Tablo II). Kemik turnover hızı artar, kemik rezorpsiyondaki artış kemik formasyonundaki artıştan daha fazladır ve bu doğal yolla dengelenemez, sonuçta net etkisi kemik mineral dansitesinde azalma şeklinindedir.

Tablo II: GnRHa tedavisinin kemik turnover parametrelerine etkisi*

Analog	Araştırmacı	Kemik Formasyonu			Kemik Rezorpsiyonu	
		Osteokalsin	AP	PO4	HPR/Cr	Ca/Cr
Nafarelin	Johansen	↑	↑	↑	↑	↑
Decapeptyl	Scharla	↑	↑	↑	↑	
Nafarelin	Ylikorkala	↑	↑			↑
Goserelin	Dodin		↑			↑
Decapeptyl	van Leusden	↑	↑	↑	→	→

AP: Alkalen fosfataz PO4: Fosfat HPR: Hidroksiprolin Ca: Kalsiyum Cr: Kreatinin

*Tablo II, Adashi EY, Rock JA, Rosenwacks Z. Reproductive Endocrinology, Surgery and Tecnology. 1996, Philadelphia. P:1667'den alınmıştır.

GnRHa kullanımı bırakıldıktan sonra kemik dansitesindeki geri dönüşüm hakkında sınırlı literatür bilgisi mevcuttur. Bazı araştırmacılar, ilaç bırakıldıktan 6 ay sonra kemik mineral dansitesi değerlendirildiğinde ya da daha geç dönemde tam iyileşme elde ederken (28), bazı araştırmacılar GnRHa'nın indüklediği kemik kaybının tam olarak geri dönmediğini (29) ve kemik dansitesinde 6 ay sonra değerlendirildiğinde %5.4'e varan net kayıp saptamışlardır. Son bir raporda DEXA yöntemi ile değerlendirilen 6 ay sonraki rezidü kemik kaybı %4.2 bulunmuştur (30).

IVF hastalarında GnRHa kullanımı ile elde edilen kısa süreli östrojen supresyonunun kemik metabolizması üzerine etkisi ise çalışılmamıştır.

Gonadotropin kullanımı ve östrojen-kemik turnover ilişkisi

Gonadotropin ile ovarian stimülasyon sonunda estradiol değerleri 2000-3000 pg/ml gibi fizyolojik sınırların çok fazla üzerinde bir değere ulaşır. Östrojenin kemik metabolizmasına olumlu etkilerini tesbit ederken, serum östrojen seviyelerinin ya reproduktif yaştaki değerler içindeki ya da hormon replasman tedavisi ile ulaşılan yine fizyolojik sınırlardaki değerleri çalışılmıştır. Fizyolojik değerlerin 10-20 kat üzerindeki östrojen değerlerinin kemik metabolizmasına ek katkısı olup olmadığına dair çalışma yok denecek kadar azdır. Osteopenik kadınlarda yüksek doz östrojen-progesteron enjeksiyonunun kemik dansitesine etkisini araştıran bir çalışmada, 6 aylık tedavinin sonunda kemik dansitesinde %18 değerinde hızlı bir artış saptanmıştır (31). IVF hastalarında gonadotropinler ile ovulasyon stimülasyonu sonrasında elde edilen yüksek estradiol düzeylerinin kemik metabolizmasına etkisi ise araştırılmamıştır.

İdrarda N-telopeptid ölçümü

Kemik remodelling değerlendirmesi için kemik kaybını belirlemek gerekir. Kemik biopsisi ile direkt remodelling gözlenebilir, ancak bu invazif bir yöntemdir, ayrıca küçük bir biopsi örneği, tüm iskeleti temsil etmez. Kalsiyum kinetik çalışmaları ise pahalıdır, radyoaktif izotop gerektirir ve zaman alıcıdır.

Kemik kaybı aynı kişide tekrarlayan kemik kütlesi ölçümleri ile belirlenebilir. Bunun için doğruluk oranı yüksek ve "precision error"u (aynı stabil objenin tekrarlayan ölçümlerinde oluşan variabiliteyi belirlemedeki hassasiyetin derecesi) düşük bir metod gerekir. Rutin radyografilerle azalan kemik mineral içeriğini belirlemek mümkündür. Kullanılan teknikler

arasında DEXA en düşük radyasyon dozuna sahip olması (<3 mrem) ve kısa zaman alması (5-10 dakika) nedeniyle en çok tercih edilen diagnostik metoddur. Ayrıca "precision error" %1'dir, yani aynı hastadaki iki ölçüm arasındaki %2.8'lik farklılıkları belirleyebilmektedir. Postmenopozal kadınlarda yılda %3 kemik kaybı olduğu düşünülürse, DEXA'daki %1 "precision error" ile 1 yıl içindeki kemik kaybı belirlenebilir. Ancak kemik mineral dansitesinin ölçümü ile, "kemik turnover"nın son durumunun değerlendirilmesinden ziyade, ölçülmüş olan iskelet yapısı önceden etkilemiş olan tüm biyolojik ve fiziksel faktörlerin statik bir değerlendirmesi yapılır. Ayrıca kemik dansitometrisi, mineral dengesindeki en az 6 ay gibi uzun vadeli değişikliklerin ölçümüne olanak sağlar (15,32).

Son teknolojik gelişmeler kemik metabolizmasının biyokimyasal indikatörlerine, özellikle de kemik rezorpsiyon indikatörlerine olan ilgiyi arttırmıştır. Bunların ölçülebilmesi kemik rezorpsiyon derecesini belirlemek ve antirezorptif tedavinin etkinliğini değerlendirmek açısından klinik fayda sağlar. Özellikle de haftalar, hatta günler içinde, kısa sürede oluşan değişikliklerin ölçülebilirliği açısından bu indikatörler önemlidir. Çalışmalar alkalen fosfataz, osteokalsin (kemik formasyon indikatörleri), hidroksiprolin ve kalsiyumun (kemik rezorpsiyon indikatörleri) menopoz sonrası 9.-12. aylardaki ölçümü ile, gelecek 12 yılda oluşacak kemik kaybı hakkında güvenilir bir tahmin verdiğini göstermiştir (4,33). Bir başka çalışmada ise, erken postmenopozal kadınlarda ölçülen kemik formasyon ve rezorpsiyon indikatörlerinin, 1 yıl sonraki kemik mineral dansitesini tahmin etmek için kullanılabileceğini göstermiştir (34). Kemik rezorpsiyon indikatörleri kemik metabolizmasındaki değişiklikleri belirlemek için, kemik formasyon indikatörlerine göre daha sensitiftir ve günlük değişimleri daha iyi gösterir (35). Bununla birlikte testin kemik rezorpsiyonuna spesifik olması ve pratik kullanımı önemlidir.

Yayınlanmış klinik çalışmalar, NTx'in son zamanlarda bilinen indikatörler içerisinde kemik rezorpsiyon sürecinin en spesifik indikatörü olduğunu göstermiştir. Kemik rezorpsiyonu sırasında kemik matriks ürünleri (asıl tip I kollajen ve mineraller) kana salınır. Tip I kollajen kemiğin organik matriksinin %90'ını oluşturur. NTx tip I kollajene spesifiktir ve kemik rezorpsiyonu sırasında osteoklastlardan kana salınır ve metabolize olmadan yıkımın son ürünü olarak idrarla atılır. NTx'in yüksek seviyeleri artmış kemik rezorpsiyonunu gösterir. Deri gibi diğer tip I kollajen kaynakları osteoklastlar tarafından yıkılmadığından, bunların yıkımının NTx'in idrardaki miktarına katkısı yoktur. Deoxyypyridinoline, hydroxyproline gibi diğer rezorpsiyon indikatörleri, NTx gibi sadece kemiğe spesifik olmayıp pekçok dokudaki kollajenden kaynaklanır ve örneğin hydroxyprolinin karaciğerden klerensi değişkendir, dolayısıyla atılımı kemik rezorpsiyonu ile zayıf korelasyon gösterir. Bu nedenle NTx kemik metabolizmasındaki değişiklikleri belirlemede diğer indikatörlerden daha sensitif ve spesifiktir ve kemik rezorpsiyonundaki akut artış ve azalışlara cevap verir (36-41).

