



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

**DOKTORA
TEZİ**

**OSTEOPOROZ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
ASTAKSANTİN'İN KEMİK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

AHMET CANPOLAT

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2020



**OSTEOPOROZ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA ASTAKSANTİN'İN KEMİK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ahmet CANPOLAT

DOKTORA TEZİ

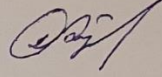
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

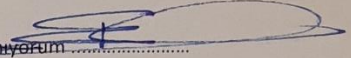
HAZİRAN 2020

Dt. Ahmet CANPOLAT tarafından hazırlanan "Osteoporoz Oluşturulmuş Ratlarda Astaksantin'in Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ~~LAZIM ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Dilek Aynur UĞAR ÇANKAL
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi



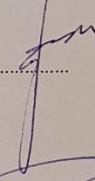
Başkan : Prof. Dr. M. Barış ŞİMŞEK
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



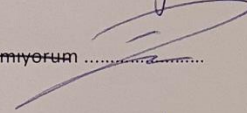
Üye : Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL
Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



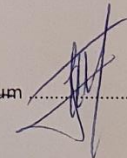
Üye : Prof. Dr. Necdet DOĞAN
Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Doç. Dr. Süleyman BOZKAYA
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



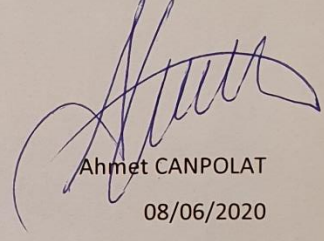
Tez Savunma Tarihi: 08/06/2020

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Ahmet CANPOLAT
08/06/2020

OSTEOPOROZ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA ASTAKSANTİN'İN KEMİK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ
(Doktora Tezi)

Ahmet CANPOLAT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2020

ÖZET

Osteoporoz, düşük kemik mineral yoğunluğuyla ve iskelet sisteminde mikro-yapısal bozulma ile karakterize, sistemik ve metabolik kemik hastalığıdır. 50 yaş üzerindeki hastaların %55'ini etkileyen ve bu popülasyonun %80'ini kadınların oluşturduğu osteoporoz, sık karşılaşılan önemli bir sağlık problemi olarak görülmektedir. Osteoporoz, minimal travmalar sonrası kemik kırığı riskini artırmanın yanında; tümör, travma ve diğer kemik bozukluklarında, kemik iyileşmesinin yetersiz olmasına neden olmaktadır. Bu durumdan çene kemikleri sıklıkla etkilenmekte, diş çekimleri sonrası iyileşmede ve eksikliklerin rehabilitasyonunda güçlükler yaşanmakta, bu nedenlerle hastaların beslenmeleri ve hayat kaliteleri olumsuz etkilenmektedir. Bu çalışmanın amacı; güçlü antioksidan etkileri bilinen astaksantin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesidir. Bu amaçla çalışmada 60 adet Wistar Albino dişi rat kullanılmıştır. Farklı gruplardaki ratlara overektomi işlemi ile osteoporoz modeli oluşturularak veya oluşturmada mandibula defektleri meydana getirilmiştir. Kontrol gruplarına deneysel bir ilaç uygulanmazken, deney gruplarına ayrı ayrı 5mg/kg/gün ve 25mg/kg/gün olmak üzere iki farklı dozda astaksantin, referans materyal olarak 10mg/kg/gün raloksifen 4 hafta boyunca uygulanmış, bu süre sonunda ratlar intrakardiyak kan alımı ile kurban edilerek biyokimyasal ve histopatolojik inceleme yapılmıştır. Yapılan biyokimyasal testlerde serum kalsiyum, alkalen fosfataz ve osteokalsin değerleri incelenmiştir. Osteoporoz modeli oluşturulan ratlarda yıkım lehine yükselen kemik döngüsü hızı tedavi gruplarında azalmıştır, raloksifen ve 25mg/kg astaksantin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. Histopatolojik değerlendirme ile yeni kemik ve bağ dokusu oluşum oranları değerlendirilmiştir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında hem osteoporoz modeli oluşturulan gruplarda hem de sağlıklı gruplarda astaksantin ve raloksifen uygulaması, yeni kemik ve bağ dokusu oluşum oranlarında artışa neden olmuş, bu artış raloksifen ve 25mg/kg astaksantin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmuştur.

Bilim Kodu : 1003
Anahtar Kelimeler : Osteoporoz, astaksantin, raloksifen, rat, kemik iyileşmesi
Sayfa Adedi : 103
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Dilek Aynur UĞAR ÇANKAL

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ASTAXANTHIN ON BONE HEALING IN RATS WITH
OSTEOPOROSIS
(Ph. D. Thesis)

Ahmet CANPOLAT

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

June 2020

ABSTRACT

Osteoporosis is a systemic and metabolic bone disease characterized by low bone mineral density and microstructural deterioration in the skeletal system. Osteoporosis is seen as an important health problem which affects 55% of patients over 50 years of age and 80% of this population is women. Osteoporosis increases the risk of bone fracture after minimal traumas and causes inadequate bone healing in tumor, trauma and other bone disorders. Jaw bones are frequently affected by this situation, difficulties are experienced in recovery and rehabilitation of deficiencies after tooth extraction, therefore, patients' nutrition and quality of life are negatively affected. The purpose of this study is to evaluate effects of astaxanthin, known as powerful antioxidant, on bone healing. For this purpose, 60 Wistar Albino female rats were used in the study. Mandibular defects were created in rats with or without osteoporosis model in different groups. While no experimental drug was applied to the control groups, two different doses of astaxanthin 5mg/kg/day, 25mg/kg/day and 10mg/kg/day raloxifene as a reference material were applied to the experimental groups for 4 weeks. At the end of this period, rats were sacrificed by cardiac puncture then biochemical and histopathological examination was performed. In the biochemical tests, serum calcium, alkaline phosphatase and osteocalcin values were examined. Bone turnover increased in favor of destruction in rats with osteoporosis model, decreased in treatment groups, statistically significant differences were found in raloxifene and 25mg/mg astaxanthin groups. New bone and connective tissue formation rates were evaluated with histopathological evaluation. Compared to the control groups, in both osteoporosis model groups and healthy groups, astaxanthin and raloxifene application increased new bone and connective tissue formation rates and these increases made a statistically significant difference in raloxifene and 25mg/kg astaxanthin groups.

Science Code : 1003
Key Words : Osteoporosis, astaxanthin, raloxifene, rat, bone healing
Page Number : 103
Supervisor : Prof. Dr. Dilek Aynur UĞAR ÇANKAL

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez sürecimde mesleki beceri ve yeteneklerimi geliştirmemde bilgi, deneyim ve emeklerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan ve birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum değerli doktora danışmanım Prof. Dr. Dilek Aynur UĞAR ÇANKAL'a,

Doktora eğitim sürecim boyunca, her konuda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tez sürecimin başından sonuna kadar destek ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Süleyman BOZKAYA'ya

Doktora eğitimim boyunca bilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Tez çalışmalarım süresince öneri ve bilimsel destekleri ile yardımcı olan Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL'a, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN'a ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Dr. Mert İLHAN'a,

Doktora eğitim sürecimde bütün bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve manevi desteğini de her zaman yanımda hissettiğim Dr. Yeliz KILINÇ'a

Doktora eğitim sürecime başladığım yıllarda yanımda olan, kendilerinden çok şey öğrendiğim Dr. Şerif RIZAYEV, Dr. Faruk ÖĞÜTLÜ ve Dr. Anıl SEÇKİN'e,

Destek ve sevgilerini her zaman hissettiğim asistan arkadaşlarım Dt. Ali GİZLİ, Dr. Dilara ÖZTÜRK, Dr. Eda İZGİ, Dt. Hacer ULUTÜRK, Dr. Ozan AKINCI, Dr. Sibel ÇEBİ ve Dt. Öykü ÖZTÜRK'e

Tez çalışmamın oluşmasına maddi olarak destek veren Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Hayatım boyunca sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen annem, babam, ablam ve ağabeyime,

Doktora eğitim sürecimin son gününe kadar maddi manevi desteklerini esirgemeyen ve sabırla bekleyen arkadaşlarım Ramazan Özgür YAVUZ ve Süleyman KIRKAĞAÇ'a

Tez çalışmamın ilk harfinden son harfine kadar her bölümünde emeği olan hayat arkadaşım Gizem DUYU CANPOLAT'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne doktora tez projesi olarak sunulmuş ve **03/2018-09** onay kodu ile destek alınmıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	V
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik	3
2.1.1. Kemik dokusunun çeşitleri	3
2.1.2. Kemiğin makroskopik yapısı	4
2.1.3. Kemiğin mikroskopik yapısı	4
2.1.4. Kemik matriksi	7
2.1.5. Kemik oluşumu (osteogenez)	8
2.1.6. Kemik iyileşmesi	14
2.2. Osteoporoz	16
2.2.1. Osteoporoz tanımı	16
2.2.2. Epidemiyoloji	18
2.2.3. Osteoporoz sınıflamaları	18
2.2.4. Osteoporoz risk faktörleri	21
2.2.5. Osteoporoz patogenezi	23
2.2.6. Osteoporozda klinik bulgular	24

Sayfa

2.2.7. Osteoporozun tanı yöntemleri.....	25
2.2.8. Osteoporoz tedavisi	34
2.3. Astaksantin.....	38
2.3.1. Astaksantin kaynakları	39
2.3.2. Astaksantin yapısı.....	40
2.3.3. Astaksantin biyokimyası	41
2.3.4. Astaksantin biyoyararlanımı ve farmakokinetiği	42
2.3.5. Astaksantin biyolojik aktiviteleri ve sağlığa faydaları	43
2.3.6. Güvenlik ve astaksantin dozları.....	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Deney Protokolü	47
3.1.1. Deney hayvanları.....	47
3.1.2. Test numunelerinin hazırlanması.....	47
3.1.3. Referans madde	48
3.1.4. Deney grupları.....	48
3.2. Cerrahi Protokol	50
3.2.1. Overektomi.....	50
3.2.2. Mandibuler defekt	51
3.3. Bulguların Analizleri	51
3.3.1. İn vitro biyokimyasal analizler.....	51
3.3.2. Histopatolojik analiz	52
3.3.3. İstatistiksel analiz	52
4. BULGULAR	53
4.1 Biyokimyasal Bulgular	53
4.2 Histolojik Bulgular	59

Sayfa

4.2.1. Kontrol grubu (K).....	59
4.2.2. Osteoporoz grubu (O)	60
4.2.3. Defekt grubu (D).....	61
4.2.4. Defekt + astaksantin (5mg/kg) grubu (DA5)	62
4.2.5. Defekt + astaksantin (25mg/kg) grubu (DA25)	63
4.2.6. Defekt + raloksifen grubu (DR).....	64
4.2.7. Osteoporoz + defekt grubu (OD).....	65
4.2.8. Osteoporoz + defekt + astaksantin (5mg/kg) grubu (ODA5)	66
4.2.9. Osteoporoz + defekt + dstaksantin (25mg/kg) grubu (ODA25)	67
4.2.10. Osteoporoz + defekt + raloksifen grubu (ODR):.....	68
4.2.11. Histolojik veriler	69
5. TARTIŞMA	73
6. SONUÇ	87
KAYNAKLAR	89
EKLER.....	101
EK – 1. Etik kurul onayı.....	102
ÖZGEÇMİŞ	103

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kemik iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler	16
Çizelge 2.2. Kemik oluşumu ve yıkımını etkileyen faktörler	21
Çizelge 2.3. Sekonder osteoporoz değerlendirmesinde kullanılabilecek laboratuvar testleri.....	27
Çizelge 2.4. Astaksantin mikrobiyotik kaynakları.....	39
Çizelge 3.1. Deney grupları ve uygulanan işlemler	50
Çizelge 4.1. Deney gruplarında serum kalsiyum, alkalen fosfataz ve osteokalsin değerleri	53
Çizelge 4.2. Kemik defekti oluşturulan deney gruplarında yeni kemik ve yeni bağ dokusu oluşum oranları	69

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Endokondral kemikleşme ile uzun kemiklerin osteogenezi	11
Şekil 2.2. Kemik kırıklarında onarımın temel yapısı	14
Şekil 2.3. Kolajenin moleküler yapısı.....	29
Şekil 2.4. Genant'a göre vertebral deformitelerin yarı kantitatif bir değerlendirmesi için derecelendirme şeması	34
Şekil 2.5. Yabani ve çiftlikte yetiştirilen alabalık türleri	40
Şekil 2.6. Astaksantin kimyasal yapısı	41
Şekil 2.7. Astaksantin ve ester formlarının farklı kaynaklarda görülme oranları (%)	41
Şekil 2.8. Hücre zarında astaksantin üstün pozisyonu	42
Şekil 4.1. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda serum kalsiyum (nmol/L) değerleri.....	54
Şekil 4.2. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda serum alkalen fosfataz (U/L) değerleri	54
Şekil 4.3. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda osteokalsin (pg/mL) değerleri	55
Şekil 4.4. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda serum kalsiyum (nmol/L) değerleri	55
Şekil 4.5. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda serum alkalen fosfataz (U/L) değerleri.....	56
Şekil 4.6. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda osteokalsin (pg/mL) değerleri	56
Şekil 4.7. Kontrol, osteoporoz, defekt ve osteoporoz + defekt gruplarında serum kalsiyum (nmol/L) değerleri	57
Şekil 4.8. Kontrol, osteoporoz, defekt ve osteoporoz + defekt gruplarında serum alkalen fosfataz (U/L) değerleri	57
Şekil 4.9. Kontrol, osteoporoz, defekt ve osteoporoz + defekt gruplarında osteokalsin (pg/mL) değerleri	58

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.10. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda yeni kemik oluşumu yüzdeleri	69
Şekil 4.11. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda yeni bağ dokusu oluşumu yüzdeleri	70
Şekil 4.12. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda yeni kemik oluşumu yüzdeleri	70
Şekil 4.13. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda yeni bağ dokusu oluşumu yüzdeleri	71



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait kemik histopatolojisi	59
Resim 4.2. Osteoporoz grubuna ait kemik histopatolojisi	60
Resim 4.3. Defekt grubuna ait kemik histopatolojisi	61
Resim 4.4. Defekt + Astaksanthin (5mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi.....	62
Resim 4.5. Defekt + Astaksanthin (25mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi.....	63
Resim 4.6. Defekt + Raloksifen grubuna ait kemik histopatolojisi.....	64
Resim 4.7. Osteoporoz + Defekt grubuna ait kemik histopatolojisi.....	65
Resim 4.8. Osteoporoz + Defekt + Astaksanthin (5mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi	66
Resim 4.9. Osteoporoz + Defekt + Astaksanthin (25mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi	67
Resim 4.10. Osteoporoz + Defekt + Raloksifen grubuna ait kemik histopatolojisi.....	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
Ca ²⁺	Kalsiyum iyonu
CaP	Kalsiyum fosfat
cm ³	Santimetre küp
dL	Desilitre
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
nmol	Nanomol
pg	Pikogram
U	İnternasyonal ünite
α	Alfa
β	Beta

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
AIDS	Acquired immune deficiency syndrome (Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu)
ALP	Alkalen fosfataz
BMP	Bone morphogenetic protein (Kemik morfojenik proteini)
BSP	(Bone sialoprotein) (Kemik sialoprotein)
Ca 15-3	Kanser antijen 15-3
CEA	Karsinoembriyojenik antijen
CRP	C-reaktif protein

Kısaltmalar	Açıklamalar
CTX	Karboksi-terminal telopeptid
CTXA	Computed tomography X-ray absorptiometry (Komputerize tomografi X-ışını absorbsiyometri)
DEXA	Dual energy X-ray absorptiometry (Dual enerji X-ray absorbsiyometri)
DXR	Dijital X-ışını radyometrisi
FDA	U. S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FGF	Fibroblast growth factor (Fibroblast büyüme faktörü)
FRAX	Kırık riski değerlendirme aracı
FSH	Folikül uyarıcı hormon
HA	Hidroksiapatit
HIV	Human immunodeficiency virüs (İnsan bağışıklık eksikliği virüsü)
HLA	Human leukocyte antigen (İnsan lökosit antijeni)
HR-pQCT	Yüksek çözünürlüklü periferel QCT
HRT	Hormone replacement therapy (Hormon replasman tedavisi)
IGF	Insulin-like growth factor (İnsülin benzeri büyüme faktörü)
IL-1	İnterlökin 1
IL-6	İnterlökin 6
KBD	Kritik boyut defekti
KMİ	Kemik mineral içeriği
KMY	Kemik mineral yoğunluğu
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LH	Lüteinleştirici hormon
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
MRONJ	Medication-related osteonecrosis of the jaws (İlaca bağlı olarak çene kemiklerinde görülen osteonekroz)
NSAİİ	Non-steroid antiinflatuar ilaçlar

Kısaltmalar	Açıklamalar
NTX	Amino-terminal telopeptid
OC	Osteokalsin
OPG	Osteoprotegerin
PAS	Periodic acid schiff
PDGF	Platelet-derived growth factor (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü)
PSA	Prostat spesifik antinojen
PTH	Paratiroid hormon veya parathormon
QCT	Kantitatif komputerize tomografi
QUS	Kantitatif ultrason
RANKL	Reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligand
SERM	Selective estrogen receptor modulators (Seçici östrojen reseptör modülatörleri)
SHBP	Sex hormone binding protein (Seks hormonu bağlayıcı protein)
T3	Tiroksin 3
T4	Tiroksin 4
TGF-β	Transforming growth factor β (Dönüştürücü büyüme faktör β)
TNF α	Tümör nekrosiz faktör-alfa
TRAP	Tartarat rezistan asit fosfataz
TSEC	Tissue selective estrogen receptor complexes (Doku seçici östrojen reseptör kompleksleri)
TSH	Tiroid uyarıcı hormon
WHO	World Healt Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

Osteoporoz, düşük kemik mineral yoğunluğuyla ve iskelet sisteminde mikro-yapısal bozulma ile karakterize, sistemik ve metabolik kemik hastalığıdır. 50 yaş üzerindeki hastaların %55'ini etkileyen ve bu popülasyonun %80'ini kadınların oluşturduğu osteoporoz, önemli ve sık karşılaşılan bir sağlık problemi olarak görülmektedir. Osteoporoz, minimal travmalar sonrası kemik kırığı riskini artırmanın yanında; tümör, travma ve diğer kemik bozukluklarında kemik iyileşmesinin yetersiz olmasına neden olmaktadır. Bu durumdan çene kemikleri sıklıkla etkilenmekte, diş çekimleri sonrası iyileşmede ve eksikliklerin rehabilitasyonunda güçlükler yaşanmakta, bu nedenlerle de hastaların beslenmeleri ve hayat kaliteleri olumsuz etkilenmektedir [1].