Materyal ve Metod

Hasta karakteristikleri

Çalışmaya alınan hastalar infertilite nedeniyle Nisan 1998 ile Ocak 1999 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İnfertilite Polikliniğine başvuran hastalar arasından seçildi. Vakaların tümü infertilite nedeni sadece erkek faktörü olan ve IVF-ICSI programı planlanan hastalardan seçildi. 35 yaşından büyük kadınlar, ideal kilosunun %30 üzerinde olanlar, menstrüel siklusun 3.günü bakılan bazal hormon analizinde LH,FSH,estradiol değerleri reproduktif sınırların dışında olanlar, kemik veya mineral metabolizmasını etkileyen hastalığı olan (troid hastalıkları, hipertansiyon,diabetes mellitus...) veya medikasyon alanlar, sigara kullananlar çalışmaya dahil edilmedi. Tüm bu kriterlere uyan 46 hasta çalışmaya alındı.

Kontrollü ovarian stimülasyon

Tüm hastalara "long-step down ovulasyon indüksiyon" protokolü uygulandı.

Tedavi öncesi menstrüel siklusun 21.günü GnRH-a tedavisine başlandı. GnRH-a dozunun seçiminde hastanın tahmini ovarian cevabı

dikkate alındı. Stimülasyona zayıf cevap beklenen hastalar çalışmaya alınmadığından tüm hastalarda 1 mg/gün sc "leuprolide acetate" (Lucrin®; Abboth ilaçları A.Ş.) kullanıldı. GnRH-a ile supresyon 14 gün boyunca veya bu süreden önce adet gören hastalarda siklusun 3.gününe kadar devam edildi. Siklusun 3.günü veya adet görmeyen hastalarda 15.gün ultrasonografi ve serumda estradiol ölçümü ile ovarian supresyonun sağlanıp sağlanmadığı kontrol edildi. Çalışmaya alınan tüm hastalarda bu süre içinde ovarian supresyonun sağlandığı gözlemlendi ($E_2 < 50$ pg/ml). Aynı gün yüksek doz (4-6 ampul/gün IM) gonadotropin (FSH, Follegon®; Organon İlaçları A.Ş. veya Metrodin®, Serono ilaçları A.Ş.) ile ovulasyon stimülasyonu başlatıldı. Daha sonra folliküler recruitment sağlanana dek basamaklı olarak doz günde 1-2 ampule dek düşürüldü. Gonadotropin tedavisi 16-18 mm çapında, 10-15 follikül elde edilinceye kadar, ortalama 1 hafta boyunca devam etti. Tüm hastalarda gonadotropin tedavisi boyunca GnRH-a dozu yarıya düşürülerek devam edildi. Stimülasyonun bittiği gün "insan korionik gonadotropin" (hCG, Pregnyl®; Organon İlaçları A.Ş.) 10.000 IU IM uygulandı ve hCG dozundan 36 saat sonra ultrasonografi rehberliğinde transvajinal yolla oosit pick-up ve IVF-ICSI, ardından 2 veya 3 gün sonra da embriyo transferi yapıldı. Oosit pick-up işlemi takip eden günden itibaren 14 gün boyunca luteal faz desteği amacıyla 50 mg/gün IM progesteron verildi. Embriyo transferinden 12 gün sonra gebelik olup olmadığını belirlemek için serum β hCG bakıldı. Bu aşamalardan herhangi birinde siklus iptalini gerektiren durumun geliştiği hastalar (yetersiz ovarian supresyon, başarısız stimülasyon, başarısız fertilizasyon) çalışma kapsamına alınmadı.

Estradiol ve idrarda N-telopeptid ölçümleri

Hastalarda serum estradiol düzeylerinde farklı değerlerin elde edileceği tahmin edilen 4 ayrı zamanda serum estradiol ve idrar NTx (uNTx) değerlerine bakıldı:

1. GnRH-a tedavisi başlanmadan önceki 21. günde : Bu evredeki estradiol değerleri normal siklus değerleridir.
2. GnRH-a kullanımı sonrasındaki 15.günde veya siklusun 3.gününde, ovarian stimülasyon başlamadan önce: Bu evrede hipotalamus-hipofiz-over aksı suprese olduğundan estradiol değerleri menopoz evresindeki benzer düzeyde baskılanmıştır.
3. hCG dozundan sonraki gün,ovarian stimülasyon sonrasında: Bu evrede estradiol değerleri 3000-4000 pg/ml,yani fizyolojik değerlerin yaklaşık 20 katı gibi oldukça yüksek düzeydedir.
4. Embriyo transferinden sonraki 12.günde: Bu evrede estradiol değerleri normal sınırlara geri dönmüştür.

Estradiol ölçümleri,"immunochemiluminence" tekniği ile yapıldı.

NTx ölçümü için sabah 2.idrar örneği (spot) alındı. Hastada vajinal kanama varlığında idrara kan karışmasını önlemek amacıyla sonda uygulanarak idrar alındı. İdrar örnekleri toplu çalışılacağından -60 °C'de saklandı. NTx, kemikteki N-telopeptid tip I kollajene karşı spesifik bir monoklonal antikorun kullanıldığı "enzyme-linked immunosorbent assay" ile ölçüldü (Osteomark®;Ostex International,Inc.Seattle,Wash).

NTx değerlerini elde etmede uygulanan prosedür

1. Analize başlamadan 1 saat önce NTx kit reaktifi ve tüm idrar örnekleri oda ısısına çıkartıldı. Dondurulmuş örnekler önce 37°C'de su banyosunda çözündürülerek sonra oda ısısına getirildi ve 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi.

2. Yıkama solüsyonu 1\30 deiyonize su ile dilüe edildi ve 5 dakika çalkalamadan karıştırıldı.

3. Kit içinde bulunan antikor konsantresi 1\101 dilüsyon sıvısı ile çözündürülerek çalışma reaktifi hazırlandı.

4. Örnekleri çalışmak için kuyucukların bulunduğu bir disk hazırlandı ve kalibratör, kontrol ve örnekleri koymak için plan oluşturuldu.

5. Kuyucuk planına göre 25 mikrolitre olacak şekilde ayrı ayrı pipetlerle kalibratör, kontrol ve örnekler pipetlendi.

6. Kuyucuklara 200 mikrolitre çalışma reaktifi eklendi. Düz yüzeyde 10 saniye karıştırıldı.

7. Oda ısısında 90 dakika bekletildi.

8. İnkübasyon bitimine 10 dakika kala "kromogen" reaktifi hazırlandı.

9. İnkübasyon sonunda kuyucuklar otomatik olarak 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkanıp kurutuldu.

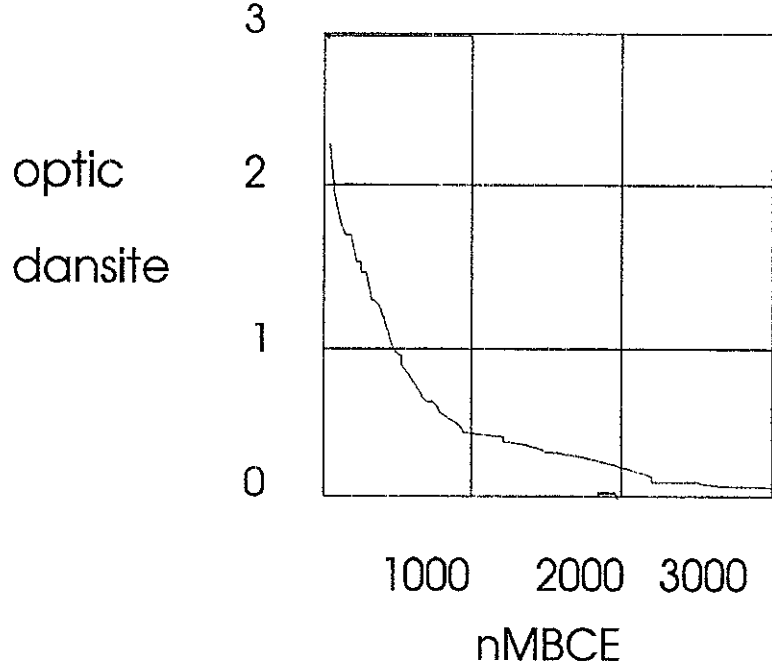
10. Her bir kuyucuğa 200 mikrolitre "kromogen" reaktifi konuldu. Onbeş dakika oda ısısında bekletildi. Bu süre sonunda mavi renk oluştu.

11. Yüz mikrolitre "stopping" reaktif eklendi. Mavi renk sarıya dönüştü. On saniye yavaşça sallandı ve 5 dakika bekletildi.

12. Otomatik olarak 450 nm'de absorbanlar okundu.

Kalibrasyon eğrisi (Şekil II) oluşturularak kontroller ve idrar örneklerinin NTx konsantrasyon değerleri (nanomoles bone collagen equivalents-nM BCE) belirlendi.

kalibrasyon curve



Şekil II : Kalibrasyon eğrisi.

BCE değeri, bakterial kollajenaz etkisini takiben kemik kollajenden serbestleşen immunoreaktif NTx miktarını yansıtır.

Ayrıca otoanalizörde "Jaffe reaksiyonu" ile tüm idrar örneklerinin kreatinin değerleri okundu (mg/dl kreatinin). Bulunan uNTx konsantrasyon değerleri üriner kreatinin değerleri ile dilüe edilerek düzeltildi ve sonuçlar "nanomoles of bone collagen equivalents/milimoles of creatinine" (nM BCE/mM kreatinin) olarak rapor edildi.

Örnek: uNTx konsantrasyon değeri = 360 nM BCE

İdrar kreatinin = 60 mg/dl kreatinin

11.3*

= 5.3 mM kreatinin

360 nM BCE

5.3 mM kreatinin

= 68 nM BCE/mM kreatinin

* mg/dl kreatinin değeri, mM kreatinin değerine çevirmek için kullanıldı

İstatistiksel metodlar

Estradiol ve uNTx değerleri arasındaki korelasyonu değerlendirmek için "Spearman correlation coefficients" kullanıldı. Dört farklı zamanda ölçülen E2 ve uNTx değerlerinin kendi aralarındaki değişiminin istatistiksel analizi için "repeated measure ANOVA" kullanıldı. GnRHa kullanım süresi farklı olan gruplar arasındaki (12 günden az ve 12 gün ve üzerinde; 13 günden az ve 13 gün ve üzerinde; 14 günden az ve 14 gün ve üzerinde kullananlar) E2 ve uNTx değerlerinin değişimini değerlendirmek için "student t" testi kullanıldı. GnRHa ile ovarian supresyon sonrası E2 ≤ 25 pg/ml ve E2 > 25 pg/ml olan hastalar arasındaki uNTx değerlerinin değişimini değerlendirmek için yine "student t" testi kullanıldı. İstatistiksel olarak p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan 46 infertil olgunun ortalama yaşı \pm SD 28.1 ± 3.7 olup tüm olguların bazal FSH,E2 değerleri reproduktif düzeylerde idi. Troid fonksiyon testleri normal sınırlardaydı. Gonadotropin tedavisi öncesinde GnRHa kullanım süresi ortalama \pm SD 12.6 ± 2.8 gün,gonadotropin kullanma süresi ortalama \pm SD $10,2 \pm 2.9$ gün ve total gonadotropin dozu ortalama \pm SD 54.0 ± 16.3 ampul idi (Tablo III).

Tablo III: Hastaların yaş,kilo,bazal FSH ve E2 değerleri,GnRHa kullanma süresi, gonadotropin kullanma süresi ve total dozu

	Ortalama değer	Standart sapma	En küçük değer	En büyük değer
Yaş (yıl)	28,1	3,7	20	35
Kilo (kg)	64,4	8,8	50	88
Bazal FSH (mIU/ml)	6,3	1,4	2,6	9,1
Bazal E2 (pg/ml)	41,6	68,4	25	131
GnRHa kullanım süresi (gün)	12,6	2,8	8	18
Gonadotropin kullanım süresi (gün)	10,2	2,9	8	22
Total gonadotropin dozu (ampul)	54	16,3	28	88

Estradiol değerleri ortalamaları sırasıyla 21. gün, GnRHa sonrası, hCG enjeksiyonunu takip eden gün ve β hCG günü için 119 ± 67 , 11.0 ± 12.6 , 2865 ± 1614 , 169 ± 404 pg/ml, uNTx için yine sırasıyla 71.5 ± 34.2 , 81.4 ± 39.9 , 80.8 ± 50.1 , 82.1 ± 46.5 nM BCE/mM kreatinin idi (Tablo IV).

Tablo IV: Dört farklı zamanda ölçülen ortalama E2 ve uNTx değerleri

	21. gün	GnRHa sonrası	Gonadotropin sonrası	β hCG günü
Ortalama E2 (pg/ml)	119,6	11,04	2865,91	169,51
Ortalama uNTx (nM BCE/mM kreatinin)	71,5	81,44	80,89	82,19

Estradiol ve uNTx değerleri arasındaki korelasyon 4 farklı ölçüm için değerlendirildi:

21. gün E2 ile NTx değerleri arasındaki korelasyon katsayısı (r)= -0.36 , $p=0.015$

3. gün E2 ile NTx için $r=0.057$, $p=0.708$

hCG enjeksiyonundan sonraki gündeki E2-NTx için $r=-0.2343$, $p=0.126$

β hCG günü E2-NTx için $r=-0.1282$, $p=0.413$

Sadece 21. gün E2 ile NTx değerleri arasındaki korelasyon anlamlıydı, buna göre E2 ile uNTx arasında ters bir ilişki mevcuttu, diğer değerler arasındaki korelasyon ise anlamsızdı.

Dört farklı zamandaki estradiol değerleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için "repeated measure ANOVA" testi yapıldığında E2 değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.000$), (Grafik I).

NTx değerleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde 4 farklı zamandaki NTx değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0.286$), (Grafik I).

GnRHa kullanım süresi ortalama 12.6 ± 2.8 idi. GnRHa kullanım süresinin uNTx üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla, 12 günden az GnRHa kullanan ve 12 gün ve üzerinde GnRHa kullanan hastalar arasındaki uNTx değerlerinin değişimi analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,069$). 12 günden az GnRHa kullanan 16 kadın ve 12 gün ve üzerinde GnRHa kullanan 29 kadının GnRHa kullanım sonrası uNTx değerlerinin ortalamaları \pm SD sırasıyla 66.9 ± 38.2 ve 89.4 ± 39.1 nM BCE/mM kreatinin idi. GnRHa ile supresyon sonrası E2 ortalama değerleri ise sırasıyla 10.1 ± 11.5 ve 11.5 ± 13.4 pg/ml olup istatistiksel olarak farklılık yoktu ($p=0,722$). Benzer bir değerlendirme 13 günden az GnRHa kullanan hastalar ile 13 gün ve üzerinde GnRHa kullanan hastalar arasında yapıldığında ilk grupta 22, ikinci grupta 24 hasta vardı ve GnRHa kullanım sonrası uNTx değerlerinin ortalamaları \pm SD 74.7 ± 38.7 ve 90.4 ± 41.8 nM BCE/mM kreatinin iken E2 ortalamaları \pm SD sırasıyla 9.6 ± 11.0 ve 11.8 ± 14.0 pg/ml idi. E2 ve uNTx değerleri arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,561$ ve $p=0,196$). 14 günden daha az GnRHa kullananlar ile 14 gün ve üzerinde kullananlar karşılaştırıldı. 27 kadın 14 günden az GnRHa kullanırken 18 kadın 14 gün ve daha fazla kullanmıştı ve GnRHa kullanım sonrası uNTx ortalamaları \pm SD sırasıyla 71.5 ± 36.8 , 96.2 ± 40.7 nM BCE/mM kreatinin idi. İki gruptaki GnRHa kullanım sonrası uNTx değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p=0,040$). Bu iki grupta GnRHa ile supresyon sonrası E2 değerlerine bakıldığında, 14 günden az kullananlarda E2 ortalaması \pm SD 9.2 ± 11.0 pg/ml, 14 gün ve üzerinde GnRHa kullanan grupta ise 13.6 ± 14.6 pg/ml idi. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,262$), (grafik II). Benzer bir istatistiksel analiz 15 günden az GnRHa kullanan hastalar ile 15 gün ve üzerinde GnRHa kullanan hastalar arasında yapıldığında ilk gruptaki 35 kadının uNTx ve E2