Günümüzde osteoporoz tedavisinde östrojen, östrojen-reseptör analogları, bifosfonatlar ve çeşitli anabolik ilaçlar kullanılmaktadır [2]. Uzun süreli östrojen kullanımının göğüs kanseri riskini artırdığı ve çeşitli kardiyovasküler problemlere neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır [3]. Bifosfonatlar da uzun süreli kullanımda çeneleri etkileyen kemik nekrozlarına (MRONJ (*medication-related osteonecrosis of the jaws*)) neden olabilmektedir [4]. Osteoporoz hastalarında, kemik yıkımını azaltan ve kemik yapımını artıran daha iyi güvenlik profiline sahip yeni ajanların bulunması gerekliliği, bu konuda yapılan her bilimsel araştırmanın sonunda vurgulanan bir konudur [5].

Astaksantin, çeşitli mikroorganizmalarda ve deniz hayvanlarında bulunan doğal bir karotenoidtir. Diğer karotenoidlerden daha potent biyolojik aktivitesinin olduğu birçok çalışma tarafından gösterilmiştir [6]. Yüksek antioksidan etkiye sahiptir ve antioksidan aktivitesi E vitamininden 500 kat, β -karoten'den 10 kat daha fazladır. Günümüzde yaygın bir şekilde gıda takviyesi ve gıda renklendiricisi olarak kullanımı mevcut olan astaksantin, güvenli bir ajan olarak kabul edilir ve yapılan çalışmalarda herhangi bir toksik etkisi saptanmamıştır [7, 8]. Yüksek antioksidan etkinliğinin yanında anti-inflamatuar, anti-diyabetik, anti-kanser, kardiyovasküler hastalıklardan koruma ve immuno-modelasyon gibi etkinliklerinin olduğu bilinen bu ajanın son yıllarda doku iyileşmesinde de olumlu etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar yapılmaktadır [6].

Astaksantin; kutanöz yara iyileşmesi, ses tellerinde yara iyileşmesi, gastrik mukoza hasarlarında yara iyileşmesi, nöral kök hücrelerindeki osteojenik ve adipojenik farklılaşma

potansiyeli üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği farklı çalışmalarda olumlu sonuçlar vermiştir [9-12].

Astaksantin yumuşak dokularda yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerini gösteren çalışmalar, kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin neler olabileceğinin merak edilmesine neden olmuştur. Literatürde astaksantin kemik iyileşmesi üzerine etkinliğini değerlendiren herhangi bir çalışma ile karşılaşılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, osteoporoz modeli oluşturulan ratlarda, astaksantin kemik iyileşmesi üzerine etkinliğinin deneysel olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik

Kemik dokusu vücuttaki en önemli destek dokudur. Vücuttaki diğer destek dokular gibi hücreler, zemin maddesi ve fibrillerden oluşur. Kemik dokusu katmanlar halinde mineralize olmuştur ve bu sayede hem güçlü hem de esnek bir yapıya sahiptir. Kemiğe bu özellikleri veren en önemli mineral kalsiyum fosfattır. Kalsiyum fosfat (CaP), hidroksiapatit (HA) kristalleri şeklinde bulunur. Kemiğin esas yapısının ağırlık bakımından %70'lik kısmı minerallerden %30'luk kısmı ise organik yapılardan meydana gelir. [13, 14]

Kemik doku hem dayanıklı hem de hafif bir materyalden oluşmuştur ve bununla birlikte, yaşam boyunca devam eden bir şekilde tekrarlayan yıkım ve yapımlara uğrayan canlı ve dinamik bir dokudur. [13, 15]

Kemikler, kas ve tendonların tutunması sayesinde, hareket etmeye yardımcı olurlar. Kemik doku, üzerine gelen kuvveti emer ve dağıtır; bu sayede iç organları ve kemik iliğini koruyucu görevi vardır. Çekiç, örs ve üzengi vücudun en küçük kemikleridir ve ses iletiminde görev alırlar. Kemik dokusu ayrıca organizmanın kalsiyum ve fosfor deposu olarak görev yapar. [13]

2.1.1. Kemik dokusunun çeşitleri

Kemik dokusu iki farklı yapılaşma gösterir ve bu nedenle olgunlaşmamış (primer, lamelsiz, woven) ve olgun kemik dokusu (sekonder, lamelli) olmak üzere ikiye ayrılır. [13, 16]

Olgunlaşmamış kemik dokusu

Fötal gelişim ve kırık onarımları sırasında oluşan kemik dokudur. Birim alandaki hücre sayısı, olgunlaşmış kemik dokudan daha fazladır. Doku organizasyonu yoktur. Bu nedenlerle primer kemik doku hızlı oluşur ama olgun kemik dokusuna göre daha dayanıksızdır. Genellikle geçici bir dokudur ve zamanla yerini olgun kemik alır, ancak yetişkinlerde kafatası süturlarında, bazı tendonların kemiğe tutunduğu yerlerde ve dişlerin çene kemikleriyle birleştikleri alveol soketlerde primer kemik olarak bulunur. [13, 16]

Olgun kemik dokusu

Olgun kemik dokusu yetişkinlerde bulunur ve olgunlaşmamış (primer) kemik dokusunun yerini aldığı için sekonder kemik dokusu olarak da isimlendirilir. Primer kemik dokusunda rastgele dağılım gösteren kolajen lifler, olgun kemik dokuda düzenli ve paralel olarak uzanırlar. Bu düzenli kolajen yapı kemik lamellerini oluşturur. Olgun kemikte hücre sayısı daha azdır. [13, 16]

Uzun, kısa, düzensiz ve yassı şekillerde olabilen sekonder kemikler, süngerimsi ve sert olmak üzere ikiye ayrılır. [13]

2.1.2. Kemiğin makroskopik yapısı

Uzun kemikleri büyüme sırasında epifiz, metafiz ve diyafiz olarak üçe ayırabiliriz. Uç kısımlarına epifiz, gövdeye diyafiz ve bu ikisi arasında kalan kıkırdagimsi kısma ise metafiz denir. Kemik büyümesi tamamlandıktan sonra metafiz bölgesi kaybolur. [13, 14]

Süngerimsi kemik

Uzun ve kısa kemiklerin epifiz ve metafizinde, yassı kemiklerin de iç kısımlarında yer alan kemik dokusudur. Vücutta kemik miktarının %20'sinden azını oluşturur. Birbiriyle ağzlaşan kemik trabaküllerinden oluşur ve bu nedenle görünümü süngere benzer.[13] Trabeküllerin arasında kalan düzensiz boşluklarda kemik iliği bulunur. Dokunun besin ihtiyacı kemik iliğindeki damarlardan karşılanır. [14, 17]

Sert kemik

Uzun kemiklerdeki gövdeyi oluşturan diyafiz, sert kemikten oluşmaktadır. Vücutta kemik miktarının %80'inden fazlasını oluşturur ve kemiklerin dış yüzeyini kaplar. Kortikal veya kompakt kemik de denir. [17] Dışarıdan bakıldığında homojen ve dolgun yapıda görünür, ancak düzenli bir dağılım gösteren lamel ve kanal sistemleri içerir. [13, 14]

2.1.3. Kemiğin mikroskopik yapısı

Vücudun destek dokularındaki matriks genellikle organik bileşenlerden oluşur. Kemik matriksi ise hem organik hem de inorganik yapıları içerir. Organik yapının büyük çoğunluğunu oluşturan kolajenin düzenli yapısı nedeniyle oluşan lameller, "osteosit" adı

verilen kemik hücrelerinin bulunduğu lakün denilen boşluklar ve bu boşlukları birbirine bağlayan kanalikuli denilen ince kanalcıklar vasıtası ile besin ve metabolit alışverişi sağlanır. [13]

Kemik kanalları

Kemik içerisinde, kemiğin uzun eksenine paralel seyreden, içinde kan damarlarının bulunduğu silindirik kanallara “Havers kanalları” adı verilir. Bu kanallara dik veya eğimli bir şekilde uzanan ve Havers kanallarını birbirine bağlayan yan kanallara ise “Volkmann kanalları” adı verilir. Volkmann kanalları kemiğin dışı ile içi arasındaki kanlanmaların bağlantısını sağlar. [16, 18] Havers kanallarının etrafında kemik lamelleri iç içe yerleşmiş bir şekilde bulunurken, bu lameller Volkmann kanallarının etrafında yoktur. [13]

Kemik zarları

Kemiklerin uç kısımları eklem kıkırdağıyla örtülüdür. Bu kısımlar hariç, kemiğin dış yüzeyleri “periosteum” adı verilen bağ dokusundan oluşan zar şeklinde bir yapı ile çevrelenir. Periost (periosteum) osteojenik özelliklere sahip bir yapıdır. Periostun iç kısmında osteoprogenitör hücreler bulunur ve kemikte bir yaralanma olduğunda bu hücreler osteoblastlara dönüşerek, onarım için yeni kemik oluşmasını sağlarlar. Zarın dış kısmı ise ağırlıklı olarak kolajen lifler ve fibroblastlardan meydana gelir. Periostun kemiğe tutunmasını sağlayan kalın kolajen fibril demetlerine “Sharpey lifleri” adı verilir. [13, 14, 16]

Periosteum, kan damarları, duyu sinirleri ve lenf damarlarından oluşan bir ağ içerir. Bu ağ yapılarından kan damarları ve duyu sinirleri kemik içerisine girerek, kemik beslenmesi ve innervasyonunu sağlar. Lenf damarları yalnızca periostta bulunur. [13] Bu nedenlerle periosteum, kemik dokunun beslenmesi, gelişimi ve onarımında büyük öneme sahiptir. [16, 18]

Periosteum, kafatasını oluşturan yassı kemiklerin dış yüzeyinde perikraniyum, iç yüzeyinde dura mater gibi isimler almasına rağmen, uzun kemikleri ve yassı kemikleri çevreleyen zarlar, osteojenik özellikler açısından farklı değillerdir. [13]

Kemik içinde bulunan tüm boşlukları, süngerimsi kemikte iliğin bulunduğu boşluğu, Havers ve Volkmann kanallarını örten zara ise “endosteum” denir. Endosteum, osteojenik özellikleri bakımından periosteuma benzerlik gösterir ancak daha ince bir yapıdadır. [16]

Osteoprogenitör hücreler

Kemik doku embriyonik mezenkimden meydana gelir. Doğumdan sonra kemik dokuda farklılaşmamış hücre toplulukları vardır. Bu hücreler tek çekirdekli, açık renkli, mitoz bölünebilen, az farklılaşmış, kemik hücresi olmaya koşullanmış mezenkim hücreleridir ve osteoprogenitör veya osteojenik hücreler olarak isimlendirilirler. Olgun kemiklerde periostun iç kısmında, endosteumda, Havers ve Volkmann kanallarında, büyüyen kemiklerin metafizinde bulunurlar. [13, 16]

Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik oluşumundan sorumlu olan, osteoprogenitör hücrelerden farklılaşmış hücrelerdir. Kemikleşme bölgelerinde, periosteumun kemikle komşuluk eden derin kısmında diziler halinde bulunurlar. Osteoblastlar kısa uzantılarla birbirlerine tutunurlar, bölünme özellikleri yoktur. [14]

Osteoblastlar yüksek oranda alkalen fosfataz aktivitesine sahiptir ve kemik matriksinde kalsiyum depolanmasını bu hücreler düzenler. PAS (*periodic acid schiff*) pozitif granüller bakımından zengindir. Bu granüller mikroskopta pembe renkli, küçük sitoplazmik vakuoller şeklinde görülür ve kemik yapımında kemik matriksinin öncüleri olarak kabul edilir. [13]

Osteoblastlar; kolajen fibrilleri, proteoglikan, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgırlar ve böylece kemik matriksinin organik kısmını oluşturmuş olurlar. Kireçlenmemiş bu organik yapıya “osteoid” denir. Osteoblastlar ürettikleri osteoid içinde gömülü kalırlar; aktif kemik oluşumu sonlandığında osteoblast aktivitesi durur ve yavaş yavaş şekil değiştirirler. PAS pozitif granüller kaybolur ve sonunda osteoblastlar osteosit haline gelirler. [13]

Osteositler

Osteoblastların ürettikleri kemik matriksi, kalsiyum tuzları ile kireçlendiğinde, bu yapı içerisinde gömülü kalan osteoblastlara “osteosit” adı verilir. Osteositler, oluşumu

tamamlanmış kemiğin ana hücreleridir. Yassı şekilli hücrelerdir ve ince sitoplazmik uzantıları vardır. Bu sitoplazmik uzantılar, kanalikuli adındaki küçük kanalcıklar içinden geçer ve komşu osteosit ile ilişki kurulmasını sağlar. [13]

Osteositlerin çekirdek ve sitoplazmik özellikleri ışık mikroskobu seviyesinde, osteoblastları ile hemen hemen aynıdır. Bu hücreler bulunduğu lakünde yavaş bir sitolojik değişime uğrar ve aktivitesi devam eder. [13] Osteositler kemiğin yeniden şekillenmesini kontrol eder. Kalsitonin ile uyarılan ve parathormon ile inhibe olan bu hücreler, kalsiyum ve fosforun ekstrasellüler konsantrasyonlarının kontrolünde de rol alırlar. [19]

Osteoklastlar

Kemik devamlı olarak yıkılan ve yapılan dinamik bir dokudur. Bu yapım-yıkım, vücudun kalsiyum ihtiyacı veya yapısal gerilim gibi faktörler nedeniyle olabilir. Birçok monositin birleşmesi ile oluşan osteoklastlar, çok çekirdekli hücreler olup, kemiğin yeniden şekillenmesi sırasında, kemik dokunun çözünerek çevre dokular tarafından emilmesinden sorumlu hücrelerdir. [13]

Osteoklastlar kemik iliğinde hematopoetik kök hücrelerden dönüşürler. Kökenleri ve işlevleri dikkate alındığında makrofajlara benzerlik gösterirler. Kalsiyumun kemik dokudan kana geçmesinde aktif olarak görev alırlar. [13, 17]

2.1.4. Kemik matriksi

Kemik dokunun büyük çoğunluğu kemik matriksi denilen hücreler arası maddeden oluşmaktadır. Bu matriks ise iki ana öğeden meydana gelir. Kemik matriksinin %67'si inorganik bileşenlerden (kalsiyum, potasyum, magnezyum, sodyum, fosfat ve karbonat), %33'ü ise organik bileşenlerden oluşur. [17]

Zemin maddesi

Organik matriksin %10'luk bölümünü oluşturur. Kemik matriksinin zemin maddesi glikozaminoglikanlar (hiyaluronik asit, keratan sülfat ve kondroitin sülfat), osteonektin, osteokalsin ve osteopontin gibi glikoproteinler ve sialoproteinlerden meydana gelir. Bu sebeple organik matriks PAS pozitif reaksiyon gösterir. Glikoproteinler ve sialoproteinler,

kalsiyum bağlanması görevi olarak mineralizasyonda önemli rol oynarlar. Zemin maddesinin bileşenleri ve kolajen birlikte mineralizasyona uğrayarak kemiği meydana getirirler. [13]

Kolajen

Kemiğin organik matriksinin %90'lık bölümünü kolajen oluşturur. Bu fibrillerin çoğu tip I kolajen, daha azı tip V kolajendir. Kolajen, hücreler arası matriksin temel proteindir ve vücuttaki proteinlerin %30'unu oluşturur. [20] Kemikler çok sert yapıda olup kolay kırılmazlar ve bunu sağlayan kolajen fibrillerdir. Hidroksiapatit kristalleri, kolajen fibrillerin meydana getirdiği organik çerçeve üzerine birikirler. Bu protein-kristal birleşimi kemiğin güçlü, esnek ve dayanıklı bir yapı olmasını sağlar. [13]

Kemiğin inorganik kısmı (kemik minerali)

Kemik dokuya sertliği veren yapı inorganik matrikstir. Bu inorganik matriksin %85'ini kalsiyum fosfat, %10'unu kalsiyum karbonat oluşturur. Bunların dışında az miktarda magnezyum hidroksit, magnezyum sülfat, magnezyum florit, kalsiyum florid, karbonat iyonları ve sitrat iyonları da mevcuttur [13]. Yaş ilerledikçe inorganik matriksin iyon oranlarında değişimler olur. İyonik kalsiyum ve karbonat oranı artarken; fosfat, magnezyum, su oranı ve bunlara bağlı olarak kemiğin direnci azalır [21].

2.1.5. Kemik oluşumu (osteogenez)

Kemik oluşumu yani osteogenez embriyoda iki şekilde gerçekleşir. Bunlardan biri intramembranöz kemikleşme adı verilen, osteoblastların doğrudan mezenkim hücrelerinden farklılaşarak osteoid sentezlemeye başladıkları; diğeri ise endokondral kemikleşme adı verilen, önceden oluşan hiyalin kıkırdığın eriyerek osteoblastlar tarafından işgal edildiği ve daha sonra osteoid üretiminin başladığı kemikleşmedir. İsimler, kemiğin başlangıçta oluşturduğu mekanizmaları ifade eder. Her iki işlemde de ilk görünen kemik dokusu, geçici olarak oluşan primer, lamelsiz kemiktir. Bu yapı daha sonra güçlü lamelli, olgun kemiğe dönüşür. Tüm kemiklerin büyümesi sırasında, olgunlaşmamış kemik bölgeleri, rezorbe olan kemik bölgeleri ve olgun kemik bölgelerinin hepsi birbirine bitişik olarak bulunur [16].

Intramembranöz kemikleşme

Kafatasındaki oksipital, temporal, frontal ve parietal kemikler gibi yassı kemikler, sternum, çene kemikleri (maksilla ve mandibula) ve pelvik kemikler intramembranöz kemikleşme (zarlararası kemikleşme) ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşme, embriyonik mezenkimal dokunun membranları içinde gerçekleşir ve bu nedenle bu ismi alır [14].