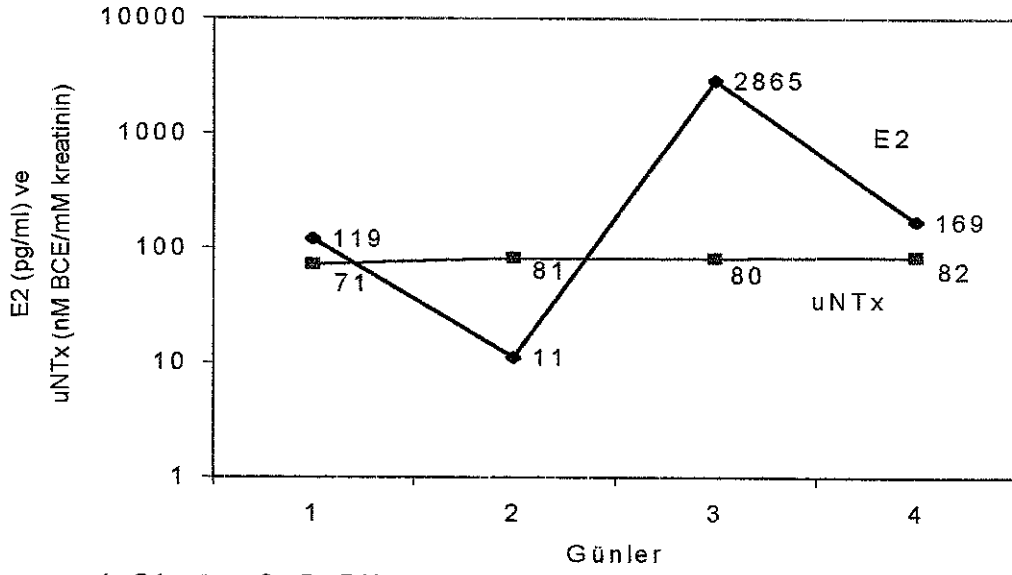
ortalaması \pm SD sırasıyla 75.0 ± 37.0 nM BCE/mM kreatinin, 10.8 ± 13.2 pg/ml iken ikinci gruptaki 11 kadının değerleri sırasıyla 108 ± 43.4 nM BCE/mM kreatinin ve 10.9 ± 10.8 pg/ml idi. İki grup arasındaki uNTx değerleri istatistiksel olarak farklı idi ($p=0,017$), ancak E2 değerleri arasında diğerlerinde olduğu gibi farklılık yoktu ($p=0,980$), (tablo V).

Tablo V : Farklı GnRHa kullanım sürelerinde E2 ve uNTx değerleri

GnRHa kullanım süresi ve p değerleri	Vaka sayısı	E2 ortalamaları	uNTx ortalamaları
< 12	16	10.1	66.9
≥ 12	29	11.5	89.4
p değeri		0.069	0.722
< 13	22	9.6	74.7
≥ 13	24	11.8	90.4
p değeri		0.561	0.196
< 14	27	9.2	71.5
≥ 14	18	13.6	96.2
p değeri		0.262	0.040
< 15	35	10.8	75.0
≥ 15	11	10.9	108
p değeri		0.980	0.017

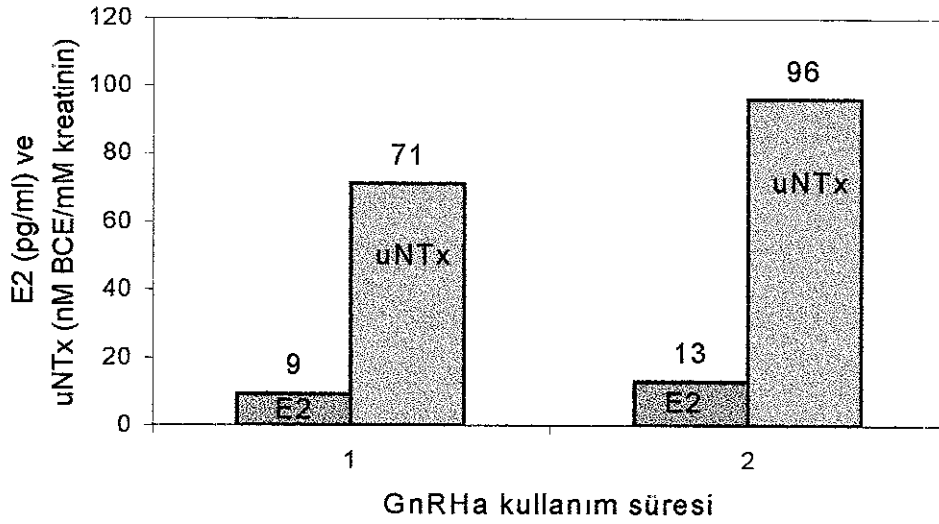
GnRHa kullanımı sonrasında hipofiz-over aksında sağlanan supresyonun, yani E2 değerlerindeki düşüşün derecesinin kemik rezorpsiyonunu nasıl etkilediğini değerlendirmek açısından $E2 \leq 25$ pg/ml ve $E2 > 25$ pg/ml olan hastalar karşılaştırıldı. 39 hastada $E2 \leq 25$ pg/ml iken 6 hastada $E2 > 25$ pg/ml idi ve GnRHa kullanım sonrası ölçülen uNTx değerlerinin ortalamaları \pm SD sırasıyla 81.1 ± 40.0 ve 83.6 ± 42.8 nM BCE/mM kreatinin idi. İki grup arasında istatistiksel olarak farklılık anlamlı değildi ($p=0,886$).

Grafik I: E2 ve uNTx ortalama değerleri



1=21 gün 2=GnRHa sonrası 3=Gonadotropin sonrası 4=BhCG günü

Grafik II: 14 günden az ve 14 gün ve üzerinde GnRHa kullanımına bağlı E2 ve uNTx değerlerindeki değişiklikler



1= 14 günden az GnRHa kullananlar
2= 14 gün ve üzerinde GnRHa kullananlar

Tartışma

Büyümekte olan kemikler dışında, normal olarak kemiğin depolanma ve absorpsiyon hızları birbirine eşit olduğu için, kemiğin toplam kitlesi sabit kalır. Kemik metabolizmasındaki bu dengenin sağlanmasında östrojenin önemli rolü vardır. Östrojen, kemik remodelling siklusunun aktivasyon frekansını inhibe etmek için yüksek afiniteli reseptörler sayesinde kemik hücrelerinde direkt etkiye sahiptir (21). Yine osteoblastlardaki östrojen reseptörleri sayesinde osteoblast performansı üzerine direkt etkisi ile osteoblastik aktiviteyi artırır (18). Menopoz veya ooferektomi sonrası hormon dinamiğinde oluşan değişiklikler, kemik rezorpsiyon ve formasyonundaki artışla karakterize olan yüksek kemik metabolik turnover olayına neden olur. Kemik rezorpsiyonundaki artış, kemik formasyonundaki artışın üzerindedir, bu da kemik mineral dansitesinde azalmaya neden olur. Menopozun başlamasından önce bile, östrojen konsantrasyonundaki geçici azalma, menopoz veya ooferektomi sonrası oluşan kemik mineral dansitesindeki azalma ile kıyaslanabilir derecede kemik mineral dansitesinde azalmaya neden olabilir (42). Yine klinik çalışmalar göstermiştir ki, ovarian östrojen üretimini suprese ettiğinden dolayı GnRHa kullanımı, erken postmenopozal kadınlardakine benzer kemik rezorpsiyonuna neden olabilmektedir (43-45).

Bu çalışmada IVF hastalarında long protokol GnRHa kullanımı sırasındaki ovarian östrojen supresyonunun kemik rezorpsiyonunu etkilemediği bulundu ($p=0,286$). Burada GnRHa kullanımının kemik rezorpsiyonuna etkisi araştırılırken, leomyom, endometriozis gibi jinekolojik nedenlerle uzun süreli (3 ay veya daha fazla) GnRHa kullanımından farklı olarak, ortalama 12.6 gün gibi çok daha kısa süreli GnRHa kullanımı sonrasında östrojen supresyonunun sağlanması söz konusuydu. GnRHa ile östrojen supresyonunun kemik turnover üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmaların tümünde, östrojen düzeylerindeki azalmanın aylar, yıllar içindeki etkisi belirtilmiştir. Oysa GnRHa'nın kısa süreli kullanımlarında olumsuz etkisi olup olmadığını, dolayısıyla kemik metabolizmasındaki etkisinin en erken ne zaman başladığını araştırmak için planlanmış çalışma yoktur. Nakayama (46) kemik metabolizmasının değerlendirilmesinde kullanılan indikatörleri araştırırken, GnRHa tedavisinin 2. ayında serum östrojen seviyelerinin belirlenemeyecek düzeylere düştüğünü, Marshall (45) GnRHa kullanımı sırasında 40 günde E2'nin 20 pg/ml'nin altına düştüğünü saptamıştır. Mann (47) kadınlarda menopozun başlaması veya medikal oofektomi sonrası kemik kaybı için model olarak maymunlarda yaptığı çalışmada, GnRHa tedavisinin 5 haftasında serum E2 ve progesteron konsantrasyonlarının alt seviyelere düştüğünü ve ovarian steroidogenezdaki bu azalmanın kemik mineral dansitesindeki azalma ile paralel olduğunu belirtmiştir. Dawood (48) endometrioziste GnRHa kullanımı sırasında 3 ayda belirgin kemik kaybının olduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda kısa süreli östrojen supresyonunun etkisinin araştırılması, IVF hastalarındaki kemik turnover durumunu göstermenin yanında, östrojen supresyonu sonrası ne kadar kısa

sürede kemik rezorpsiyonunun başladığı sorusuna ışık tutması açısından önemliydi.