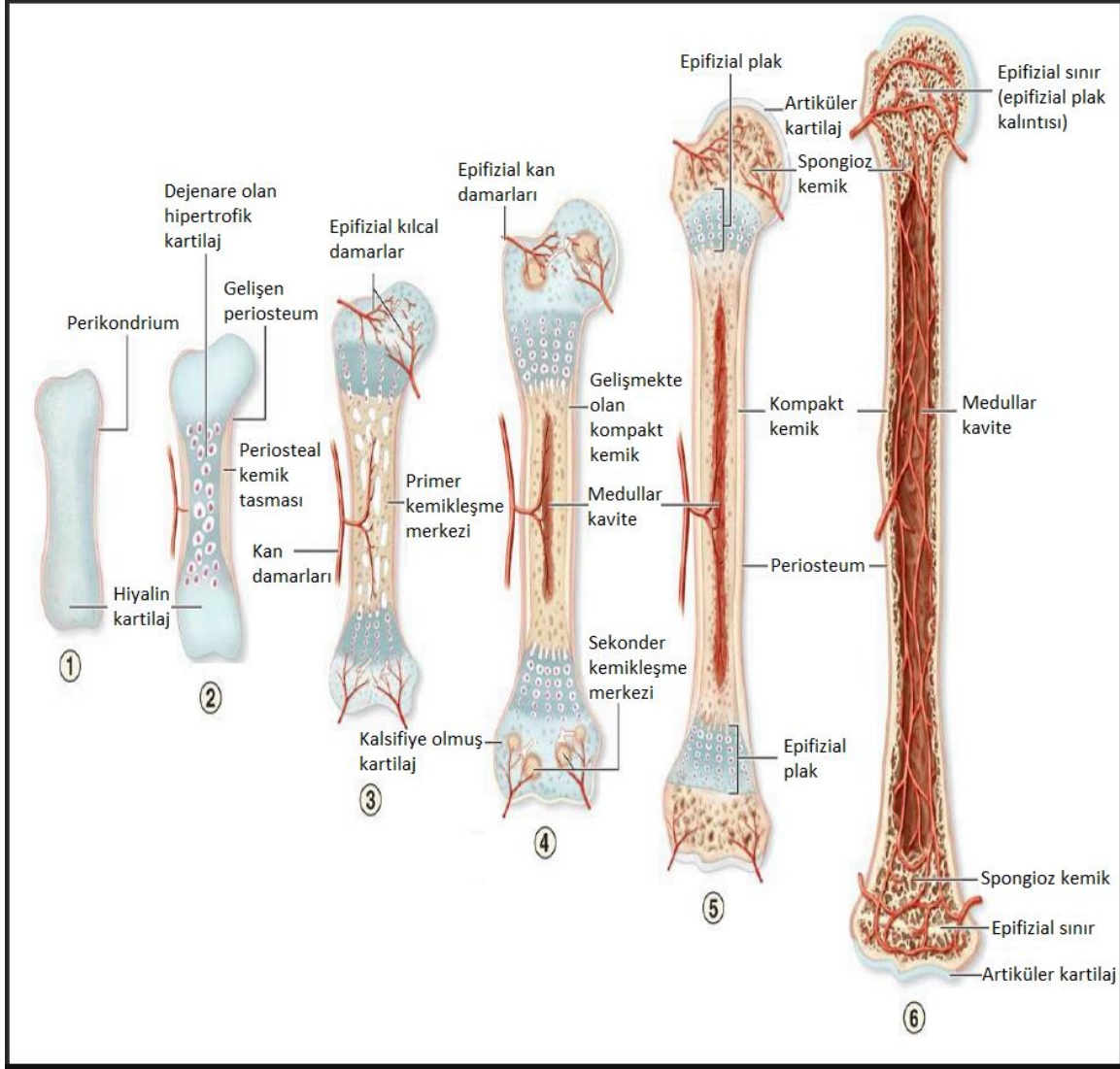
Kemiğin oluşacağı bölgelerde mezenkim hücrelerinin yoğunluğu artar. Bu hücreler uzantıları vasıtasıyla birbirleriyle ilişki kurarlar. Bu bölge kan damarları bakımından da zengin bir bölgedir. İnce kolajen fibril demetleri hücreler arasındaki boşlukları doldurur [13]. Yoğunlaşan mezenkim tabakası içinde, kemik oluşumu için başlangıç noktalarına ossifikasyon merkezleri denir. Bu alanlarda mezenkimal hücreler osteoprogenitör hücrelere dönüşürler; tamamlanmamış osteoblast katmanlarını oluşturur ve çoğalırlar. Osteoblastlar, osteoid bileşenleri salgırlar ve bu yapı kalsifiye olarak olgunlaşmamış, kemik doku trabeküllerini meydana getirir. Bu olgunlaşmamış kemikte, şekilsiz kanallar içinde kan damarları, bağ dokusu ve osteositler mevcuttur. Farklılaşan osteositler, matriks kanalcıkları (kanalikül) içindeki ince sitoplazmik uzantılarıyla hücreler arası temaslarını korurlar. Devam eden matriks sekresyonu, kalsifikasyon ve trabeküler büyüme, komşu ossifikasyon merkezlerinin kaynaşmasına yol açar ve yavaş yavaş kemik iliği ve daha büyük kan damarları ile süngerimsi kemik bölgesini içine alan kompakt kemik katmanları üretir [16].

Süngerimsi kemiğin kalacağı bölgelerde, damardan zengin bağ dokusu, yerini hematopoetik dokuya bırakır. Büyüyen kemiğin etrafını saran bağ dokusu da yoğunlaşarak periosteuma dönüşür. Kemiğin gelişimi sırasında, yüzey bölgelerine yakın bulunan osteoblastlar, büyüme tamamlandığında periosteum ve endosteumda osteoprogenitör hücre halinde beklerler. Bu hücreler yapı olarak fibroblastlara benzerler ancak kemik oluşumu için uyarı geldiğinde yeniden osteoblastlara dönüşürler [13].

Endokondral kemikleşme

Endokondral (kıkırdak içi) kemikleşmede kemik oluşumu, tüm uzun kemiklerin ekstremitelerinde, omurlarda, kaburgalarda, mandibulanın eklem ucunda ve kafatasının tabanında meydana gelir [17]. Endokondral kemikleşme, oluşacak kemiğin küçük bir versiyonuna veya modeline benzeyen bir hiyalin kıkırdak parçası içinde gerçekleşir. Bu

kemik oluşumu, vücuttaki kemiklerin çoğunun oluşma şeklidir. İlk kemik dokusu, kıkırdak modelinin diyaframını çevreleyen bir tasma (*bone collar*) gibi görünür. Bu kemik tasma, çevredeki perikondrium içinde oluşan osteoblastların aktivitesi ile üretilir. Kemik tasma, oksijen ve besin maddelerinin altta bulunan kıkırdak içine difüzyonunu engelleyerek, burada dejeneratif değişiklikleri teşvik eder. Kondrositler, alkalen fosfataz (ALP) üretmeye başlar ve şişerek genişlerken (hipertrofi) lakünleri de genişletirler. Bu değişiklikler hem matriksi dar trabeküllere sıkıştırır hem de bu yapılarda kalsifikasyona neden olur. Kondrositlerin ölümü, bir osteoblast tabakası tarafından kaplanan kalsifiye kıkırdak kalıntılarından oluşan gözenekli bir yapı oluşturur. Kan damarları, perikondriumdan kemik tasmaına nüfuz ederek osteoprogenitör hücreleri gözenekli orta bölgeye getirir. Daha sonra, osteoblastlar kalsifiye kıkırdak matriksinin kalıntılarına yapışır ve primer, olgunlaşmamış kemik üretir. Bu aşamadaki kalsifiye kıkırdak bazofilik ve yeni kemik daha asidofilik görünür [16].



Şekil 2.1. Endokondral kemikleşme ile uzun kemiklerin osteogenezi [16]

Endokondral kemikleşme ile uzun kemiklerin osteogenezi (Şekil 2.1):

- 1) Çoğu kemiğin oluşma şekli olan bu işlem, hiyalin kıkırdaktan yapılmış iskelet elemanlarının embriyonik modelleriyle başlar.
- 2) İlk trimesterin sonlarında, uzun kemiğin kıkırdak modellerinin ortasındaki perikondriumun altında bir kemik tıması gelişmekte ve alttaki kıkırdak dokuda yıkıma neden olmaktadır.
- 3) Bunu, dejenerasyona uğrayan kıkırdaktaki kılcal damarların ve osteoprogenitör hücrelerin, diyafizde bir birincil ossifikasyon merkezi üretmek için işgal etmesi takip eder.

- 4) Burada yeni osteoblastlar tarafından osteoid sentezlenir, olgunlaşmamış primer kemik kalsifikasyona uğrar ve kompakt kemik olarak yeniden düzenlenir.
- 5) Doğum boyunca ikincil kemikleşme merkezleri, epifizlerde benzer bir süreçle gelişmeye başlar. Çocukluk döneminde, birincil ve ikincil kemikleşme merkezleri yavaş yavaş, yalnızca kemik uzamasının sürekli olmasını sağlayan epifiz plakası ile ayrılır.
- 6) İki ossifikasyon merkezi, kemiğin uzaması sona erdiğinde epifiz plakası kaybolarak birleşir [16].

Kemiğin metabolik rolü

Kalsiyum iyonları (Ca^{2+}), hücre yapışmasına, sitoskeletal hareketlere, ekzositoz, membran geçirgenliğine ve diğer hücresel fonksiyonlara aracılık eden birçok enzim ve proteinin aktivitesi için gereklidir. Hidroksiapatit kristalleri vücudun toplam kalsiyumunun %99'unu içerir. Bu şekilde iskelet kalsiyum rezervuarı görevi görür. Kan kalsiyumu ve kemik kalsiyumu arasında sürekli devam eden değişim nedeniyle, kandaki ve dokulardaki kalsiyum konsantrasyonu (9-10 mg / dL), genellikle oldukça sabittir. Kan kalsiyum seviyelerini yükseltmek için temel mekanizma, iyonların hidroksiapatit kristallerinden interstisyel sıvıya mobilizasyonudur. Bu durum öncelikle süngerimsi kemikte meydana gelir. Hidroksiapatitten Ca^{2+} mobilizasyonu, kemik hücreleri arasındaki parakrin etkileşimleri ile düzenlenir. İki polipeptit hormonu, kalsiyum homeostazını etkilemek için kemikteki hücreleri de hedefler [14, 16].

Paratiroid bezlerden salgılanan paratiroid hormon (PTH), osteoklastları ve osteositleri uyarak matriks rezorpsiyonu ve Ca^{2+} salgılanması yoluyla düşük kan kalsiyum seviyelerinin yükselmesini sağlar. PTH'nin osteoklastlar üzerindeki etkisi dolaylıdır. Osteoblastlarda bulunan PTH resöptörleri parakrin faktörleri salgılayarak osteoklastik aktiviteyi uyarırlar [16].

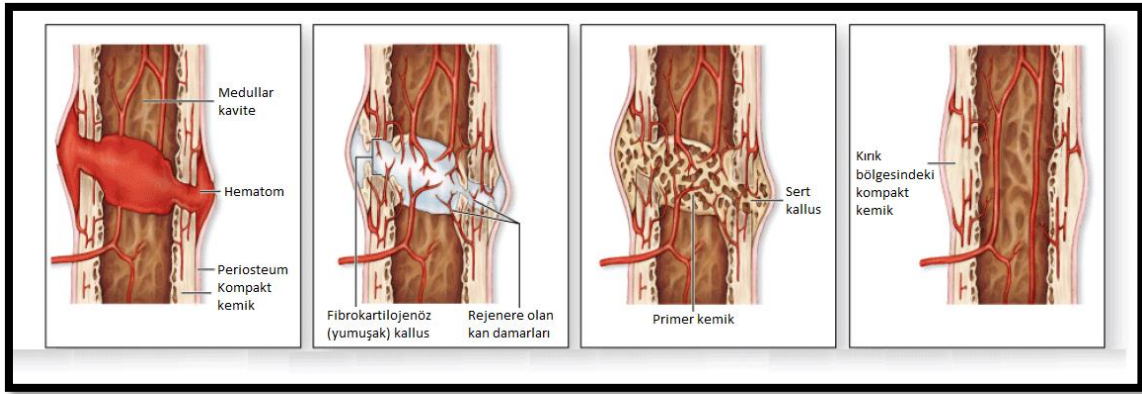
Tiroid bezi içinde sentezlenen kalsitonin hormonu ise, PTH'nin kemikteki etkilerine karşı çıkarak yüksek kan kalsiyum seviyelerini azaltır. Bu hormon doğrudan, matriks yıkımını ve kemik dönüşümünü yavaşlatan osteoklastları hedef alır [16].

Kemik büyümesi, yenilenmesi (remodelling) ve tamiri

Osteogenez ve kemik büyümesi, daha önce oluşturulmuş kemik dokusunun kısmi rezorpsiyonunu içerirken, kemiğin yıkılmasından daha fazla oranda yeni kemik üretimini sağlar. Büyüyen bir kemikteki osteoblast ve osteoklast aktivitelerinin toplamı, kemiğin kütlelerini arttırırken genel şeklini koruyan kemik modelleme işlemini oluşturur. Küçük çocuklarda kemik döngü (*bone turnover*) oranı yetişkinlere göre 200 kata kadar daha hızlı olabilmektedir. Yetişkinlerde iskelet sistemi, yeniden şekillenme süreci içerisinde devamlı olarak yenilenir. Bu süreç koordine ve birbiriyle ilişkili hücreler aktivite yoluyla, aynı anda kemik yıkımı (rezorpsiyon) ve kemik yapımı (apozisyon) faaliyetleri sayesinde meydana gelir [16].

Kemiğin sürekli olarak yeniden şekillenmesi, sertliğine rağmen, bu dokunun şekil değiştirebilir bir özellikte olmasını ve iç yapısını değişen stresler karşısında uyarlayabilmesini sağlar. İyi bilinen bir kemik plastisite örneği, çene kemiğindeki dişlerin pozisyonlarının ortodontik gereçlerin ürettiği basınçlarla değiştirilebilmesidir. Dişler üzerine kuvvet uygulandığında, dişin bir tarafında, dişe komşu kemikte yeni kemik oluşurken, diğer tarafta kemik rezorpsiyonu meydana gelir. Bu sayede kemik yeniden şekillendirilirken dişler çene içinde hareket ettirilir. Benzer tablo, beyni çevreleyen kranial kemikler için de geçerlidir. Beynin büyümesine cevap olarak, kranial kemiklerin sütür bölgelerinde ve dış yüzeylerinde yeni kemik oluşurken, iç yüzeylerinde kemik rezorpsiyonu meydana gelir [14, 16, 17].

Kemik doku, periosteumda, endosteumda ve kemik iliğinde osteoprogenitör kök hücreleri içerdiği ve iyi damarlandığı için yüksek onarım kapasitesine sahiptir. Kemik kırıklarının ve diğer hasarların onarımı, hücreleri, sinyal moleküllerini ve zaten kemik remodelinginde aktif olan işlemleri içeren bir süreçtir. Kemikte cerrahi olarak oluşturulan boşluklar, özellikle periosteum sağlıklı bir şekilde kaldığında, yeni kemikle doldurulabilir [14, 16].



Şekil 2.2. Kemik kırıklarında onarımın temel yapısı [16]

2.1.6. Kemik iyileşmesi

Kemik iyileşmesi (onarımı), hem mekanik hem de biyolojik ortamlara bağlı farklı mekanizmalar tarafından ortaya çıkabilir.

Primer (direkt) kemik iyileşmesi

Primer kemik iyileşmesi, kırık parçaların anatomik redüksiyon ile direkt temasta olduğu durumlarda meydana gelir. Parçaların arasında sıkışma varsa ve hareketli değilse iyileşme sırasında kallus oluşmaz ve yeniden şekillenme yoluyla kemik iyileşmesi sağlanır [18].

Sekonder (indirekt) kemik iyileşmesi

Sekonder iyileşme, kırık bölgesinde hareket olduğunda meydana gelir. Kemik, kallus oluşumu yoluyla iyileşir. İndirekt kemik iyileşmesinde 3 aşama vardır: [18, 22]

İnflamasyon evresi: Doku travmalarının tümünde olduğu gibi kırıkta da verilen ilk yanıt inflamasyondur. Kemikten ve yumuşak dokulardan gelen kanama, hematoma ve fibröz kan pıhtısı oluşumuna yol açar. Bu kan pıhtısı, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin (İnterlökin 1[IL-1], interlökin 6 [IL-6], *transforming growth factor* β [TGF- β], *bone morphogenetic protein* [BMP], *platelet-derived growth factor* [PDGF], *fibroblast growth factor* [FGF], *insulin-like growth factor* [IGF]) salınması için bir rezervuar görevi görür. Bu faktörler, anjiyogenezi ve makrofajların, polimorfonükleer hücrelerin, mezenkimal kök hücrelerin ve fibroblastların bölgeye göçünü uyarır. Hematom yavaş yavaş fibröz doku ile değiştirilir ve kemik uçları osteoklastlar vasıtasıyla rezorbe olur [18, 23].

Onarım evresi: İnflamasyon evresinde ortaya çıkan granülasyon dokusuna osteoblast ve kondroblastların gelmesi ile yumuşak kallus şekillenmeye başlar (Şekil 2.2). Başlangıçta oluşan yumuşak kallus radyolojik olarak gözlenemez, dayanıksız bir dokudur ve bu sebeple kırık bölgenin hareketsizliğinin sağlanması gerekir. Dokudaki kondroblastlar da osteoblastlara dönüşür ve osteoblastların sentezlediği osteoid, kalsiyum tuzlarının ortama çökmesiyle birlikte kalsifiye olarak sert kallusu meydana getirir. Sert kallusun oluşması ile kırık uçların stabilizasyonu artar [20, 23, 24].

Yeniden şekillenme evresi: Kırık uçlar kallus ile birleşip köprülendiklerinde yeniden şekillenme evresi de başlar. Bu evre 1-4 ay sürebildiği gibi yıllar boyunca da devam edebilir. Oluşan büyük kırık kallusunun gereksiz bölümleri, normal kemik boyutlarına ulaşıncaya kadar osteoklastlar tarafından rezorbe edilir. Aynı süreç içerisinde yeni oluşan lamelsiz, örgü kemik de yeniden şekillenerek lamelli kemiğe dönüşür [23, 24].

Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler

Mekanik zorlanma: Kırılma sahasındaki hareket mekanik zorlanmalara (*strain*) neden olur. Bu zorlanma, hareket mesafesinin kemiğin orijinal uzunluğuna oranıyla ilişkilidir. Örneğin bir kırılma bölgesinde, büyük bir kırılma aralığında meydana gelen gerilim zorlanmasına neden olan x birim hareket, daha küçük bir aralığa sahip kırıkta daha fazla gerilime neden olacaktır.

Kırık bölge iyileşirken önce fibröz doku, sonra kırık doku, daha sonra kemik doku oluşur. Bu dokuların her biri farklı miktarlarda gerilim kuvvetlerini tolere eder. Bu nedenle kırılma bölgesindeki gerilim miktarı hücre tipine etki eder. Az hareketli stabil kırıklarda düşük gerilim kuvvetleri, kemik doku oluşumunu destekler. Hareketin ve gerilim kuvvetlerinin çok olduğu kırıklarda ise fibröz dokunun bu gerilime karşı toleransı daha iyidir ve iyileşmede fibröz doku tercih edilir [18]. Sekonder kırık iyileşmelerinde, özellikle onarım evresinde, stabil olmayan kırık hatları bu sebeple tamamen kemikleşme göstermeyebilir. İyi bir kemik iyileşmesi için kırık hattında stabilizasyon çok önemlidir [18, 24].

Biyolojik çevre: Kırık iyileşmesini etkileyen en önemli faktörlerden biri kırık bölgenin kanlanmasıdır. Kırılan kemiğin vasküler desteği yeterli değilse kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir. Kırığın oluşma şekli de (örneğin yumuşak dokunun sıyrılmasına neden olacak

şekilde kırık oluşması) lokal kanlanma üzerinde azalmalara ve dolayısıyla ideal olmayan iyileşmelere neden olabilir. Yetersiz beslenme, sigara kullanımı, kortikosteroid ve non-steroid antiinflatuar ilaçların (NSAİİ) kullanımı gibi sistemik faktörlerin tümü, yerel kan akışını azaltabilir ve iyileşmeyi geciktirebilir. Ayrıca kemiğin canlılığını etkileyen faktörler de (lokal radyoterapi, enfeksiyon, tümör) kırık iyileşmesini etkileyebilir [18].

Çizelge 2.1. Kemik iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler [18]

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Enfeksiyon	Sigara kullanımı
Tümör	Genel sağlık durumu (diyabet)
Radyoterapi	Beslenme
Yumuşak doku yaralanması	Yaş
Kemik kaybı miktarı	İlaçlar
Kırık redüksiyonu	Hormonlar
Kırık aralığı	
İlişkili nörovasküler yaralanma	
Kırık hattının yeri (diyafiz, epifiz, metafiz)	
Kullanılan fiksasyon şekli	

2.2. Osteoporoz

2.2.1. Osteoporoz tanımı

Osteoporoz ilk olarak 1829 yılında Jean Georges Lobstein tarafından gözenekli-boşluklu kemik anlamına gelen “*porous bone*” olarak tanımlanmıştır [25]. 1948 yılında Albright ve Reifenshtein osteoporoz için “kemik içinde çok az kemik” tanımlaması yapmışlar ve primer osteoporozun, biri menopozal östrojen kaybına, diğeri yaşlanmaya bağlı iki ayrı durumdan oluştuğunu öne sürmüşlerdir [2, 26].

Dünya Sağlık Örgütü (*World Health Organization, WHO*) 1998 yılında Ceneviz’de “Osteoporozda Klinik Öncesi Değerlendirme ve Klinik Çalışmalar için Rehber” isimli bir kitap yayınlamıştır. Bu rehberde osteoporoz iki farklı şekilde tanımlanmıştır [27]:

Osteoporozun kavramsal tanımı:

Meydana gelen kırılmalık kırılmalarını (*fragility fractures*), gözenekli kemiklere yol açan süreci veya kemik kütlesinde ortaya çıkan azalmayı tanımlamak için çeşitli osteoporoz tanımları önerilmiştir. Genel olarak kabul edilen tanım şu şekildedir: “Düşük kemik mineral yoğunluğuyla ve iskelet sisteminde mikro-yapısal bozulma ile karakterize sistemik ve metabolik kemik hastalığı.”

Kırılmalara neden olan olayların çok faktörlü yapısını kabul ederken, bu tanım aynı zamanda düşük kemik mineral yoğunluğunun, kırılma riskinin önemli bir bileşeni olduğu kavramını da kapsar. Kemik mineral içeriği veya yoğunluğu, hassasiyet ve doğrulukla belirlenebildiğinden, bu değerlerin ölçümü osteoporozun operasyonel tanımının temelini oluşturur. [27]

Osteoporozun operasyonel tanımı:

Kemik mineral yoğunluğu ve kırılma riski arasındaki ilişki sürekli ve bu nedenle kemik mineral yoğunluğu tahmini, kırılma riskinin etkin bir değerlendirmesini sağlar. Böylece osteoporoz varlığını tanımlayan kemik mineral yoğunluğu için bir değer seçmek mümkündür.

Genç ve sağlıklı kadınlarda, kemik mineral içeriği veya yoğunluğu, kullanılan ölçüm tekniğinden bağımsız olarak normal şekilde dağıtılır. Bu normal dağılım sayesinde, bireylerdeki kemik yoğunluğu değerleri, standart sapma (SD) birimlerindeki bir referans değerle ilişkili olarak ifade edilebilir. Bu durum, aletler arasındaki kalibrasyon farkları ile ilgili problemleri azaltır. Genç sağlıklı popülasyonla ilgili standart sapma ünitelerinin kullanımı, ortalamanın sıfır olduğu bir “T değeri” olarak adlandırılır.

Dünya Sağlık Örgütü, kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçümlerindeki standart sapmaya göre osteopeni ve osteoporoz tanımlamalarını yapmıştır. KMY değeri, dual enerji X-ray absorpsiyometri (DEXA) ile ölçülmektedir ve elde edilen değerdeki standart sapmanın miktarına göre dört sınıflama yapılmıştır:

Normal: KMY’deki standart sapmanın 1 veya 1’in altında olması (T değeri ≥ -1.0).

Osteopeni: KMY’deki standart sapmanın 1 ile 2.5 arasında olması ($-1.0 > T \text{ değeri} > -2.5$).

Osteoporoz: KMY’deki standart sapmanın 2.5 veya 2.5’ten fazla olması (T değeri ≤ -2.5).

Şiddetli (yerleşmiş) osteoporoz: KMY'deki standart sapmanın 2.5 veya 2.5'ten fazla olması ve bir veya daha fazla kırık mevcudiyeti [27, 28].

2.2.2. Epidemiyoloji

Osteoporoz, dünyada en çok görülen metabolik kemik hastalığıdır. Yaşlı bireylerde meydana gelen kırıkların %75'i osteoporoz sebebiyle oluşmaktadır. Tüm dünyada 200 milyon kişiyi etkileyen osteoporoz nedeniyle her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 0.3 milyon, Avrupa'da 1.7 milyon kalça kırığı meydana gelmektedir. Kalça kırıkları kadınlarda, erkeklere oranla 2 kat fazla görülmektedir [29, 30].

Türkiye Osteoporoz Derneği (TOD), Türkiye'de osteoporoz prevalansı ve kalça kırığı insidansını güncellemek adına 2005 yılında FRACTURK isimli bir proje başlatmıştır. Çalışma 2011 yılında tamamlanmıştır ve çalışma sonuçlarına göre ortalama 50 yaş için %3-4 oranında olan osteoporoz prevalansı, ortalama 80 yaş için %30'un üzerine çıkmaktadır. 50 yaş üzerindeki Türk kadınlarının 7'inde 1'inde kalça kırığı tespit edilmiştir. 2010 yılında Türk popülasyonunda 24 bin kalça kırığı meydana geldiği, bunların %73'ünün kadın hastalarda ve büyük çoğunluğunun 75 yaş üzerinde görüldüğü belirtilmiştir [31].

2.2.3. Osteoporoz sınıflamaları

Osteoporozun farklı şekillerde sınıflamaları yapılmıştır. Bunlar yaşa, lokalizasyonuna, etiyolojisine, tutulan kemik dokuya veya histopatolojik görünümüne göre yapılmışlardır [32, 33]:

Yaşa göre:

- Juvenil osteoporoz
- Erişkin osteoporoz
- Senil osteoporoz

Lokalizasyona göre:

- Genel osteoporoz
- Bölgesel osteoporoz

Tutulan kemik dokuya göre:

- Trabeküler osteoporoz

- Kortikal osteoporoz

Etiyolojiye göre:

- Primer osteoporoz
- Sekonder osteoporoz

Histolojik görünümüne göre:

- Hızlı döngülü osteoporoz
- Yavaş döngülü osteoporoz

Farklı sınıflamalar arasında en yaygın kullanılan, etiyolojisine göre sınıflamadır. Bu sınıflama, primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer osteoporoz, önce Albright tarafından postmenopozal osteoporoz, senil osteoporoz ve idiyopatik osteoporoz olarak üçe ayrılmıştır. Sonraki yıllarda Riggs ve Melton bu grupları Tip I (postmenopozal) ve Tip II (senil) osteoporoz olarak isimlendirmişlerdir [33].

Tip I osteoporoz, 50-75 yaş arasında menopoz sonrası kadınlarda görülen, östrojen eksikliği ile karakterize osteoporoz tipidir. En sık görülen osteoporoz şeklidir. Osteoklastik aktivitedeki artış sebebiyle kemik kaybı görülmektedir. Kemik yapımı ile yıkımı arasındaki denge; östrojen seviyesindeki düşüş, sitokin düzeylerinde ve osteoblast apoptozundaki artışa bağlı olarak bozulmuştur. Paratiroid Hormon ve Kalsitriol (*calcitriol* [1-25(OH)₂D₃]) seviyelerinde düşüş görülür. Kalsiyum atılımı yükselmiştir. Tip I osteoporoz, erkeklerde de testosteron eksikliğine bağlı olarak görülebilir. Tip I osteoporozda sıklıkla vertebra kırıkları meydana gelmektedir [32, 34].

Tip II osteoporoz, 75 yaş üzeri bireylerde, genel hücresel yaşlanma, büyüme hormonunda ve büyüme faktör seviyelerindeki düşüşle birlikte azalan osteoblastik aktiviteye bağlı olarak görülen osteoporoz tipidir. En sık kemik kırıkları femur boynunda meydana gelir [33, 34].

Sekonder osteoporoz ise metabolik, hematolojik, romatizmal hastalıklar, kemik iliği hastalıkları ve çeşitli ilaç kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilen, kemik mineral yoğunluğunda ve kemik kütlesinde azalma ile karakterize osteoporoz tipidir [32].

Sekonder osteoporoz nedenleri [33]:

Endokrin nedenler:

- Hipogonadizm

- Over agenezisi
- Hipertiroidi
- Hiperparatiroidi
- Cushing sendromu
- Diabetes mellitus

Gastrointestinal nedenler:

- Subtotal gastrektomi
- Malabsorbsiyon
- Kronik obstrüktif sarılık
- Ağır malnütrisyon
- Primer bilier siroz

Bağ dokusu hastalıkları:

- Romatoid artrit
- Ehler Danlos sendromu
- Osteogenezis imperfekta
- Homosistinüri
- Marfan sendromu

Diyetle ilişkili nedenler:

- Diyetle kalsiyum azlığı
- Artmış protein tüketimi

Malign hastalıklar:

- Multiple myelom
- Sistemik mastositozis
- Lenfoma
- Yaygın karsinom

İlaç kullanımı:

- Heparin
- Glikokortikoidler
- Antikonvulzanlar
- Metotreksat

İmmobilizasyon

Diğer nedenler:

- Alkolizm
- Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)
- Sigara

2.2.4. Osteoporoz risk faktörleri

Osteoporoza neden olan faktörlerin çokluğu, osteoporozu patogeneze göre sınıflandırmayı güçleştirmektedir. Ayrıca bu nedenlerin birçoğu arasında çakışmalar mevcuttur. Vücutta kemik kaybı görülebilmesi için ya kemik oluşumda azalma ya kemik yıkımında artış ya da her ikisinin birden meydana gelmesi gerekmektedir. Bu nedenle kemik oluşumunu ve yıkımını etkileyen faktörleri listelemek, osteoporoz risk faktörlerinin belirlenmesi açısından önemlidir [35].

Çizelge 2.2. Kemik oluşumu ve yıkımını etkileyen faktörler [35]

Bağımsız Değişken	Kemik üzerine etkisi		Etki şekli
Östrojen	Direkt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
	İndirekt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Androjen	Direkt	Pozitif	Formasyonu artırır
	İndirekt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Yaşlanma	Direkt	Negatif	Formasyonu azaltır
	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Kilo (vücut ağırlığı)	Direkt	Pozitif	Formasyonu artırır
Egzersiz	Direkt	Pozitif	Formasyonu artırır
İmmobilizasyon	Direkt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Diyet Kalsiyum	İndirekt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Kalsiyum emilimi	İndirekt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Zorunlu kalsiyum atılımı	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Diyet sodyum ve protein	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Kortikosteroid hormonları	Direkt	Negatif	Formasyonu azaltır
	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Tiroid hormonu	Direkt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır

Çizelge 2.2. (devam) Kemik oluşumu ve yıkımını etkileyen faktörler

Vitamin D	Direkt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
	İndirekt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Endojen paratiroid hormonu	Direkt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Yüksek alkol tüketimi	Direkt	Negatif	Formasyonu azaltır
Orta alkol tüketimi	Direkt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Sigara	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Kafein	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Heparin	Direkt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır
Tiazid diüretikler	İndirekt	Pozitif	Rezorpsiyonu azaltır
Döngü diüretikler	İndirekt	Negatif	Rezorpsiyonu artırır

Östrojen eksikliği, kemiğin PTH'ye duyarlılığını artırarak doğrudan; kalsiyum emilimini ve renal tübüler kalsiyum geri emilimini azaltarak da dolaylı yoldan kemik rezorpsiyonunu artırmaktadır. Östrojen takviyesi bu etkileri tersine çevirir [35].

Androjenler, kemik hücreleri üzerinde doğrudan anabolik etki ile kemik formasyonunu artırır. Dolaylı yoldan etkilerinin ise östrojen dönüşümleri veya kalsiyum emilimi üzerine olumlu etkileri vasıtasıyla olabileceği düşünülmektedir [36].

Yaşlanma ile hem kadınlarda hem erkeklerde kemik formasyonunda azalma meydana gelir. Bununla birlikte kalsiyum emiliminde azalma ve dolaylı olarak kemik rezorpsiyonunda artış meydana gelmektedir [35].

Vücut ağırlığı (iskelet sistemi üzerine gelen mekanik kuvvet) ve egzersizler, osteoblastik aktiviteyi ve kemik oluşumunu artırmaları nedeniyle, kemik üzerinde olumlu etkiye sahiptirler [37].

İmmobilizasyon, kemiğe etki eden mekanik kuvvetlerin kaybına bağlı olarak kemik rezorpsiyonunda artışa neden olmaktadır [35].

Diyet ile kalsiyum alımı, serum kalsiyum seviyesinin düşmesine engel olur. Kalsiyum eksikliğinde kemikten kalsiyum çekmek için rezorpsiyon artmaktadır. Kalsiyum emilimindeki azalma da aynı etkiye yol açmaktadır. Deri, böbrekler ve bağırsaklardan

kaynaklanan zorunlu kalsiyum kaybı, kalsiyum dengesi denkleminin bir parçasıdır. Yüksek zorunlu kalsiyum kaybı, kemikte düşük diyet kalsiyum veya emilim bozukluğu ile aynı etkiye sahip olmaktadır. Diyet sodyum ve protein miktarındaki artış da zorunlu kalsiyum kaybını arttırır [36, 38].

Kortikosteroid hormonları, kemik oluşumunu doğrudan baskılar. Dolaylı olarak ise kalsiyum emilimini düşürerek kemik rezorpsiyonunun artmasına neden olurlar [39, 40].

D vitamini, serum kalsiyum seviyesinin korunmasında görev alır. Bu nedenle direkt ve indirekt olarak kemik üzerinde hem negatif hem pozitif etkilere sahiptir [35].

Yüksek düzeyde alkol tüketimi, kemik formasyonunu baskılayıcı etkiye sahiptir [41], ancak orta düzeyde tüketimlerin kemik rezorpsiyonunda azalmayı sağladığı gösterilmiştir [42]. Sigara tüketimi ise kalsiyum emilimini azaltır ve kemik rezorpsiyonunda artışa neden olur [43].

Kafein, kalsiyum atılımını artıran bir etkiye sahiptir ve bu nedenle kemik rezorpsiyonunu artırma potansiyeline sahiptir [44].

Heparin kemik üzerinde doğrudan etki ile kemik rezorpsiyonunu artırmaktadır. Tiazidler, kalsiyum dengesinin korunmasında, idrar kalsiyum seviyesini düşürerek görev almaktadırlar. Döngü diüretiklerinin ise idrar kalsiyumunu artırarak kemik üzerinde olumsuz etkileri vardır [35].

2.2.5. Osteoporoz patogenezi

Sekonder osteoporozda, kemik kaybı birincil sebep olan bir hastalık veya ilaç kullanımına bağlı olduğu için, patogenezin altta yatan sebebe göre belirlenebileceğini söylemek mümkündür. Ancak primer osteoporozda patogenezi saptamak daha zor olabilmektedir.

Doğum ile epifizin kapanması arasında geçen sürede kemik hacmi önemli ölçüde artar. Yaşam boyu ulaşılan maksimum kemik kütlesinin (pik kemik kütlesi) %95'e yakın kısmı bu dönemde kazanılır. Bu dönemden sonra kemik kütlesinin artmaya devam ettiği 20-30 yaşlarına kadar geriye kalan %5'lik kısım tamamlanır. Bu sürecin tamamında, kemik yapım hızı, yıkım hızından daha fazladır ve bu sayede kemik kütlesinde artış meydana gelir. Pik

kemik kütlesine ulaşıldıktan sonra bir süre kemik yapım ve yıkım hızları birbirine eşittir. Daha sonraki dönemde ise yıkım hızının daha fazla olması total kemik kütlesinin yavaş yavaş azalmasına sebep olur [45].