GnRHa ile supresyon dışında ani östrojen eksikliğini takiben ne zaman kemik kaybının başladığına dair yapılan çalışmalar da kısıtlı sayıdadır. Ooferektomize ratlarda yapılan bir çalışmada, postoperatif 6. günde femur kesitlerinde asit fosfataz yüzeylerinde artış (osteoklast benzeri hücreleri belirlemede kullanılmıştır) ve üriner hidroksiprolin atılımında artış tesbit edilmiştir ve ooferektomi sonrası 6.günde kemik rezorpsiyonunda sistemik bir artış olduğu, bu artışın ancak 9.günde başlayan kemik formasyonundaki artıştan daha fazla olduğu gösterilmiştir (49). Nakamuta (50) da ratlarda ooferektominin 2 hafta içinde akut ve fokal osteopeniye neden olduğunu bulmuştur.

Bizim çalışmamızda ortalama 12.6 gün GnRHa kullanımı sonrasında estradiol düzeylerinde supresyon sağlanmış olmasına rağmen uNTx değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu da IVF hastalarında long-protokol GnRHa kullanımının kemik rezorpsiyonunu arttırmadığını, dolayısıyla kısa süreli GnRHa kullanımının kemik metabolizmasına olumsuz etkisi olmadığını gösterir. Ancak verilere dikkat edildiğinde GnRHa sonrası E2 ortalama değerleri 119 ± 67 pg/ml'den 11.0 ± 12.6 pg/ml'ye düşerken, uNTx ortalama değerleri 71.5 ± 34.2 nM BCE/mM kreatinin seviyesinden 81.4 ± 39.9 nM BCE/mM kreatinin seviyesine yükselmiştir, bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen bir artma eğilimi izlenmektedir. Yine çalışmanın verilerine göre elde edilen diğer bir sonuç, GnRHa kullanımının 14.günüden itibaren uNTx değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir ($p=0,040$). Bu da GnRHa kullanımının ilk 2 haftadan sonra kemik rezorpsiyonunu arttırdığını göstermektedir. Fakat bu açıdan bakıldığında, bizim çalışmamız ooferektomi sonrası ortalama 1 hafta sonra

kemik rezorpsiyonunda artışın başladığını gösteren çalışmalar ile kıyaslanamaz, çünkü ooferektomi sonrası östrojen düzeylerinde ani bir düşüş olurken, burada ilk 5 gün içinde GnRHa'nun flare-up etkisi söz konusudur ve klasik bilgilere göre 5-10 gün içerisinde hipofiz suprese olur. Dolayısıyla ortalama 12.6 gün kullanılan GnRHa sonrası uNTx ölçümü yapıldığında ovarian supresyon henüz 1 haftadan daha kısa iken, ancak GnRHa kullanımı 14 gün ve üzerine çıkıldığında supresyon süresi ortalama 1 haftaya uzamakta ve kemik rezorpsiyonunda artış başlamaktadır. Sonuçta bu çalışma, ooferektomi sonrası ortalama 1 hafta sonra kemik rezorpsiyonunda artışın başladığını gösteren çalışmalar ile birebir kıyaslanamaz ise de dolaylı olarak bu çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Eğer çalışma günlük E2 ve uNTx ölçümü yapılması şeklinde planlanmış olsaydı, GnRHa kullanımı ile oluşan flare-up etkinin süresi, sonrasında supresyonun ne zaman ortaya çıktığı ve supresyon sonrası kemik rezorpsiyonunun ne zaman başladığı daha kesin olarak belirlenebilirdi. Ancak çalışmamızdaki asıl amaç GnRHa kullanımı sonrası ne zaman kemik metabolizmasında değişim başladığını belirlemek değil, IVF sikluslarında long protokol GnRHa kullanımının kemik metabolizmasını etkileyip etkilemediğini araştırmak olduğundan günlük uNTx ölçümü yapılmamıştır. Ayrıca GnRHa kullanımı sonrası kemik metabolizmasındaki değişimin ne zaman başladığının belirlenebilmesi için, jinekolojik nedenlerle uzun süreli GnRHa kullanımı sırasında haftalık ve hatta ilk haftalarda günlük uNTx ölçümü yapılacak daha detaylı araştırmaların planlanması uygun olacaktır. Bu soruya açıklık getirilmesinin önemi, pek çok nedenle uzun süreli kullanımının yaygınlaştığı bir ajanın her yönüyle tanınması gerekliliğindedir, ayrıca sadece GnRHa ile supresyon sonrası değil, genel anlamda ovarian östrojen

supresyonunu takiben ne kadar erken dönemde kemik rezorpsiyonunun başladığını belirlemek açısından gereklidir.

Çalışmadaki diğer basamak, gonadotropin kullanımı ile fizyolojik değerlerin 10-20 katına yükselen serum estradiol değerlerinin kemik metabolizmasına etkisinin belirlenmesiydi. Daha önce östrojenin ani ve kısa süreli fizyolojik sınırların çok üzerinde artışının kemik metabolizmasına etkisi araştırılmamıştır. 1950'li yıllarda yüksek doz östrojen-progesteron kullanımı ile "psödogestasyon" ortamı sağlamanın terapötik etkinliği olduğu gösterilmiştir (51) ve hipoplazik uterus ve meme tedavisinde kullanılmıştır, ancak son zamanlarda hemen hemen hiç kullanılmamaktadır. Ulrich ve arkadaşları(31), osteopenik hastalarda yüksek doz parenteral östrojen ve progesteronun etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada hastalara 6 ay boyunca haftada bir IM 40 mg "estradiol valerate" ve 250 mg "hydroxyprogesterone caproate" vermişlerdir. E2 değerleri 34 ± 7 pg/ml'den 3.ayın sonunda 3226 ± 393 ve 6.ayın sonunda 2552 ± 254 pg/ml'a yükselirken kemik mineral dansitesi ilk 3 ayda $\%15 \pm 3$ ve 6 ayın sonunda total $\%18 \pm 3$ artmıştır. Bizim çalışmamızda ortalama 10.2 gün, total 54 ampul FSH kullanımı sonrasında ortalama E2 değeri 11.0 ± 12.6 pg/ml'den 2864 ± 1614 pg/ml'ye (min 621 pg/ml - max 6576 pg/ml) yükselmiştir. GnRHa ile östrojen supresyonu sonrasında bu derece yükselen östrojen seviyeleri karşısında uNTx değerlerinde 81.4 ± 39.9 nM BCE/mM kreatinin seviyesinden 80.8 ± 50.1 nM BCE/mM kreatinin seviyesine düşüş olmuştur, bu da istatistiksel olarak anlamlı bir azalma değildir ($p=0,286$). Bu çalışmada E2 değerleri ani ve kısa süreli yüksek düzeylerde artış göstermiştir ve sonuçlar bu paterndeki değişimin kemik metabolizması üzerine etkisi olmadığını göstermektedir.

Çalışmanın takip eden aşamasında ise, pik E2 düzeylerinin fizyolojik sınırlara düşüşü sırasında (2864 ± 1614 pg/ml'den 169 ± 404 pg/ml'ye) kemik metabolizmasında değişim olup olmadığı araştırıldı. İki hafta içerisinde E2 seviyesindeki bu düşüş karşısında uNTx değerlerinde 80.8 ± 50.1 nM BCE/mM kreatinin seviyesinden 82.1 ± 46.5 nM BCE/mM kreatinin seviyesine olan minimal bir artış olup istatistiksel olarak anlamlı bir değişme saptanmadı ($p=0,286$).

Dört farklı zamandaki her bir E2 ve uNTx değerleri arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde, 21.gün ölçülen E2 ve uNTx değerleri arasında negatif korelasyon varken ($r=-0,36$; $p=0.015$), diğer günlerdeki ölçümlerde korelasyon anlamlı değildi. Marshall (45) GnRHa tedavisi sırasında kemik rezorpsiyonunu monitörize etmek için uNTx kullanımı üzerine yaptığı çalışmasında, tedavinin 3.ayından sonra E2 ve uNTx ölçümleri arasında önemli bir negatif korelasyon saptamıştır. Bizim çalışmamızda saptadığımız 21.gün E2 ve uNTx değerleri arasındaki korelasyon, kadının doğal siklustaki durumunun, yani uzun süredir mevcut, stabil durumunun göstergesidir, diğer 3 ölçüm ise IVF siklusundaki değişimlere aittir. Bu veriler de yine long-step down ovulasyon indüksiyon protokolündeki kısa süreli E2 dalgalanmalarının kemik rezorpsiyonuna etkisi olmadığını göstermektedir.