Tip I osteoporozun (postmenopozal osteoporoz) patogenezi tam olarak bilinmemektedir ancak bazı mekanizmalardan söz edilebilir. Tip I osteoporozda östrojen yetmezliği nedeniyle osteoklastik aktivitenin artması temel mekanizmayı oluşturur. Östrojen yetmezliğiyle birlikte osteoblastların PTH'ye duyarlılığının artması, osteoblast apoptozisinin azalması ve bağırsaklardan kalsiyum emiliminin azalmasının bu duruma neden olduğu düşünülmektedir [46]. IL-1, IL-6, TNF α gibi sitokinlerde artış görülür ve bu artış kemik yıkımına sebep olur. Östrojen seviyesindeki azalma ayrıca IGF-1, IGF-2 ve TGF- β gibi büyüme faktörlerinin de baskılanmasına neden olur ve kalsitonin üretiminde azalma görülür [45, 46].

Östrojen, osteoklast oluşmasını ve fonksiyonlarını uyaran faktörleri inhibe eder, osteoklast apoptozisini hızlandırır. Bu nedenle östrojen eksikliğinde, osteoklast aktivitesinde ve yaşam süresinde artış görülür. Östrojen yetmezliğinde osteoblastların, reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligand (RANKL) oluşumu ve fonksiyonunu azaltan osteoprotegerin (OPG) üretimi azalır ve dolayısıyla RANKL üretimi artar. RANKL üretimindeki artış, osteosit ve osteoblastların yaşam sürelerinde azalma gibi hücrel değişikliklere sebep olur [45, 47].

Tip II osteoporozda (senil osteoporoz), artan yaşla ve hücrel yaşlanmayla birlikte kemik formasyonunda azalma, yetersiz kalsiyum emilimi nedeniyle sekonder olarak gelişen hiperparatiroidizme bağlı kemik rezorpsiyonunda artma meydana gelir. Kalsiyum eksikliğini, yetersiz beslenme ve yeterince güneş ışığı alamamaya bağlı D vitamini eksikliğiyle ilişkilendirmek mümkündür [48].

2.2.6. Osteoporozda klinik bulgular

Osteoporozda, bir kırık meydana gelmediği sürece klinik teşhis koymak oldukça zordur. Klinik bulguların ortaya çıkmasına kadar geçen süre uzundur. Osteoporozun erken dönemi genellikle ağrısız devam eder ancak ileri evrelerde kemik kırıkları, deformiteler, akut ya da kronik ağrılar ve fonksiyon kaybı görülebilir. Osteoporoz teşhisinde ilk klinik bulgu genellikle

spontan olarak veya eğilme, ağırlık kaldırma gibi günlük aktiviteler ile ortaya çıkan kırılabilirlik kırılmalarıdır[49].

En sık görülen osteoporotik kırıklar, vertebral kompresyon kırıklarıdır. Postmenopozal osteoporozda (Tip I), vertebra, femur boynu ve distal radius kırıkları, trabeküler kemik kaybının daha belirgin olması nedeniyle sık görülür. Vertebra kırıklarının üçte ikisi asemptomatiktir ve genellikle akciğer ya da karın radyografilerinde fark edilirler. Vertebra kırıkları, bel ve sırt ağrı şikayetlerine de neden olabilir. Ağrıyla birlikte uyku düzensizlikleri, günlük aktiviteleri kısıtlayan fonksiyon bozuklukları, postur bozulmasına bağlı olarak solunum problemleri ve psikolojik problemler ortaya çıkabilmektedir [49, 50].

Senil osteoporozda hem kortikal hem trabeküler kemik kaybı görüldüğü için vertebra kırıkları dışında, kalça kırıkları ve uzun kemik kırıkları da ön plandadır. Vertebral kırıklara ek olarak disk aralığında daralma ve skolyoz olan durumlarda hasta boyunda kısalma görülür[49].

2.2.7. Osteoporozun tanı yöntemleri

Osteoporozun ortaya çıkması ve gelişmesinin birçok nedeni vardır. Nedenleri menopoza ve yaşlılık gibi doğal olduğunda “primer osteoporoz” denir. Bazı ilaçlar ve hastalıklar gibi başka bir birincil neden olduğunda “sekonder osteoporoz”, sebepleri bilinmediğinde “idiyopatik osteoporoz” olarak isimlendirilir [51].

Osteoklastların aracılık ettiği tüm hastalıklar ağrılıdır. Ancak osteoporoz genellikle daha az ağrılı bir seyir izler ve çoğunlukla ağrı fark edilmeyebilir. Bel ağrısı vakalarının çoğu osteoporotik kökenli olabilir ve bu teşhiste dikkat edilmesi gereken bir bulgudur. Osteoporozun multifaktöriyel, sendromik doğası ve düşük klinik belirtileri nedeniyle teşhis edilmesi güçtür. Çoğunlukla bir kırık meydana geldikten sonra ortopedistler tarafından teşhis edilir [51].

Yaşlı nüfustaki artışlar ve çocukların gelişim dönemindeki sağlıksız alışkanlıkları, osteoporoz ve osteoporotik kırıkların görülme sıklığında çok büyük artışlara yol açmaktadır. Bu nedenle birçok hastalıkta olduğu gibi osteoporozda da erken teşhis önemlidir [51].

Osteoporoza tanısal yaklaşım için risk faktörleri göz önüne alınarak hastanın detaylı anamnezi alınmalı, fiziksel muayenesi yapılmalı, laboratuvar tetkikleri ve çeşitli görüntüleme yöntemleri kullanılmalıdır.

Laboratuvar tetkikleri

Genellikle kan ve idrarda test edilen parametreler, primer osteoporoza eşlik eden morbidite olmadığında normal sınırlar içerisindedir. Bu nedenle laboratuvar testlerinin önemi, esas olarak sekonder osteoporozun tanımlanmasında yatmaktadır. Bu nedenle, bazı temel laboratuvar tarama testleri, tanı sırasında ve sonrasında düzenli olarak yapılmalıdır [49]:

- Eritrosit sedimentasyon hızı
- Tam kan sayımı
- Kalsiyum ve fosfat (serum)
- Alkalen fosfataz (serum)
- Glikoz (serum / idrar)
- Transaminazlar ve gama GT (serum)
- Kreatinin (serum)

Kadınların %20'si ve osteoporozu olan erkeklerin %64'ü, aynı zamanda osteoporoz ile bağlantılı hastalıklara (ko-morbiditeler) sahip olabilmektedirler. Bu sebeple uygun endikasyonlar mevcut olduğunda, ilave analizlerin yapılması da önemlidir [49]:

- T3, T4 ve TSH
- Östrojen ve/veya testosteron seviyeleri
- D vitamini metabolitleri
- K vitamini
- Parathormon
- Protein elektroforezi ve immünoelektroforez

Çizelge 2.3. Sekonder osteoporoz değerlendirmesinde kullanılabilecek laboratuvar testleri [49]

Test adı	Hastalık	İlave testler
Tam kan sayımı	Malabsorbsiyon	PTH, D vitamini, kalsiyum (serum), ferritin, B12 vitamini
	Multipl Miyelom	Kemik iliği biyopsisi, protein elektroforezi
	Lösemi	Kan smear
	Kemik metastazı	Prostat spesifik antinojen (PSA), kanser antijen 15-3 (Ca 15-3), karsinoembriyogenik antijen (CEA)
Tiroid uyarıcı hormon (TSH)	Hipertiroidizm	T3, T4
Glukoz (serum/idrar)	<i>Diabetes mellitus</i>	Oral glukoz tolerans testi
Kortizol (serum)	Cushing sendromu	Adrenokortikotropik hormon (ACTH), deksametazon testi
	Addison hastalığı	ACTH
<i>Human immunodeficiency virüs (HIV) antikör</i>	<i>Acquired immune deficiency syndrome (AIDS)</i>	Enfeksiyon teşhisi
<i>Human leukocyte antigen (HLA) B-27</i>	Ankilozan spondilit	C-reaktif protein (CRP)
Erkeklerde testosteron	Hipogonadizm	<i>Sex hormone binding protein (SHBP)</i> , lüteinleştirici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), prolaktin
Kalsiyum (serum)	Hiperparatiroidizm	PTH
	Malabsorbsiyon	Tam kan sayımı
	Morbus Crohn (Crohn hastalığı)	PTH, D vitamini
	Çölyak hastalığı	Alkalen fosfataz, gliadin
	Osteomalazi	PTH, D vitamini, Alkalen fosfataz

Çizelge 2.3. (devam) Sekonder osteoporoz değerlendirmesinde kullanılabilecek laboratuvar testleri [49]

Alkalen fosfataz	Kronik böbrek yetmezliği	PTH, kalsiyum, fosfat (serum)
	Osteomalazi	PTH, D vitamini, kalsiyum (serum)
Protein elektroforezi	Multipl miyelom	Tam kan sayımı, kemik iliği biyopsisi
Karaciğer enzimleri	Hemokromatozis	Demir, ferritin (serum)
	Alkolik karaciğer hastalığı, primer biliyer kolanjit	Antikorlar
Kreatin	Kronik böbrek yetmezliği	PTH, kalsiyum, fosfat (serum)
Histamin	Mastositosis	Kemik iliği biyopsisi

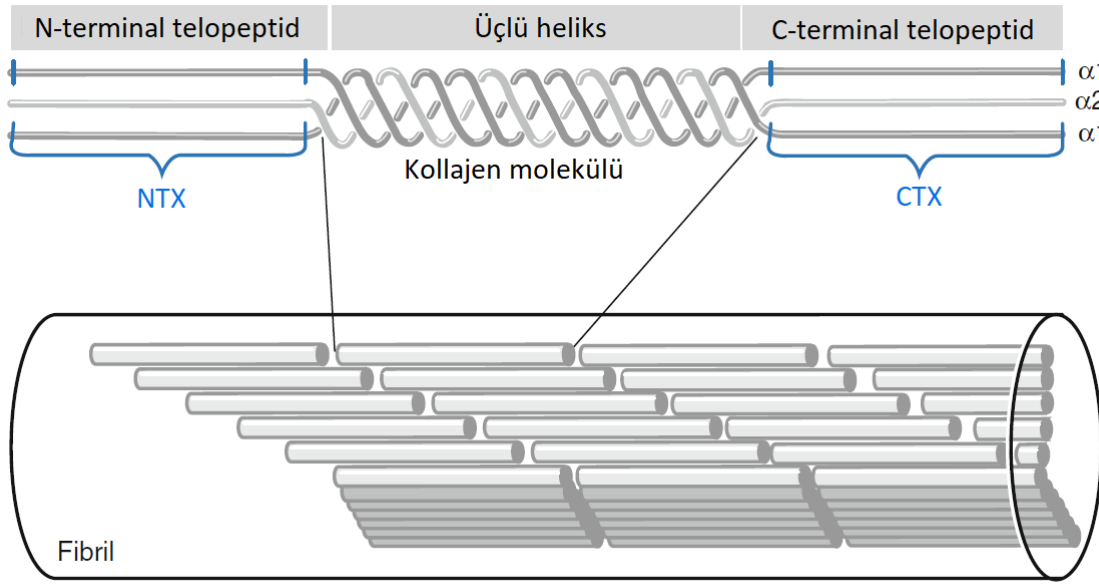
Günlük pratikte kolajen metabolizması ve kemik döngüsü (*turnover*) ölçümleri, iskelet metastazı veya Paget hastalığı gibi ilerleyici kemik hastalıklarının teşhisi ve izlenmesi için önemlidir. Bununla birlikte kemik belirteçleri osteoporozu teşhis etmek için kullanılamamaktadır ancak bazı önemli klinik soruları cevaplamaya yardımcı olabilirler:

- Gelecekte kemik kaybı oranını tahmin etmek (yüksek veya düşük kemik döngüsü)
- Osteoporotik kırık riskini tahmin etmek
- Terapiye yanıtın izlenmesi

Kemiğin yeniden şekillenmesinde görevli metabolitler ve Tip 1 kolajen gibi kemik matriks metabolizmasının ürünleri, önce kan dolaşımına, oradan da üriner sisteme geçiş yaparlar. Bu ürünler biyokimyasal olarak tanımlanabilir, kan ve idrardaki seviyeleri “yüksek devir” (*high turnover*) veya “düşük devir” (*low turnover*) osteoporozları gösterebilir. Ancak kemik belirteçlerinin osteoporoz tanısı için kemik yoğunluğu ölçümlerinin yerine geçmediğine dikkat edilmelidir. Bununla birlikte, bu belirteçler gelecekteki kemik kaybı ve kırılabilirlik kırığı riskleri hakkında bilgi vermektedir [49].

Kemik oluşumu parametreleri; kemiğe özgü alkalen fosfataz (ALP), osteokalsin ve osteonektindir. Bunlar osteoblastlar tarafından üretilir ve periferik kandaki seviyeleri

osteoblastik aktiviteyi yansıtır. ALP ayrıca karaciğer ve böbrek dahil çeşitli dokularda üretilir; bununla birlikte kemiğe özgü ALP, yüksek özgüllüklü immünolojik testlerle ayırt edilebilir. Osteokalsin (OC) bir günlük ritmi gösterir, yalnızca %50'lik kısmı dolaşıma katılırken kalan %50'si hidroksiapatite dahil edilir. OC, toplam kemik döngüsünün, yani hem rezorpsiyonun hem de formasyonun toplamını yansıtır. Tip I prokolajen (PICP ve PINC) C- ve N-terminal propeptidlerinin serum konsantrasyonları, kemik ve fibroblastlardaki diğer bağ dokularındaki osteoblastlar tarafından üretilen yeni kolajen sentezindeki değişiklikleri yansıtır (Şekil 2.3). Üretilen tüm PICP ve PINC, dolaşım içine katılır [49, 52].



Şekil 2.3. Kolajenin moleküler yapısı

Kemik yıkım parametreleri; öncelikle kan dolaşımına salınan ve daha sonra idrarla atılan “çapraz bağlar” (*cross links*) gibi kolajen parçalarından oluşur. Deoksipiridinolin ve Tip I kolajen çapraz-bağ telopeptidleri, en sık değerlendirilen iki rezorpsiyon belirtecidir. Telopeptitler, terminalleri ile ayırt edilirler: amino- (NTX, Osteomark) ve karboksi- (CTX, *Crosslaps*). Hem NTX hem de CTX, antiresorptif tedaviye belirgin bir yanıt gösterir ve şu anda kemik rezorpsiyonunun en güvenilir parametreleri olarak kabul edilir. Bununla birlikte, serum NTX konsantrasyonları kronik böbrek yetmezliğinde yükselir. Bu durum, böbrek fonksiyonunun araştırılması sırasında dikkate alınmalıdır [49, 53].

Kemik sialoprotein (BSP); de kemik döngüsünün hassas bir belirteci olarak görülmektedir. Ayrıca BSP, multipl miyelom ve meme kanseri metastazları gibi kemik iliğindeki tümör hücrelerinin çekimi ve büyümesinde önemli rol oynamaktadır [49].

Tartarat rezistan asit fosfataz da (TRAP), osteoklastik aktiviteyi yansıtan parametrelerden biridir. Ancak duyarlılığının ve özgünlüğünün yeterli olmadığı düşünülmektedir [52].

Hidroksiprolinin, özgüllüğü olmadığı için kemik metabolizmasının bir belirteci olarak kullanılması düşünülmemektedir. İdrar hidroksiprolin seviyesi, iskelet dışı bölgelerdeki kolajenin parçalanmasından ve aynı zamanda diyetle alınan kolajen miktarından etkilenebilmektedir [49].

Görüntüleme yöntemleri

Osteoporoz tanısı için farklı görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır. İnvaziv olmayan en eski tanı teknikleri arasında kortikal kalınlık ölçümü ve radyografilerdeki radyoaktifliğin değerlendirilmesi yer almaktadır. Daha sonra geliştirilen absorbsiyometrik teknikler, osteoporoz tanısı için standart kemik kaybı ölçümü getirmiştir. Ağırlık taşıyan kemikler kırılma riski kırılmalarına karşı oldukça hassas olduklarından genellikle bu teknikler kalça, lomber omurga veya önkolun kemik yoğunluğunu ölçmektedir. Kemik mimarisinin hacimsel incelemesi için başka kantitatif görüntüleme teknikleri de geliştirilmiştir. Trabeküler kemiğin daha yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle, trabekülerce zengin iskelet bölgelerinin doku analizi daha hassas bir ölçüm sağlamaktadır [54].

Dual enerji x-ray absorbsiyometri (DEXA)

Osteoporoz tanısı için altın standart, DEXA ile kemik mineral yoğunluğunun (KMY) belirlenmesidir. DEXA, kemik bölgesini taramak için farklı enerjilere sahip iki X ışını kullanır. Görüntülenmek istenilen alan, DEXA görüntüsünden otomatik olarak segmentlere ayrılır ve bu belirli alanın kemik mineral içeriği (KMİ) ölçülür. KMY, KMİ'nin görüntülemeye kullanılan "belirlenmiş toplam alana" oranı olarak elde edilir ve g/cm^3 olarak ölçülür. Bir hastanın ölçülen KMY'si, en yüksek kemik kütlesine sahip, genç, cinsiyet açısından eşleştirilmiş sağlıklı yetişkin popülasyonunun referans KMY değeri ile karşılaştırılır. T-skoru, ölçülen KMY'nin referans KMY'den standart sapması olarak hesaplanır [54, 55].

DEXA, yüksek hassasiyete (%2-2.5 maksimum kabul edilebilir hassasiyet hatası), düşük radyasyon maruziyeti ve kısa bir tarama süresine sahiptir. DEXA ile ölçülen KMY değeri, kemik gücünün %70'ini açıklayabilir. DEXA'nın yüksek maliyeti ve sınırlı bulunabilirliği dezavantajları olarak sayılabilir. Ayrıca KMY, tek başına kırılma riskinin iyi bir belirleyicisi olarak görülmez. Bu sınırlama, trabeküler kemiği ölçen volumetrik kantitatif teknikler kullanılarak çözülebilir [54].