Estradiol ve uNTx değerlerindeki değişime bakıldığında (grafik I), E2 değerlerindeki dalgalanmalar son derece barizdir. uNTx değerlerinde ise istatistiksel olarak farklılık yoktur. Yani E2-uNTx ilişkisinin gösterildiği çalışmaların aksine, E2 dalgalanmaları karşısında uNTx değerlerinde beklenen negatif korelasyon burada istatistiksel olarak anlamlı değildir, ancak dikkat edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da E2 değerlerindeki azalma sırasında uNTx seviyelerinde artış ve E2

değerlerinin artışı karşısında uNTx değerlerinde azalış şeklinde bir değişim mevcuttur. Bu da kemik rezorpsiyonu açısından, E2 değerlerindeki dalgalanmaların derecesinden ziyade süresinin önemli olduğunu göstermektedir. Eğer E2 düzeylerindeki değişimin süresi daha uzun tutulseydi, belki de negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı olacaktı.

Bu çalışmaya 35 yaşından küçük kadınlar alındı. Aynı çalışma 35 yaşından büyük IVF hastalarında planlanacak olsaydı, belki aynı E2 dalgalanmaları karşısında uNTx değerlerinin değişimi farklı olabilir, östrojen supresyonu durumunda uNTx değeri artabilirdi. Çünkü 35 yaşından sonra kemikte rezorpsiyon lehine turnover artışı başlamaktadır. Bu durumda, E2'ün kısa süreli dalgalanmalarının, kemik depolanma ve absorpsiyon hızlarının dengeli olduğu 35 yaşından önce, kemik metabolizmasındaki dengeyi bozmadığı gösterilmiş olacaktır.

GnRHa kullanımının 14. gününden itibaren uNTx değerlerindeki artış yani kemik rezorpsiyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Oniki gün ve üzerinde kullanıldığında $p=0,069$ ve 13 gün ve üzerinde kullanıldığında $p=0,196$ iken, 14 gün ve üzerinde $p=0,040$ ve 15 gün ve üzerinde $p=0,017$ idi. Ancak 14.günden itibaren kemik rezorpsiyonunun başladığını tesbit etmiş olmamıza rağmen, ne 14 gün ve üzerinde GnRHa kullanan grup ile 14 günden az kullanan grup arasında E2 değerlerinin supresyonu açısından farklılık saptandı ($p=0,262$), ne de 15 gün ve üzerinde GnRHa kullanan grup ile 15 günden az kullanan grup arasında E2 değerlerinin supresyonu açısından farklılık saptandı ($p=0,980$). Böyle bir tablo GnRHa kullanımının kemik rezorpsiyonunda artışa, bilinen östrojen supresyonu üzerinden etkisi dışında başka bir takım faktörler aracılığıyla da neden olabileceği düşüncesini akla getirmektedir. Belki de GnRH analoglarının direkt kemik üzerinden kemik metabolizmasına etkisi söz konusudur. Çünkü çalışmamızda kemik metabolizmasını

etkileyebilecek ileri yaş, fazla kilo, sigara kullanımı, reproduktif sınırların dışında FSH, E2 değerleri, erkek faktörü dışında infertilite sebepleri (anovulasyon gibi), hipertansiyon ve hipo-hipertroidi gibi medikal hastalıklar, ilaç kullanımı tamamen ekarte edilmiştir ve 14 günden az GnRHa kullanan grup ile daha fazla kullanan grup arasında yaş, kilo, bazal FSH, bazal E2 değerleri arasında istatistiksel fark yoktu (sırasıyla $p=0,987$, $p=0,091$, $p=0,066$, $p=0,443$).

Çalışma sonuçları kısa süreli E2 dalgalanmalarının kemik metabolizmasına etkisi olmadığını ve aynı zamanda kısa süreli dalgalanmalarda son derece yüksek E2 değişimleri karşısında uNTx seviyelerindeki değişimin 1-2 nM BCE/mM kreatinin gibi küçük birimler şeklinde negatif korelasyon gösterdiğini ve bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ortaya koymaktadır. Dmowski ve arkadaşlarının (52), GnRHa veya danazol ile oluşan hipoöstrojenizm sırasında kemik metabolizmasındaki değişimi belirlemede uNTx ve E2'ün etkinliğini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, kemik kaybı için E2 eşik değerinin kişiden kişiye değiştiği ve uNTx'in L1-L2 kemik mineral dansitesindeki değişimi E2'den daha iyi tahmin ettiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızdaki ölçülen tüm E2 değerleri arasındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen, uNTx değerleri arasındaki değişimde istatistiksel farklılık olmaması, 21.gün E2 ve uNTx değerleri arasında negatif korelasyon olmasına rağmen diğer üç ölçüm arasında anlamlı korelasyon olmaması, yine 14 gün ve üzerinde GnRHa kullanımı ile kemik rezorpsiyonunun başladığını tesbit etmiş olmamıza rağmen, 14 gün ve üzerinde GnRHa kullanan kadınlar ile 14 günden az kullanan kadınlar arasında E2 değerlerinin supresyonu açısından farklılık saptanmaması bir anlamda Dmowski ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarını desteklemektedir. Klinik çalışmalar serum E2 seviyeleri >25 pg/ml iken

önemli kemik kaybı olmadığını göstermiştir (53). Oysa bizim çalışmamızda $E2 \leq 25$ pg/ml ve $E2 > 25$ pg/ml olan hastaların uNTx değerleri arasında farklılık saptanmadı ($p=0,886$). Tüm bu veriler kemik rezorpsiyonunu belirlemede, belki de sadece kısa süreli E2 dalgalanmalarının olduğu durumlarda, E2 değerinin uNTx kadar prediktif olmadığını göstermektedir. Eğer bu çalışma planı, kemik metabolizmasındaki kısa süreli değişimleri ölçmek için NTx'e ek olarak değişimlere sensitif ve spesifik başka bir indikatörün de kullanılması şeklinde genişletilecek olursa, belki de kemik metabolizmasındaki bu kısa süredeki değişimlerin etkisini belirlemede uNTx'in E2'den daha duyarlı olduğunu verilere dayalı olarak görebileceğiz.

“Oosit pick-up” işlemi takip eden günden itibaren 14 gün boyunca luteal faz desteği amacıyla progesteron kullanımının kemik turnover üzerine etkisini belirlemek bu çalışmada mümkün olmamıştır. Çünkü bunun için progesteron kullanmayan ya da farklı dozda kullanan 2. bir grup oluşturulması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda östrojeniz sadece progestin kullanımının kemik rezorpsiyonunu önlediği gösterilmiştir (54). Östrojen replasman tedavisine progestin eklenmesi de kemik kitlesinde artışa neden olabilir. Osteoblast benzeri hücrelerde östrojen reseptörleri vardır ve bu hücrelerdeki östrojenin fonksiyonel aktivitelerinden biri progesteron reseptör formasyonunu oluşturmaktır. Böylece kemikte östrojen ve progesteron arasında yakın bir ilişki olabilir. Östrojenden bağımsız olarak, progestin kemik formasyonunu provoke ederken östrojen kemik rezorpsiyonunu önler. Progestinin bu etkisi, muhtemelen, osteoblastlardaki progesteron reseptörleri tarafından yönetilen direkt etkidir. Bununla birlikte indirekt etki olabileceği de desteklenmiştir. Çünkü kemikteki glukokortikoid reseptörlerinde glukokortikoidlerle yer değiştirebilir. Glukokortikoidler reseptör aracılığıyla osteoblastların

inhibisyonunu sağlayarak yeni kemik formasyonunu bloke eder (55). Yapılan çalışmalarda karşıt görüşler de vardır. Osteoporoz tedavisinde östrojen replasmanına progesteron eklenmesinin ek fayda sağlamadığı (56) ya da tek başına verilen progesteron tedavisinin kemik kaybını önlemediği (57) gösterilmiştir. IVF sikluslarında progesteron kullanımının kemik turnover üzerine etkisini belirlemek için, hCG kullanan 2 bir grup oluşturularak çalışma planlanabilir, ancak bunu belirlemenin, progesteronun kısa süreli kullanımının etkisini öğrenmenin dışında bilimsel katkısı olmayacaktır.