Kantitatif komputerize tomografi (quantitative computed tomography (QCT))

QCT, trabeküler kemik yoğunluğunun hacimsel bir ölçümünü veren, yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. QCT'de, dokular tarafından absorbe edilen X ışınının yoğunluğunun kaybı (zayıflaması, *attenuation*), görüntülenmesi hedeflenen alan boyunca farklı açılardan yakalanır. Görüntüler, taranan bölgenin dilimleri olarak elde edilir ve bu dilimlerden yeniden üç boyutlu bir model oluşturulur. Elde edilen görüntülerde kortikal ve trabeküler kemikler kolayca ayırt edilebilirler. QCT, omurga ve kalçadaki trabeküler kemik yoğunluğunu ölçmek için kullanılır. Farklı üreticilerin bilgisayarlı tomografi tarayıcılarında, tutarlı sonuçlar üretmek için bir kalibrasyon standardının kullanılması gerekmektedir. QCT, vücut büyüklüğünden bağımsız olarak gerçek bir hacimsel KMY ölçümü verir. Trabeküler kemik yoğunluğunun ölçümü, DEXA ile ölçülen KMY'ye kıyasla daha hassas bir ölçüm verir, ancak QCT yüksek tarama maliyetine ve yüksek radyasyon dozuna sahiptir. Görüntülenme sırasında meydana gelen artefaktlar QCT görüntüsünü değiştirebilir ve ölçümün doğruluğunu azaltabilir. QCT'den elde edilen T skorları DEXA'dan daha düşüktür ve bu nedenle WHO osteoporoz sınıflandırması kullanılarak analiz edilmesi doğru olmamaktadır. Bunun yerine, hacimsel KMY değerleri kırılma riskini ölçmek için kullanılabilir:

- 110-80 mg/cm³; kırık oluşma riskinde hafif artış
- 80-50 mg/cm³; kırık oluşma riskinde orta derecede artış
- <50 mg/cm³; kırık oluşma riskinde şiddetli artış

Proksimal femurun QCT taraması, DEXA eşdeğer skorlarını belirlemek için analiz edilebilecek iki boyutlu bir görüntüye yansıtılabilir. Bu teknik, bilgisayarlı tomografi X-ışını absorpsiyometrisi (CTXA) olarak adlandırılır. CXTA değerleri, WHO sınıflandırması ve kırılma riski değerlendirme aracı (FRAX) skorunun belirlenmesi için kullanılabilir. Çift enerjili QCT, tek enerjili QCT'ye kıyasla KMY ölçümlerinin doğruluğunu arttırmaya yardımcı olur [54, 56].

Yüksek çözünürlüklü periferel QCT (HR-pQCT)

HR-pQCT, distal radius ve tibia gibi periferel bölgelerin yüksek çözünürlüklü hacimsel görüntülerini elde eden bir QCT tekniğidir. HR-pQCT, aynı anda hem trabeküler hem de kortikal kemiklerin kemik yoğunluğunu ve kemik yapısını ölçebilir. HR-pQCT görüntüsü üzerinde sonlu elemanlar analizi de yapılabilir ve trabeküler kemiğin biyomekanik özellikleri ölçülebilir. Yüksek çözünürlüklü görüntüleme, kortikal ve trabeküler mimarinin çok ince detaylarını sunabilmektedir. HR-pQCT, diğer tomografi tekniklerinden daha yüksek bir çözünürlüğe, sinyal-gürültü oranına ve daha düşük radyasyon dozuna sahiptir. Periferik ölçüm yapılması, morbid hastalarda veya kalça kırığı çeken hastalarda kolaylık sağlar. Kemik yoğunluğu ve pQCT'nin mikroyapısal ölçümleri, osteoporozun DEXA'dan bağımsız olarak tahmin edilebilmesine olanak verir. HR-pQCT, aynı KMY değerlerine sahip bireylerin kemik mikro-mimarisindeki farklılıkları ölçebilir. Ölçüm süresinin daha uzun olması ve en ufak hareketlerde artefaktların meydana gelmesi dezavantajları olarak belirtilmektedir [54].

Kantitatif ultrason (QUS)

QUS, trabeküler kemik mimarisinin ölçümü için basit, düşük maliyetli, radyasyonsuz bir tekniktir. Farklı frekanslarda ses dalgaları kullanılır. Diferansiyel yansımaları ve ses dalgalarının zayıflamasını temel alarak kemik özelliklerini ölçer. QUS, radyasyon olmaması, düşük maliyet, ekipmanın taşınabilirliği, periferel dokularda ölçüm vb. avantajlara sahiptir, ancak QUS ölçümleri farklı üreticilere ve farklı iskelet bölgelerine göre değişiklik gösterir. Bu nedenle hassas bir ölçüm sağladığını söylemek mümkün değildir. QUS, transdüserlerin yanlış yerleştirilmesi ve sıcaklıktaki farklılıklar nedeniyle düşük güvenilirliğe ve tekrarlanabilirliğe sahiptir. Bu, osteoporoz için klinik bir teşhis aracı olarak kullanımını sınırlar, ancak bir ön tarama aracı olarak faydalıdır [54, 56].

Manyetik rezonans görüntüleme (MRI)

Manyetik rezonans görüntüleme, muskuloskeletal sistem hastalıklarının değerlendirilmesinde kullanılan bir tanı yöntemidir. MRI'nın sıvı ve yağ protonlarından gelen sinyalleri ölçebilme yeteneği sayesinde kemiğin porozitesini kantitatif olarak değerlendirmek mümkündür. MRI, osteoporozun izlenmesi amacıyla klinik pratikte çok yaygın olarak kullanılmamaktadır. MRI'nın sınırlamaları, uzun tarama süresi ve kısmi hacim etkilerine ve hareket artefaktlarına duyarlılıktır. MRI'da duyarlılık artefaktları, trabeküler

kemik ağının boyutunu yükseltebilir ve dolayısıyla morfometrik ölçümleri etkileyebilir [54, 56].

Dijital X-ışını radyometrisi (DXR)

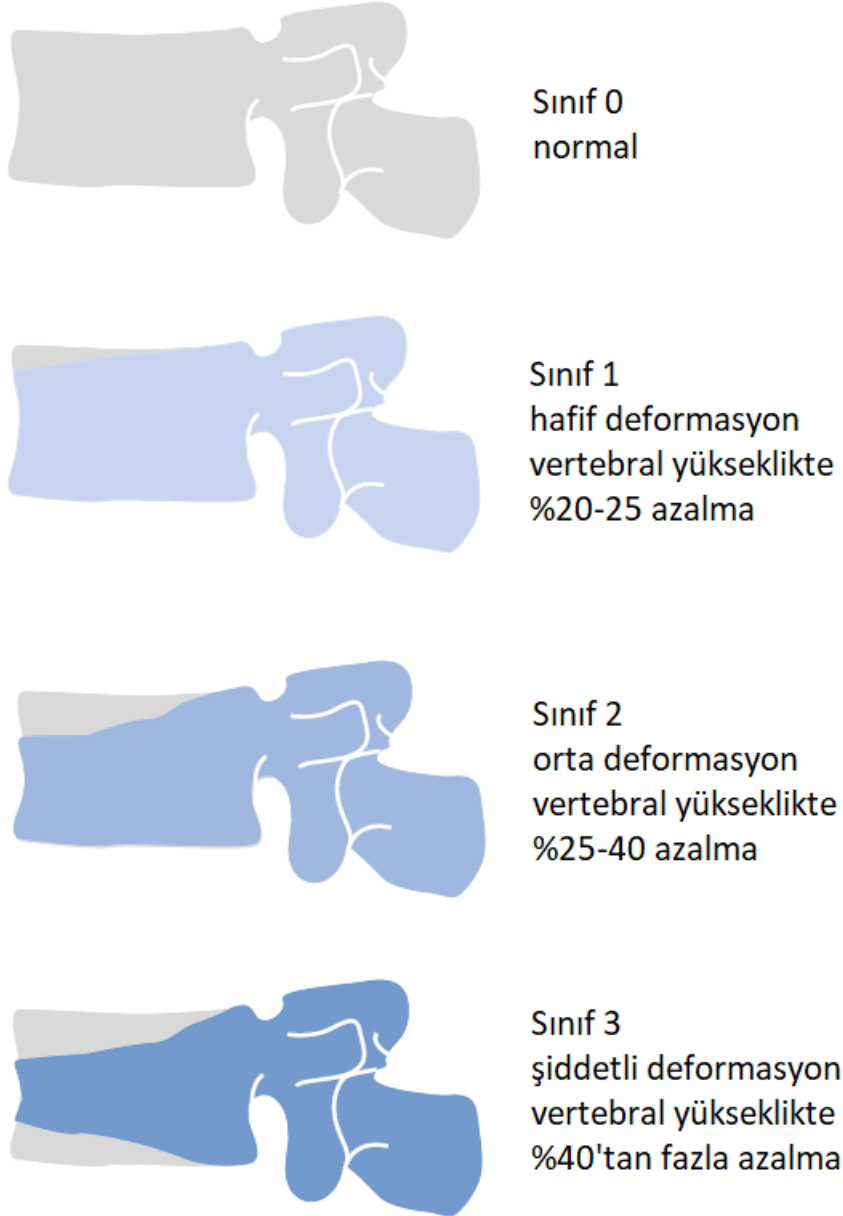
DXR, KMY ölçümü için kullanılan kombine bir bilgisayarlı radyometri ve doku analiz tekniğidir. Uygun maliyeti ile DEXA'ya bir alternatif olarak tanıtılmıştır. DXR, üç orta metakarpal kemikten KMY'yi tahmin etmek için bir elin radyografisini kullanır. Görüntülenmesi hedeflenen alan, aktif şekil model bölümlendirme yöntemi (*active shape model segmentation method*) kullanılarak, el görüntüsünden otomatik olarak segmentlere ayrılır. Kortikal kemiğin radyometrik ölçümü ve dokusal analiz (kortikal porozite indeksi) kombinasyonu ile alan başına kemik hacmini elde etmek için kullanılır. DXR ile ölçülen KMY, DEXA ile ölçülen önkol, kalça ve omurganın KMY değerleri ile iyi bir korelasyon gösterir. Bununla birlikte, DXR ile ölçülen KMY, gerçek hacimsel kemik yoğunluğu ölçüsü değildir. DXR, daha hassas bir ölçüm sağlayabilecek trabeküler kemik mimarisinin doku analizini hesaba katmamaktadır [54].

Konvansiyonel radyografiler

Her ne kadar osteoporoz tanısı için geliştirilen tüm kantitatif görüntüleme teknikleri oldukça hassas veya doğruya yakın sonuçlar vermekte ise de birçok tekniğin maliyetinin yüksek olması ve cihazların her yerde ulaşılabilir olmaması nedeniyle osteoporoz için kitle taraması ve devam eden tedavilerde takip muayenesi kullanımları sınırlıdır. Bu sınırlamayı aşmak için konvansiyonel radyografiler, düşük maliyetleri, geniş kullanılabilirlikleri ve edinme kolaylıkları nedeniyle hala önemli bir yere sahiptir. Yüksek işlemcili bilgisayarların gelişmesiyle birlikte, sadece radyografileri kullanarak osteoporoz ve kırık riskinin değerlendirilmesi için gelişmiş görüntü işleme ve makine öğrenme teknikleri kullanmak amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır. Kalça, lomber omurga, kalkaneus, önkol ve dental radyografiler gibi ağırlık taşıyan kemik radyografileri kullanılabilir [54].

İskelet sisteminde ancak %30-40 yoğunluk kaybı olduğunda konvansiyonel radyografiler ile kemik kaybı fark edilebilmektedir. Bu nedenle, osteoporozun erken teşhisinde konvansiyonel radyografilerin çok başarılı olduğunu söylemek mümkün değildir. Fakat örneğin omurga gövdelerinde meydana gelen şekil değişikliklerinin görüntülenmesi hem

kemik kaybının seviyesi hem de altta yatan hastalıklarla ilgili bilgiler verebilmektedir (Şekil 2.4) [54].



Şekil 2.4. Genant'a göre vertebral deformitelerin yarı kantitatif bir değerlendirmesi için derecelendirme şeması

2.2.8. Osteoporoz tedavisi

Osteoporozun yaygın tedavi seçenekleri anabolik ve antirezorptif ajanların kullanımındır. Anabolik ajanlar osteoblast öncüllerinin sayısını artırarak, osteoblastların olgunlaşmasını

uyararak ve osteoblastik fonksiyonu ve/veya osteoblastik sağkalımı arttırarak kemik oluşumunu etkiler. Antiresorptif ajanlar ise osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu azaltır [1].

Kalsiyum ve D vitamini

Kalsiyum ve D vitamini takviyesi, osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için düşük maliyetli, temel bir terapidir. Osteoporozun önlenmesinde veya tedavisinde kritik rol oynayabilir. Yaygın kullanımına rağmen, kırık riskini azaltma üzerindeki destekleyici etkileri için yeterli kanıt bulunmamaktadır ve bazı çalışmalar postmenopozal osteoporozda yarattığı etkinin çok az olduğunu belirtmektedir [1].

Bifosfonatlar

Bu ilaç sınıfı, osteoporoz tedavisinin temel taşıdır ve birinci basamak tedavi olarak kabul edilir. Bisfosfonatlar, kemik mineral yoğunluğunu iyileştirir ve kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek kırılma riskini azaltır. Osteoporoz tedavisi için alendronat, ibandronat, risedronat ve zoledronik asit gibi farklı bifosfonat tipleri mevcuttur. Bağlanma afiniteleri ve emilim karşıtı etkileri, bileşikler arasında farklılıklar göstermektedir. Bisfosfonatların bağlanma afiniteleri; zoledronat > alendronat > ibandronat > risedronat şeklinde sıralanmaktadır. Yüksek afiniteli bifosfonatlar kemik yüzeyine sıkıca bağlanır, ancak kemikten yavaşça yayılır ve osteosit ağına sınırlı erişime sahiptir. Buna karşılık, düşük afiniteli ajanlar kemik boyunca geniş çapta dağılmıştır. Eğer tedavi durdurulursa, düşük afiniteli ajanların kemik üzerindeki etkileri, yüksek afiniteli ajanların etkilerinden daha hızlı kaybolur [2, 57].

Bifosfonatların etki mekanizması, kemik kütlesi rezorpsiyonunu azaltan ve kemik yoğunluğunu artıran osteoklast inhibisyonunu içerir. Bisfosfonatlar, osteoklastların çalışması ve yaşaması için gerekli olan önemli bir enzimi inhibe ederek etki gösterirler. Böylece osteoklastların apoptozunu indüklerler ve kemik remodeling yüzeylerinde sayılarını azaltırlar. Tüm bifosfonatlar kemik yoğunluğunu arttırır ve hem erkeklerde hem de kadınlarda osteoporozun neden olduğu kırıkların oluşumunu azaltır. Kemik mineral yoğunluğu düşük ya da sık görülen vertebra kırığı olan menopoz sonrası kadınlarda osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için uygun bir seçenek olduğu kabul edilmiştir [57].

Bifosfonat kullanımıyla birlikte ortaya çıkan yan etkiler her tür oral bifosfonat için benzerdir ve yutma zorluğu, özofagus iltihabı ve mide ülseri gibi mide-bağırsak problemlerini içerir. Ağızdan alındığında, bifosfonatlar zayıf bir şekilde emilir, bu nedenle özofageal tahrişe ve gastrointestinal semptomlara neden olabilir. İntravenöz bifosfonat tedavisi ile ilgili olarak, kas içi iskelet ağrısı, atriyal fibrilasyon, özofagus kanseri ve çene kemiklerinin osteonekrozu önem arz eden yan etkilerdendir [57].

Kalsitonin

Kalsitonin tiroidin parafoliküler hücrelerinden salgılanan, belirli bir reseptör yoluyla osteoklastlar üzerine doğrudan etki eden bir peptiddir. Kalsitonin uygulaması ile kemik mineral yoğunluğunda önemli artış olduğu birçok klinik çalışma ile gösterilmiştir. Nazal sprey formu ve deri altı enjeksiyon formu bulunmaktadır. Vertebra ve kalça kırıklarını azalttığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Anabolik etkilerinin zayıf olması nedeniyle ikinci veya üçüncü sırada alternatif ilaç olarak değerlendirilmektedir [1, 2].

PTH analogları

Tam uzunlukta PTH'nin (1-34) bir parçası olan teriparatide, menopoz sonrası kadınlarda ve kırık riski yüksek olan erkeklerde osteoporoz tedavisi için FDA (*Food and Drug Administration*) tarafından onaylanmıştır. Teriparatide ayrıca, yüksek kırılma riski taşıyan ve sürekli sistemik glukokortikoid tedavisi ile ilişkili osteoporozu olan kadın ve erkeklerde tedavi için onaylanmıştır. Osteoporozu tedavi etmek için kullanılan paratiroid hormonu ile ilgili bir protein analog ilacı olan abaloparatide, teriparatide gibi anabolik bir ajandır. Postmenopozal osteoporoz tedavisi için 2017 yılında FDA tarafından onaylanmıştır [57]. PTH, kemikteki osteoklastik aktiviteyi uyarak kalsiyum ve fosfor salgılar. Bu nedenle, aşırı PTH'nin sürekli salgılanması kemik erimesine neden olur. Bununla birlikte, PTH düşük ve aralıklı bir dozajda verildiğinde, anabolik özellikleri çok daha net bir şekilde görülür [58]. Günlük deri altı enjeksiyonları yoluyla uygulanan PTH, kemik oluşumunu uyarır. PTH ailesinden aralıklı olarak uygulanan peptidlerin anabolik etkileri; hücre çoğalmasının uyarılması, osteoblast apoptozunun inhibisyonu ve muhtemelen osteoblast aktivitesinin uyarılması yoluyla osteoblast sayısının artırılmasını içerir [57].

Günde 20 µg teriparatide kullanımının, ortalama 18 aylık bir tedaviden sonra, osteoporoz hastalarında vertebral kırık riskini %65 ve vertebra dışında kırık riskini %53 azalttığı gösterilmiştir. Teriparatid ratlarda yapılan çalışmalarda osteosarkom insidansında bir artışa neden olduğu için, osteosarkom riski yüksek olan hastalarda (Paget hastalığı gibi), daha önceden radyoterapi alanlarda, kemik metastazı, hiperkalsemi veya iskelet malignitesi öyküsü bulunan hastalarda teriparatid tedavisi önerilmemektedir. Teriparatidin güvenliği ve etkinliği iki yıllık tedavinin ötesinde kanıtlanmamıştır. Bu nedenle teriparatide en fazla iki yıl süreyle kullanılmalıdır, ardından KMY'yi korumak veya daha da artırmak için tedaviye antirezorptif bir ajan, genellikle bir bifosfonat, ile devam edebilir [57].