Sonuçlar

Kemik metabolizmasındaki dengenin sağlanmasında östrojenin rolü önemlidir. Bugüne kadar hormon düzeyleri ve kemik rezorpsiyonu ile kemik formasyonu arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların tümü bunu göstermektedir. Menopoz ile ya da jinekolojik nedenlerle GnRHa kullanımını takiben oluşan hypoöstrojenizmin kemik rezorpsiyonunda artışa neden olduğu kesin olarak bilinmektedir. Yine GnRH-a kullanımı sonrası hypoöstrojenizmin ortadan kalkması ile kemik rezorpsiyonunun geri dönüşümlü olduğu, menopoze hastalarda hormon replasman tedavisinin kaçınılmaz olduğu klasik bilgi halini almıştır.

“Long-step down” ovulasyon indüksiyon protokolü uygulanan IVF hastalarında bu protokole göre, tedavi öncesi menstruel siklus midluteal fazında GnRHa ile hipotalamus-hipofiz-over aksı suprese edilmekte, dolayısıyla yaklaşık 2 hafta süren bu tedavi ile estradiol değerleri menopozal düzeylere düşmektedir. Takip eden siklusta ise gonadotropin ile ovulasyon stimülasyonu yapılmakta ve yaklaşık 10 gün süren bu stimülasyon sonunda estradiol değerleri 3000-4000 pg/ml gibi oldukça yüksek değerlere ulaşmaktadır. Bu safhada oosit pick-up yapılan hastaların estradiol değerleri kısa sürede normal fertil düzeylere düşmektedir. Sonuçta IVF hastalarında, estradiol düzeylerinde 10-15 gün gibi kısa sürelerde ve fizyolojik sınırların dışında dalgalanmalar olmaktadır. Estradiol

düzeyleindeki bu değişimin “kemik turnover” üzerine etkisi bilinmemektedir. Estradiol düzeyleindeki kısa süreli ve büyük dalgalanmaların kemik metabolizmasına etkisini araştırmak amacıyla yaptığımız çalışmanın verilerine göre elde ettiğimiz sonuçlar şunlardır:

- IVF hastalarındaki estradiol düzeylerinin kısa süreli değişimlerinin kemik metabolizmasına etkisi yoktur.
- Kemik metabolizmasına etkiyi belirleyen estradiol dalgalanmalarının ne kadar yüksek olduğu değil,süresidir.
- GnRH analoglarının kısa süreli kullanımının kemik rezorpsiyonu üzerine olumsuz etkisi yoktur.
- GnRHa kullanımı 14 gün ve üzerinde kullanıldığında kemik rezorpsiyonu başlamaktadır.
- Kısa süreli dalgalanmalarda E2 ile uNTx arasında negatif korelasyon yoktur

Daha kapsamlı planlanacak çalışmalarla verilere dayandırılarak kesin sonuca varılması gereken bazı varsayımlar şöyledir:

- Ooferektomi sonrasında olduğu gibi,GnRHa ile hipoöstrojenizm sağlandıktan sonra 6-7.günde kemik rezorpsiyonu başlıyor olabilir.
- Östrojen düzeyleindeki kısa süreli değişimlerde uNTx ölçümü,E2 ölçümünden daha duyarlı olabilir.
- Kemik metabolizmasının dengede olduğu 35 yaş öncesinde, östrojen düzeyleindeki kısa süreli değişimin kemik metabolizmasına etkisi olmayabilir.
- GnRH analoglarının kemik metabolizmasına etkisi,bilinen hipoöstrojenizm etkisi dışında direkt kemik üzerinden de olabilir.

Sonuç olarak, IVF hastalarında GnRHa ve gonadotropinler ile oluşan östrojen dalgalanmalarının kemik turnover üzerine etkisi yoktur ve GnRHa 14 gün ve daha uzun kullanıldığında kemik rezorpsiyonu başlamaktadır.

Özet

Amaç: IVF hastalarındaki kısa süreli, büyük estradiol dalgalanmalarının kemik metabolizması üzerine etkisini belirlemek.

Plan: Akdeniz Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İnfertilite Polikliniğinde erkek faktörü nedeniyle IVF-ICSI programına alınan 46 kadın çalışmaya alındı ve tümüne long-step down ovulasyon indüksiyon protokolü uygulandı. Estradiol düzeylerinde dalgalanmaların olması gerektiği tahmin edilen 4 farklı zamanda kemik rezorpsiyonun en spesifik ve sensitif indikatörü olan uNTx ölçüldü.

Bulgular: 4 farklı zamandaki E2 değerleri arasındaki farklılık anlamlı ($p=0,00$) iken, eş zamanlı uNTx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,286$). 21 gün ölçülen E2 ve uNTx arasında negatif korelasyon varken ($r=-0.36, p=0.015$), diğer günlerdeki ölçümlerde korelasyon anlamlı değildi (3.gün $r=0.057, p=0.708$; hCG enjeksiyon sonrası günde $r=-0.2343, p=0.126$; β hCG günü $r=-0.1282, p=0.413$). GnRHa'nın 14 gün ve daha uzun kullanıldığı grup ile 14 günden az kullanıldığı grupta supresyon sonrası NTx değerleri arasında anlamlı farklılık saptandı ($p=0,040$).

Sonuç: Long-step down ovulasyon indüksiyon protokolü uygulanan IVF hastalarındaki E2'ün kısa süreli dalgalanmaları kemik metabolizmasındaki dengeyi bozmamaktadır. GnRH analoglarının kısa süreli kullanımının kemik rezorpsiyonu üzerine olumsuz etkisi yoktur. GnRHa ile 14 günden itibaren kemik rezorpsiyonu başlamaktadır. Kısa süreli dalgalanmalarda E2 ile uNTx arasında negatif korelasyon yoktur.

Kaynaklar

1. Speroff L, Simpson JL, Sciarra JJ. In vitro fertilization and embryo transfer. Sciarra Gynecology and Obstetrics. Revised Edition-1992 97(5):4-5.
2. Raven P, Bergqvist A, Hansen MA, Overgaard K, Christiansen C. Treatment of endometriosis with the luteinizing hormone-releasing hormone agonist nafarelin. Effect on bone turnover and bone mass. Menopause. 1994;1:11-17.
3. Masahashi T, Negoro Y, Asai M, Suzuki M, Noguchi M, Nakanishi M, Tomita A. Bone mineral content in premenopausal women treated with gonadotropin-releasing hormone analogue. Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi. 1992;44(5):577-580.
4. Christiansen C, Riis B, Rodbro P. Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. Lancet 1987;1:1105-1108
5. Borderia D, Cherruau B. Biochemical markers as predictors of bone mineral density changes after GnRH agonist treatment. Calcif Tissue Int 1998 Jan;62(1):21-25
6. Riggs BL, Melton LJ. The prevention and treatment of osteoporosis. N Engl J Med 1992;327:620-627
7. Black AJ, Topping J, Durham B, Farquharson RG, Fraser WD. Assessment of biochemical markers of bone turnover in pregnant women. Department of Clinical Chemistry, Royal Liverpool University Hospital, Liverpool, UK L7XP and Liverpool Women's Hospital, Liverpool, UK L8 7SS. 18th Annual Meeting, The American Society for

- Bone and Mineral Research, Washington State Trade and Convention Center Seattle, WA ~ September 7-11,1996.
8. Naylor KE, Iqbal P, Fraser RB, Eastell R. Changes in bone turnover and bone mass during pregnancy. Department of Human Metabolism and Clinical Biochemistry and Obstetrics and Gynaecology, University of Sheffield, UK. 18th Annual Meeting, The American Society for Bone and Mineral Research, Washington State Trade and Convention Center Seattle, WA ~ September 7-11,1996.
 9. Mora S, Prinster C, Proverbio MC, Puzzovio M, Bellini A, Weber G, Bianchi C, Chiumello G. Bone turnover in newborn infants during the first 48 hours of life and influence of gestational age. Laboratory of Pediatric Endocrinology, Department of Pediatrics, Division of Neonatology, Scientific Institute H San Raffaele, University of Milan, Milan, Italy. 18th Annual Meeting, The American Society for Bone and Mineral Research, Washington State Trade and Convention Center Seattle, WA ~ September 7-11,1996.
 10. Ilich JZ, Skugor M, Badenhop NB, An B, Andon MB, Nagode LA, Matković V. The Ohio State University and Procter & Gamble Comp, OH. Markers of bone turnover in relation to skeletal age: A longitudinal study during puberty. 18th Annual Meeting, The American Society for Bone and Mineral Research, Washington State Trade and Convention Center Seattle, WA ~ September 7-11,1996.
 11. Rosen HN, Moses AC. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-Telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int.* 1994;54:26-29.
 12. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, Quan H, Harris ST, Genant HK, Chesnut CH, Eyre DR. Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1994;9(2):135-142