Hormon replasman tedavisi (hormone replacement therapy (HRT))

Tek başına veya progestinlerle birlikte östrojenler, osteoporozu önler ve menopoz sonrası kadınlarda kırık riskini azaltır. Ancak tromboembolik olaylar, koroner kalp hastalıkları, felç ve meme kanseri gibi yan etkileri olabilmektedir. Bu bulgulara göre, yarar-zarar dengesi göz önüne alınarak, kısa süreliğine, en düşük etkili dozda HRT önerilmektedir [1].

Seçici östrojen reseptör modülatörleri (selective estrogen receptor modulators (SERM))

Östrojenin kemikteki ve diğer hedef organlardaki moleküler etkileri hakkındaki bilginin artması ve HRT'nin güvenlik kaygıları göz önüne alındığında, geçmiş yıllarda, rahim ve memede sık görülen yan etkilerden kaçınırken iskelet yararlarını korumak amacıyla östrojen agonisti ve antagonisti özelliklerine sahip karışım bileşiklerin geliştirilmesi üzerine yoğun bir çaba sarf edilmiştir. Bu bileşikler, başlangıçta hormona duyarlı kanserlerde anti-östrojen aktivitesi gösterdiği düşünülen ajanlardan türetilmiş ve SERM olarak adlandırılmıştır [2]. SERM'ler, kemik ve kardiyovasküler sistemler üzerinde östrojen benzeri özellikler gösterirken, meme ve endometriyum üzerinde östrojen antagonistik etkileri olan nonsteroidal sentetik bileşiklerdir [1].

Raloksifen:

Raloksifen, menopoz sonrası kadınlarda osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için FDA tarafından onaylanan tek SERM'dir. Menopoz sonrası kadınlarda raloksifen, daha önce vertebra kırığı olan hastalarda vertebral kırık riskini yaklaşık %30 ve üç yıldan uzun süredir vertebra kırığı olmayan hastalarda yaklaşık %55 oranında azaltır. Ancak, omurga dışı veya

kalça kırılmalarına karşı koruma sağlamaz. Raloksifen, derin ven trombozu riskini östrojen replasmanında gözlemlenen dereceye yakın bir seviyede arttırmaktadır, ancak koroner kalp hastalığı riskini azaltmaz [57].

1999 yılında yapılan MORE (*Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation*) [59] adı verilen çalışmada, osteoporozu olan 7705 menopoz sonrası kadında raloksifen tedavisinin omurga ve omurga dışında kırık riski üzerine etkileri araştırılmıştır. Vertikal kırık riskinin, raloksifen uygulanan çalışma gruplarında, plasebo grubuna göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Plasebo grubuyla karşılaştırıldığında raloksifenin femur boynunda KMY'yi %2,2-2,4 ve omurgada %2,6-2,7 oranında artırdığı tespit edilmiştir. Raloksifen ile tedavi edilen kadınlarda, venöz tromboembolizm riski plasebo grubuna kıyasla daha yüksektir. Bununla birlikte raloksifen meme kanseri insidansını azaltmaktadır [57].

Doku seçici östrojen reseptör kompleksleri (tissue selective estrogen receptor complexes (TSEC))

TSEC'ler bir SERM ile östrojeni birleştiren yeni bir ilaç sınıfıdır. Menopoz ile ilişkili semptomları etkin bir şekilde tedavi ettikleri ve rahim veya memeyi olumsuz yönde etkilemeden kemik kaybını önledikleri gösterilmiştir. Östrojen replasmanında, TSEC'nin her iki bileşeni de aynı ligand bağlama cebi (*ligand-binding pocket*) için rekabet ettiğinden, etki mekanizmalarının tasvir edilmesi zordur. Bununla birlikte, bileşenlerin farmakodinamiği ve farmakokinetiğinde farklılıklar olması muhtemeldir. Bu kombinasyonların gelecekte osteoporoz ilaçlarının gelişimi üzerinde de önemli bir etkisi olacağı düşünülmektedir [57].

2.3. Astaksantin

Astaksantin, çeşitli mikroorganizmalarda ve deniz hayvanlarında bulunan bir ksantofil karotenoiddir. Astaksantin, insan vücudunda A vitamini yanlısı bir aktiviteye sahip olmayan, kırmızı renkte, yağda çözünen bir pigmenttir ve diğer karotenoidlerden daha güçlü biyolojik aktiviteye sahiptir. FDA astaksantin hayvan ve balık yemlerinde renklendirici olarak kullanılmasını onaylamıştır. Avrupa Komisyonu, doğal astaksantini gıda boyası olarak kabul etmektedir. *Haematococcus pluvialis*, yüksek tuzluluk, azot eksikliği, yüksek sıcaklık ve ışık gibi stres koşullarında yüksek astaksantin içeriği biriktiren yeşil bir mikroalgdir. *H. pluvialis*'ten üretilen astaksantin, insan tüketimi için ana kaynaktır. Somon, alabalık ve

karides yemlerinde bir pigment kaynağı olarak kullanılır. İnsanlarda ve hayvanlarda diyet takviyesi için deniz ürünlerinden elde edilir veya *H. pluvialis*'ten ekstrakte edilir [6, 60].

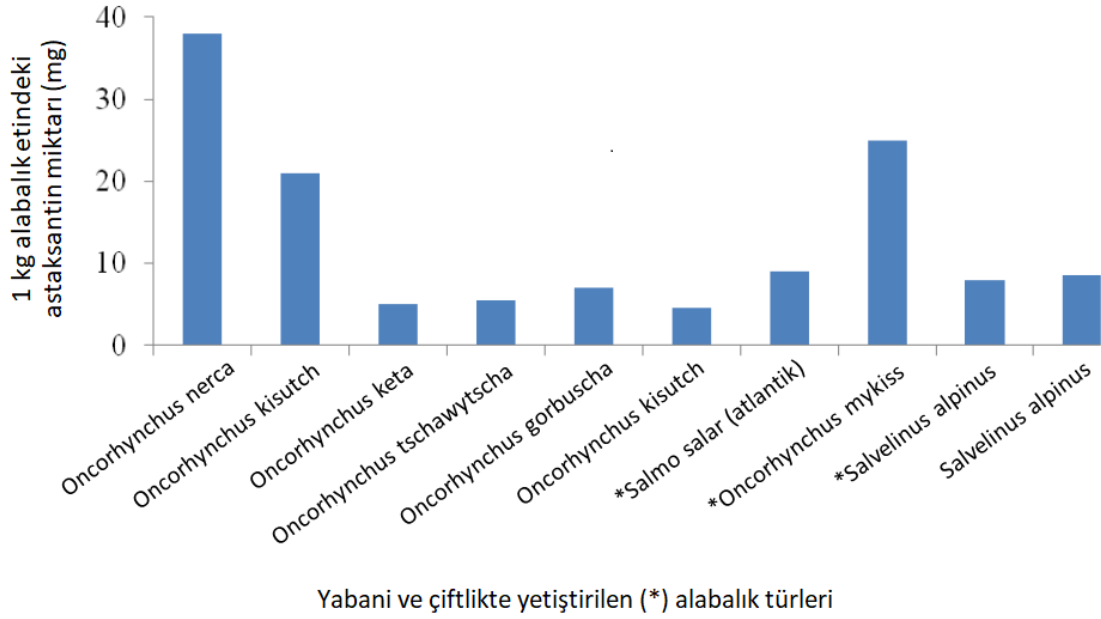
2.3.1. Astaksantin kaynakları

Astaksantin doğal kaynakları yosun, maya, somon, alabalık (Şekil 2.5), krill, karides ve kerevittir. Çeşitli mikroorganizmalar vasıtasıyla da astaksantin sentezi yapılabilmektedir.

Çizelge 2.4. Astaksantin mikroorganizma kaynakları [6]

Kaynak mikroorganizma	Kuru ağırlık bazında astaksantin yüzdesi (%)
<i>Chlorophyceae</i>	
<i>Haematococcus pluvialis</i>	3.8
<i>Chlorococcum</i>	0.2
<i>Chlorella zofingiensis</i>	0.001
<i>Neochloris wimmeri</i>	0.6
<i>Ulvophyceae</i>	
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	0.02
<i>Ulva lactuca</i>	0.01
<i>Florideophyceae</i>	
<i>Catenella repens</i>	0.02
<i>Alphaproteobacteria</i>	
<i>Agrobacterium aurantiacum</i>	0.01
<i>Paracoccus carotinifaciens</i>	2.2
<i>Tremellomycetes</i>	
<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>	0.5
<i>Labyrinthulomycetes</i>	
<i>Thraustochytrium sp.</i>	0.2
<i>Malacostraca</i>	
<i>Pandalus borealis</i>	0.12
<i>Pandalus clarkia</i>	0.015

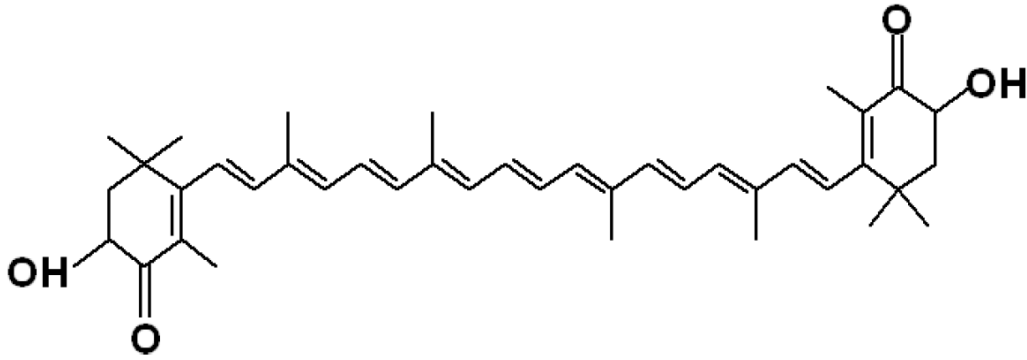
Ticari astaksantin esas olarak *Phaffia* mayasından, *Haematococcus*'tan ve kimyasal sentez yoluyla elde edilir. *Haematococcus pluvialis*, doğal astaksantin en iyi kaynaklarından biridir [6].



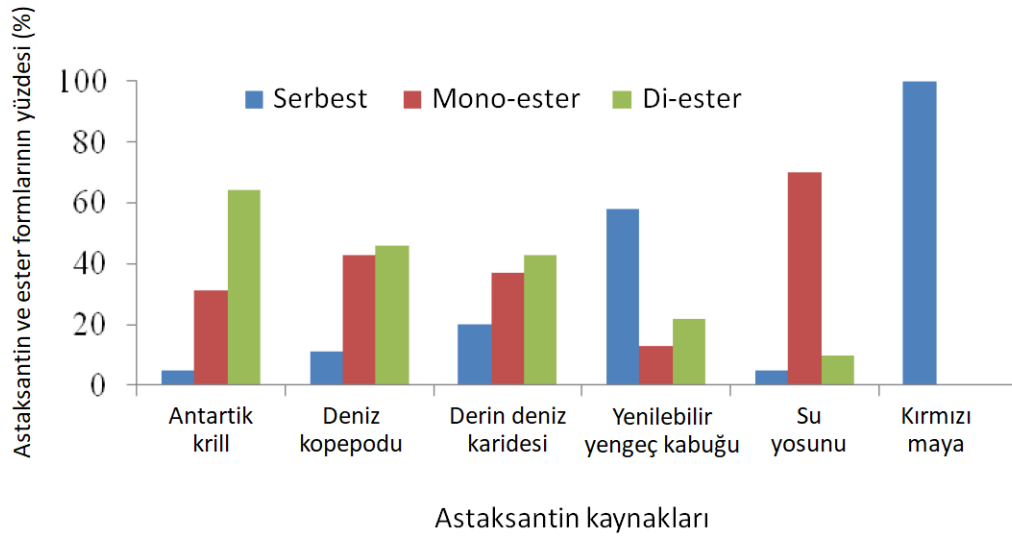
Şekil 2.5. Yabani ve çiftlikte yetiştirilen alabalık türleri [6]

2.3.2. Astaksantin yapısı

Astaksantin, ksantofillerin bir üyesidir çünkü sadece karbon ve hidrojen değil, aynı zamanda oksijen atomları da içerir. Astaksantin, bir polen zinciri ile birleştirilen iki terminal halkadan oluşur (Şekil2.6). Halkalardaki tek hidroksil grubu bir yağ asidi ile tepkimeye girerse mono-ester oluşturur. Her iki hidroksil grubu da yağ asitleri ile tepkimeye girdiğinde sonuç bir di-ester olarak adlandırılır. Astaksantin; stereoizomer, geometrik izomer, serbest ve esterleşmiş formlarda bulunur. Bu formların tümü doğal kaynaklarda mevcuttur [6].



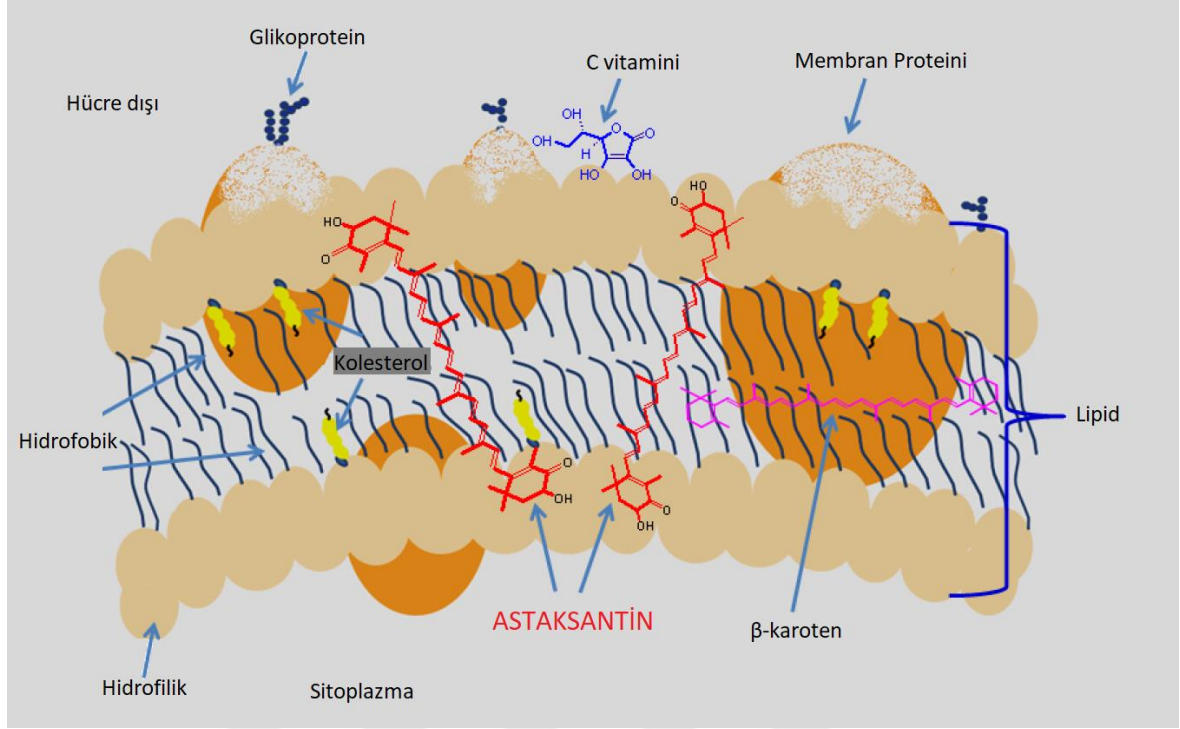
Şekil 2.6. Astaksantin kimyasal yapısı [6]



Şekil 2.7. Astaksantin ve ester formlarının farklı kaynaklarda görülme oranları (%) [6]

2.3.3. Astaksantin biyokimyası

Astaksantin, konjuge çift bağ, hidroksil ve keto grupları içerir. Hem lipofilik hem de hidrofilik özelliklere sahiptir. Kırmızı renk, bileşiğin ortasındaki konjuge çift bağdan kaynaklanmaktadır. Bu tür konjuge çift bağ, çok çeşitli canlı organizmalarda, elektronları vererek ve serbest radikallerle reaksiyona girerek daha stabil bir ürün olmalarını sağlamak ve serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırmak suretiyle güçlü bir antioksidan görevi görür. Astaksantin, diğer antioksidanlardan daha etkili biyolojik aktivite göstermektedir çünkü hücre zarı ile içten dışa (tüm hücre zarı boyunca) bağlanabilir (Şekil 2.8) [6].



Şekil 2.8. Hücre zarında astaksantinün üstün pozisyonu

2.3.4. Astaksantinün biyoyararlanımı ve farmakokinetiği

Biyoyararlanım

Diyet yağları astaksantinün emilimini arttırabilir. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, astaksantin ve balık yağı kombinasyonunun, plazmada hipolipidemik (kanda lipid düzeyinin normalin altına düşmesi) ve hipokolesterolemik (kanda kolesterol düzeyinin normalin altına düşmesi) etkileri olduğu gösterilmiştir. Ayrı ayrı astaksantin ve balık yağı kullanımı ile karşılaştırıldığında, birlikte kullanımlarında aktif nötrofillerin fagositik aktivitesinin arttığı gözlenmiştir [61]. Çeşitli *in vitro* ve *in vivo* analizlerde, astaksantinün immün fonksiyonu önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir [62-64].

Farmakokinetik

Karotenoidler, sindirim sisteminde lipitler gibi emilir ve lenfatik sistem yoluyla karaciğere taşınırlar. Karotenoidlerin emilimi beraberindeki diyet bileşenlerine bağlıdır. Yüksek bir kolesterol diyeti, karotenoid emilimini arttırabilirken, düşük yağlı bir diyet ise emilimini azaltabilmektedir. Astaksantin, alımdan sonra safra asidiyle karışır ve barsakta misel formu oluştururlar [6]. Bir misel, koloidal solüsyonda, amfifilik moleküllerin kendiliğinden

birleşmesi sonucu meydana gelen üç boyutlu küresel yapıdır [65]. “Kolloidal solüsyon; albumin gibi etki göstererek plazmanın korunmasını sağlayan, molekül ağırlığının yüksek olmasına bağlı olarak organizmada geç metabolize olan ve onkotik basıncı arttırarak ekstrasellüler ve intrasellüler kompartmandan intravasküler bölüme sıvı çekmesiyle plazma volümünü arttırıcı etki gösteren solüsyon olarak tanımlanmaktadır.” [66]

Astaksantin içeren miseller, intestinal mukozal hücreler tarafından kısmen emilir ve bu hücreler astaksantini “şilomikron” adı verilen yağ zerrecikleri ile birleştirir. Şilomikronlar, sistemik dolaşımdaki lenflere salındıktan sonra lipoprotein lipaz ile sindirilir ve dolaşımdaki kalıntıları karaciğer ve diğer dokular tarafından hızla atılır. Astaksantin, lipoproteinlerle asimile edilir ve dokulara taşınır. Doğal olarak bulunan karotenoidler arasında astaksantin; hücreleri, lipidleri ve membran lipoproteinlerini, oksidatif hasara karşı koruyabilen en iyi karotenoidlerden biri olduğu kabul edilir [6].