13. Gorai I, Taguchi Y, Chaki O, Nakayama M, Minaguchi H. Specific changes of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen in pre- and postmenopausal women: correlation with other markers of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 1997;60(4):317-22.
14. Wendlova J. NTx—a sensitive laboratory parameter of bone resorption. *Bratisl Lek Listy*. 1998;99(6):327-330.
15. Chesnut CH, Bell NH, Clark GS. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: Urinary N-Telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *The American Journal of Medicine*. 1997;102:29-37
16. Parfitt AM. The physiological and clinical significance of bone histomorphometric data. In Recker R (ed). *Bone Histomorphometry, Techniques and Interpretation*, 1983. pp:143-223. CRC Press, Boca Raton.
17. Eriksen EF. Normal and pathological remodelling of human trabecular bone: three-dimensional reconstruction of the remodelling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocrine Rev*. 1986;7:379-408.
18. Kanis JA. Pathogenesis of osteoporosis and fracture. *Osteoporosis*. Reprinted edition the Alden Press Limited, Oxford. 1997;2:25-27.
19. Wallach EE, Zacur HA. Osteoporosis in the postmenopausal woman. *Reproductive Medicine and Surgery*. 1995,USA. 55:998-1002.
20. Adashi EY, Rock JA, Rosenwacks Z. Menopausal Osteoporosis: Impact of Sex Steroid Replacement. *Reproductive Endocrinology, Surgery and Tecnology*. 1996,Philadelphia. 96(2):1826-1828.
21. Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC: Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev*. 1993;15:275.
22. Richelson LS, Wahner HW, Melton LJ 3d, Riggs BL. Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. *N Engl J Med* 1984 Nov 15;311(20):1273-5.

23. Stepan JJ, Pospichal J, Presl J. Bone loss and biochemical indices of bone remodelling in surgically induced postmenopausal women. *Bone*. 1987;8:279-284.
24. Kanis JA. Pathogenesis of osteoporosis and fracture. *Osteoporosis*. Reprinted edition the Alden Press Limited, Oxford. 1997;2:28-29.
25. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay AL, Kempton W, Huynh D. Routine pituitary suppression with leuprolide before ovarian stimulation for oocyte retrieval. *Fertil Steril* 1989;51:455-459.
26. Awadalla SG, Friedman CI, Chin NW, Dodds W, Park JM, Kim MH. Follicular stimulation for in vitro fertilization using pituitary suppression and human menopausal gonadotropins. *Fertil Steril* 1987;48:811-815.
27. Avioli LV. The osteoporotic syndrome. 2nd ed. San Diego: Grune & Stratton: 1987.
28. Paoletti AM, Serra GG, Cagnacci A, Vacca AM, Guerriero S, Solla E, Melis GB. Spontaneous reversibility of bone loss induced by gonadotropin-releasing hormone analog treatment. *Fertil Steril* 1996;65(4):707-710.
29. Taga M, Minaguchi H. Reduction of bone mineral density by gonadotropin-releasing hormone agonist, nafarelin, is not completely reversible at 6 months after the cessation of administration. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1996;75(2):162-165.
30. Riis BJ, Christiansen C, Johansen JS, Jacobson J. Is it possible to prevent bone loss in young women treated with luteinizing hormone-releasing hormone agonists? *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:920-924.
31. Ulrich U, Pfeifer T, Lauritzen C. Rapid increase in lumbar spine bone density in osteopenic women by high-dose intramuscular estrogen-progestogen injections. A preliminary report. *Horm Metab Res*. 1994; 26(9): 428-431.

32. National Osteoporosis Foundation: *Boning up on osteoporosis: A guide to prevention and treatment*. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation; 1991.
33. Hansen MA, Overgaard K, Riis BJ, Christiansen C. Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis: 12 year study *Br Med J* 1991;303:961-964.
34. Rosen CJ, Chesnut CH, Mallinak NJ. The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in early postmenopausal women treated with hormone replacement or calcium supplementation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(6):1904-1910
35. Miki T, Nakatsuka K. Biochemical markers of bone metabolism. *Nippon Rinsho* 1998;56(6):1491-1497.
36. Gorai, T. Taguchi, O. Chaki, M. Nakayama and H. Minaguchi. Specific changes of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen in pre and postmenopausal women correlation with other markers of bone turnover. *Calcif Tissue Int*. 1997;60(4):317-322.
37. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1994;74:1693-1700.
38. Rosen HHN, Dresner-Pollak R, Moses AC, Rosenblatt, Zeind AJ, Clemens JD, Greenspan SL. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int*. 1994;54:26-29.
39. Marshall LA, Cain DF, Dmowski WP, Chesnut CH. Urinary N-telopeptides to monitor bone resorption while on GnRH agonist therapy. *Obstetrics and Gynecology*. 1996;87:350-354.
40. Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption:

- quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner res* 1992;7(11):1251-8.
41. Eyre DR. Bone biomarkers as tools in osteoporosis management. *Spine* 1997;22:17-24.
42. Ohta H, Masuda A, Komukai S, Nozawa S. Osteoporosis after menopause and oophorectomy. *Nippon Rinsho* 1994;52(9):2382-94.
43. Nencioni T, Penotti M, Barbieri-Carones M, Ortolani S, Trevisan C, Polvani F. Gonadotropin releasing hormone agonist therapy and its effect on bone mass. *Gynecol Endocrinol* 1991;5(1):49-56.
44. Dodin S, Lemay A, Maheux R, Dumont M, Turcot-Lemay L. Bone mass in endometriosis patients treated with GnRH agonist implant or danazol. *Obstet Gynecol* 1991;77:410-415.
45. Marshall LA, Cain DF. Urinary N-Telopeptides to monitor bone resorption while on GnRH agonist therapy. *Obstetric and Gynecology* 1996;87:350-354.
46. Nakayama H, Yano T, Sagara Y, Ando K, Kasai Y, Taketani Y. Clinical usefulness of urinary CrossLaps as a sensitive marker of bone metabolism. *Endocr J* 1997;44(4):479-484.
47. Mann DR, Gould KG, Collins DC. A potential primate model for bone loss resulting from medical oophorectomy or menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71(1):105-110.
48. Dawood MY. Hormonal therapies for endometriosis: implications for bone metabolism. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1994;159:22-34.
49. Sims NA, Morris HA, Moore RJ, Durbridge TC. Increased bone resorption precedes increased bone formation in the ovariectomized rat. *Calcif Tissue Int* 1996;59(2):121-127.
50. Nakamuta H, Sasaki M, Ichikawa M, Koida M. An acute and focal osteopenia model using ovariectomized rats: a rapid detection of the

- protective effect of salmon calcitonin. *Biol Pharm Bull.* 1993;16(3):325-327.
51. Bradbury JT, Brown WE. Secretory and decidual changes in the endometrium of oophorectomized women by administration of estrogen and progesterone. *J Clin Endocrinol.* 1951;11:267-276.
52. Dnowski WP, Rana N, Pepping P, Cain DF, Clay TH. Excretion of urinary N-telopeptides reflects changes in bone turnover during ovarian suppression and indicates individually variable estradiol threshold for bone loss. *Fertil Steril.* 1996;66(6):929-936.
53. Tummon IS, Ali A, Pepping ME, Radwanska E, Binor Z, Dmowski WP. Bone mineral density in women with endometriosis before and during ovarian suppression with gonadotropin-releasing hormone agonists or danazol. *Fertil Steril.* 1988;49:792-796.
54. Barengolts EI, Gajardo HF, Rosol TJ, D'Anza JJ, Pena M, Botsis J, Kukreja SC. Effects of progesterone on postovariectomy bone loss in aged rats. *J Bone Miner Res.* 1990;5(11):1143-1147.
55. Adashi EY, Rock JA, Rosenwacks Z. Modes of sex steroid replacement: Novel concepts. *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology.* 1996, Philadelphia. 92(2);1776-1777.
56. Jayo MJ, Rejister TC, Carlson CS. Effects on bone of oral hormone replacement therapy initiated 2 years after ovariectomy in young adult monkeys. *Bone.* 1998;23(4):361-6.
57. Prior JC, Vigna YM, Wark JD, Eyre DR, Lente BC, Li DK, Ebeling PR, Atley L. Premenopausal ovariectomy-related bone loss: a randomized, double-blind, one-year trial of conjugated estrogen or medroxyprogesterone acetate. *J Bone Miner Res.* 1997;12(11):1851-63.