2.3.5. Astaksantin biyolojik aktiviteleri ve sağlığa faydaları

Antioksidan etkisi

Antioksidan, oksidasyonu inhibe edebilen moleküldür. Oksidatif hasar, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri tarafından başlatılır. Bu moleküller çok yüksek reaktiviteye sahiptir ve organizmalarda normal aerobik metabolizma tarafından üretilir. Yüksek oksidatif aktiviteye sahip moleküller, protein ve lipid oksidasyonuna ve çeşitli bozukluklarla ilişkili DNA hasarına neden olabilirler. Bu etkiyi zincir reaksiyonu yoluyla proteinler, lipitler ve DNA ile reaksiyona girerek gerçekleştirirler. Oksidatif moleküller, karotenoidler gibi endojen ve eksojen antioksidanlar tarafından inhibe edilebilir. Karotenoidler, uzun konjuge çift bağlı polen zinciri içerir. Bu zincir, reaksiyonları sonlandırmak için O₂ (singlet oksijen, dioksijen) ve radikalleri etkisiz hale getirerek antioksidan aktiviteler gerçekleştirilmesini sağlar [6, 60, 67]. Astaksantin; lutein, likopen, α-karoten ve β-karoten gibi çeşitli karotenoidlere kıyasla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir [68].

Astaksantin verilen ratların plazma ve karaciğerlerinde, katalaz, süperoksit dismutaz, peroksidaz ve tiobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) gibi antioksidan enzimler yüksek seviyelerde görülmektedir [62]. Astaksantin, her bir iyonon halkası üzerinde bulunan hidroksil ve keto grupları vasıtasıyla yüksek antioksidan özellik göstermektedir [69].

Anti-lipid peroksidasyon aktivitesi

Astaksantin, hücre zarının hem hidrofobik iç bölümüne hem de zarın iç ve dış tabakalarını oluşturan hidrofilik bölümlerine bağlanmasını sağlayan özgün bir moleküler yapıya sahiptir. Astaksantin, hücre zarının lipid çift katmanı boyunca uzanır. β -karoten ve C vitamininden daha iyi bağlanma gösterir (Şekil 9). Çeşitli mekanizmalar yoluyla, oksidatif hasara karşı koruma görevi görür:

- O_2 molekülü ve radikalleri etkisiz hale getirir.
- Lipid peroksidasyonunu inhibe ederek membran yapısını korur.
- Bağışıklık sistemi fonksiyonunun arttırılması ve gen ekspresyonunun düzenler.

Astaksantin ve esterleri, etanol kaynaklı gastrik ülser modeli oluşturulan ratlarda ve farklı bir çalışmada cilt kanseri modeli oluşturulan ratlarda %80 anti-lipid peroksidasyon aktivitesi göstermiştir [63, 70]. Yapılan çift kör, randomize, kontrollü bir klinik çalışmada; lipid peroksidasyon belirteçleri olan 12- ve 15- hidroksi yağ asitlerinin, 3 ay boyunca günde 8mg astaksantin alan grupta, plasebo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir [71].

Anti-inflamasyon etkisi

Astaksantin, biyolojik sistemlerde inflamasyonun indüksiyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır. Astaksantin genç sağlıklı yetişkin kadınlarda, DNA hasar biyobelirtecini (*DNA damage biomarker*) ve akut faz proteinini azalttığı, bağışıklık tepkisini de artırdığı belirtilmiştir [72]. Ratlarda yapılan bir çalışmada, etanol ile oluşturulan akut mide ülserlerinde gastroprotektif etkileri olduğu ve bu etkilerin hidrojen potasyum ATPaz (mide asiditesini sağlayan enzim) inhibisyonuna, müsin içeriğinin yükselmesine ve antioksidan aktivitedeki artışa bağlı olabileceği belirtilmiştir [70].

Anti-diyabetik etkisi

Diabetes mellitus hastalarında genel olarak oksidatif stres seviyeleri yüksektir. Bu durum, pankreas β -hücrelerinin işlev bozukluğuna ve ortaya çıkan doku hasarına bağlı olarak gelişen hiperglisemi tarafından tetiklenir. Diyabetik farelerde, astaksantin pankreas β -hücrelerinde hipergliseminin neden olduğu oksidatif stresi azalttığı, glukoz ve serum insülin seviyelerini iyileştirdiği gösterilmiştir [73]. Astaksantin, lipid-protein oksidasyonunu

önleyerek, insan umbilikal ven endotel hücrelerinde glikasyonu ve protein glikasyonu kaynaklı sitotoksiteyi inhibe ettiği belirtilmiştir [74]. Farklı hayvan çalışmalarında astaksantin, insülin duyarlılığını artırdığı [75-77], idrar albümin seviyesini düşürdüğü [73], oksidatif stres ve renal hücre hasarını azaltarak diyabetik nefropatiyi önlediği sonuçlarına ulaşılmıştır [78-80].

Kardiyovasküler hastalıklar üzerine koruyucu etkisi

Oksidatif stres ve inflamasyon, aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın patofizyolojik özelliklerindendir. Anti-inflamatuar ve güçlü antioksidan etkilere sahip olduğu için astaksantin, aterosklerotik kardiyovasküler hastalığa karşı potansiyel terapötik bir ajan olabileceği belirtilmiştir [81]. Rat ve tavşan çalışmalarında disodyum disüksinat astaksantin, miyokart enfarktüs alanını küçülttüğü saptanmıştır [82, 83]. Hipertansif ratlarda astaksantinden zengin diyetin kan basıncını azalttığı ve kardiyovasküler parametreleri geliştirdiği ifade edilmiştir [84].

Anti-kanser etkisi

Normal aerobik metabolizmada; süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri üretilir. Tekli oksijen fotokimyasal olaylarla üretilirken, peroksil radikalleri lipid peroksidasyonu ile üretilir. Bu oksidanlar, DNA, protein ve lipidlerin oksidasyonu yoluyla yaşlanmaya ve kanser, ateroskleroz gibi dejeneratif hastalıkların gelişimine katkıda bulunurlar. Antioksidan bileşikler, hücrelere oksidatif hasarı engelleyerek mutajenezi ve karsinogenezi azaltır [6]. İnsan tümörlerinde *gap-junction* yoluyla hücre-hücre iletişimi eksiktir ve bu durumun restorasyonu tümöral hücre çoğalmasını azaltma eğilimindedir. Doğal karotenoidler, hücreler arası iletişimi artıran etkiye sahiptirler. Astaksantin ve astaksantin türevlerinin, *gap-junction* yoluyla hücre-hücre iletişimini artırdığı ve astaksantin, β -karoten gibi diğer karotenoidlerle karşılaştırıldığında anlamlı antitümör aktivite gösterdiği belirtilmiştir [85-87]. Astaksantin anti-tümoral etkilerini gösteren farklı çalışmalar yapılmıştır [88-90].

İmmunomodülasyon

İmmün sistem hücreleri serbest radikal hasarına karşı hassastır. Hücre zarı, çoklu doymamış yağ asitleri içerir. Astaksantin, yüksek antioksidan etkisi sayesinde bağışıklık sistemini

serbest radikal hasarına karşı korur. β -karoten ile karşılaştırıldığında, daha yüksek immüno modüle edici etkilere sahiptir [91]. İnsanlarda 8 haftalık astaksantin takviyesi, virüslerle enfekte olan hücreleri hedef alıp yok eden doğal öldürücü hücrelerin (*natural killer cells*) aktivitesini artırmaktadır [72]. Farklı çalışmalar ile astaksantin, T ve B hücrelerinin sayısını arttırdığı, DNA hasarını azalttığı ve C-reaktif protein seviyesini düşürdüğü sonuçlarına ulaşılmıştır [85, 92, 93].

2.3.6. Güvenlik ve astaksantin dozları

Astaksantin, gıdayla birlikte tüketildiğinde yan etkisi olmadığı ve güvenli olduğu belirtilmiştir. Aşırı astaksantin tüketimi, hayvanlarda cildin sarı ile kırmızımsı pigmentasyonuna neden olmaktadır [6]. Astaksantin ile beslenen ratların gözlerinde astaksantin birikimi gözlemlenmiştir [94]. Astaksantin supratrapötik konsantrasyonları, trombosit, pıhtılaşma ve fibrinolitik fonksiyon üzerinde olumsuz bir etki göstermemiştir [95]. Bugüne kadar hayvanlarda ve insanlarda astaksantin tüketiminin önemli bir yan etkisi bulunmamıştır [6].

Astaksantin önerilen dozu günde 2-4mg'dır. Astaksantin, chia tohumu, keten tohumu, balık, ceviz ve badem gibi omega-3 bakımından zengin gıdalarla birlikte verilmesi tavsiye edilmektedir. Erişkin insan deneklerde günde 6mg astaksantin uygulanmasında hiçbir olumsuz etki bulunmadığı belirtilmiştir [96, 97].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.'nin, Kobay Deney Hayvanları A.Ş. Yerel Etik Kurulu'nun, 15.01.2018 tarih ve 259 onay numaralı izni alınarak başlanmıştır. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne doktora tez projesi olarak sunulmuş ve 03/2018-09 onay kodu ile destek alınmıştır.

Çalışmanın deney aşamaları; Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, biyokimyasal analizleri; Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda, histopatolojik analizleri ise; Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır.

3.1. Deney Protokolü

3.1.1. Deney hayvanları

Deneylerde Kobay Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 180-200g ağırlığında Wistar albino dişi sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar, ortama adapte olabilmeleri için deneye başlamadan önce laboratuvar şartlarında bir hafta bekletilmiştir. Bu bekleme süresince hayvanlar, 21-24°C'deki oda sıcaklığında, %40-45 nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması yapılan laboratuvarında standart pellet yem ve su ile beslenmiştir. Deneylerde her grupta 6 hayvan kullanılmıştır.

3.1.2. Test numunelerinin hazırlanması

Biyolojik aktivite deney modelinde, test numuneleri (astaksantin) %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi içerisinde, gerekli durumlarda ultrasonik banyo yardımıyla süspanse edilerek deney hayvanlarına özel mide gavajı vasıtasıyla oral yolla 5mg/kg ve 25mg/kg olacak şekilde iki farklı dozda uygulanmıştır. Kontrol grubu hayvanlarına ise sadece test numunelerinin hazırlanmasında kullanılan %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi, mide gavajı vasıtasıyla oral yolla verilmiştir. Deney süresi tüm gruplar için 4 hafta olarak belirlenmiştir.

3.1.3. Referans madde

Referans madde olarak kullanılan raloksifen, deney süresi boyunca sıçanlara 10mg/kg dozda mide gavajı vasıtasıyla oral yolla uygulanmıştır.

3.1.4. Deney grupları

Toplamda 60 adet Wistar albino dişi sıçan, her grupta 6 hayvan olacak şekilde 10 gruba ayrılmıştır.

1. Kontrol grubu [**K**]:

Bu gruptaki hayvanlara overektomi işlemi uygulanmamış ve kemik defekti oluşturulmamıştır. Deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi, mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

2. Osteoporoz grubu [**O**]:

Bu gruptaki hayvanlara overektomi işlemi uygulanmış ancak kemik defekti oluşturulmamıştır. Hayvanlar, overektomi işlemini takip eden 2 ay boyunca standart laboratuvar koşullarında osteoporoz modeli oluşması için beklemiştir. 2 aylık sürenin sonundan itibaren 4 haftalık deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi, mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

3. Defekt + Kontrol grubu [**DK**]:

Bu gruptaki hayvanlara overektomi işlemi uygulanmadan kemik defekti oluşturulmuştur. Deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi, mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

4. Defekt + Astaksantin (5mg/kg) grubu [**DA5**]:

Bu gruptaki hayvanlara overektomi işlemi uygulanmadan kemik defekti oluşturulmuştur. Deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi içerisinde 5mg/kg astaksantin mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

5. Defekt + Astaksantin (25mg/kg) grubu [**DA25**]:

Bu gruptaki hayvanlara overektomi işlemi uygulanmadan kemik defekti oluşturulmuştur. Deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi içerisinde 25mg/kg astaksantin mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

6. Defekt + Raloksifen grubu [**DR**]:

Bu gruptaki hayvanlara overektomi işlemi uygulanmadan kemik defekti oluşturulmuştur. Deney süresi boyunca her gün 10mg/kg raloksifen mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

7. Osteoporoz + Defekt grubu [**OD**]:

Bu gruptaki hayvanlar, overektomi işlemi uygulandıktan sonra 2 ay boyunca standart laboratuvar koşullarında osteoporoz modeli oluşması için beklemiştir. 2 aylık sürenin sonunda kemik defekti oluşturulmuştur. Takip eden 4 haftalık deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi, mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

8. Osteoporoz + Defekt + Astaksantin (5mg/kg) grubu [**ODA5**]:

Bu gruptaki hayvanlar, overektomi işlemi uygulandıktan sonra 2 ay boyunca standart laboratuvar koşullarında osteoporoz modeli oluşması için beklemiştir. 2 aylık sürenin sonunda kemik defekti oluşturulmuştur. Takip eden 4 haftalık deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi içerisinde 5mg/kg astaksantin mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

9. Osteoporoz + Defekt + Astaksantin (25mg/kg) grubu [**ODA25**]:

Bu gruptaki hayvanlar, overektomi işlemi uygulandıktan sonra 2 ay boyunca standart laboratuvar koşullarında osteoporoz modeli oluşması için beklemiştir. 2 aylık sürenin sonunda kemik defekti oluşturulmuştur. Takip eden 4 haftalık deney süresi boyunca her gün %1'lik sodyum Tween 80 çözeltisi içerisinde 25mg/kg astaksantin mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

10. Osteoporoz + Defekt + Raloksifen grubu [ODR]:

Bu gruptaki hayvanlar, overektomi işlemi uygulandıktan sonra 2 ay boyunca standart laboratuvar koşullarında osteoporoz modeli oluşması için beklemiştir. 2 aylık sürenin sonunda kemik defekti oluşturulmuştur. Takip eden 4 haftalık deney süresi boyunca her gün 10mg/kg raloksifen mide gavajı yoluyla uygulanmıştır ve 4 haftanın sonunda hayvanlar, intrakardiyak kan alımı ile kurban edilmiştir.

Çalışmada overektomi uygulanan gruplar (O, OD, ODA5, ODA25, ODR), işlemi takip eden 2 ay boyunca osteoporoz modeli oluşması için; 21-24°C'deki oda sıcaklığında, %40-45 nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması yapılan laboratuvarında standart pellet yem ve musluk suyu ile beslenerek beklemiştir. Overektomi uygulanmayan gruplardaki hayvanlar da (K, DK, DA5, DA25, DR), overektomi yapılan gruplardaki hayvanlarla aynı yaş döneminde olmaları amacıyla, deney aşamasına geçmeden önce aynı koşullarda 2 ay boyunca beklemiştir.

Çizelge 3.1. Deney grupları ve uygulanan işlemler

GRUPLAR	OVEREKTOMİ	KEMİK DEFECTİ	TEDAVİ
K	-	-	-
O	+	-	-
DK	-	+	-
DA5	-	+	+
DA25	-	+	+
DR	-	+	+
OD	+	+	-
ODA5	+	+	+
ODA25	+	+	+
ODR	+	+	+

3.2. Cerrahi Protokol

3.2.1 Overektomi

Overektomi yapılacak olan sıçanlar, intraperitoneal (i.p.) yolla 0.05cc Ksilazin (%2'lik Alfazyne®) ve 0,15cc Ketamin (%10'luk Ketazol®) uygulaması ile anestezi altına alınmıştır.

Steril şartlar altında minimal travmatik işlem ile dorsal bölgede 10mm'lik çift taraflı deri insizyonu yapılmıştır. Dokuların ekartasyonunu takiben her iki overe ulaşarak vasküler yapılar klemplenip bağlanmış ve overler çıkarılmıştır. Kas tabakaları ve insize edilen dokular 4/0 rezorbe olabilen suture (Pegasorb®, Doğsan, Trabzon, Türkiye) primer olarak kapatılmıştır. Sıçanlara anesteziden çıkma sürecinde postoperatif antibiyotik ve analjezik uygulaması yapılmıştır. Overektomi işlemini takiben osteoporozun gelişmesi amacıyla sıçanlar 2 ay boyunca laboratuvar koşullarında standart pellet yem ve musluk suyu ile beslenerek bekletilmiştir.

3.2.2 Mandibuler defekt

Mandibuler defekt oluşturulacak olan sıçanlar, i.p. yolla 0.05cc Ksilazin (%2'lik Alfazyne®) ve 0,15cc Ketamin (%10'luk Ketazol®) uygulaması ile anestezi altına alınmıştır. Steril şartlar altında minimal travmatik işlem ile mandibula alt kenarına paralel deri insizyonu yapıp, kaslar diseke edilmiştir. Periost kaldırıldıktan sonra, angulus mandibula bölgesinde, serum fizyolojik soğutması altında 15000 devir/dakika hızda, *trefine* frezler kullanılarak 4mm çapında yuvarlak tam kalınlıkta kemik defekti oluşturulmuştur. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra dokular dikilerek kapatılmıştır. Sıçanlara anesteziden çıkma sürecinde postoperatif antibiyotik ve analjezik uygulaması yapılmıştır.

3.3. Bulguların Analizleri

3.3.1 İn vitro biyokimyasal analizler

Tedavi uygulanan gruplarda, kemik defekti oluşturulan gruplar için operasyon gününden itibaren 4 hafta boyunca günde 1 defa % 1'lik Tween 80 içerisinde çözülmüş 5 ve 25mg/kg dozlarda astaksantin ve referans madde grubuna 10mg/kg dozda raloksifen oral yolla uygulanmıştır. Deney süresinin sonunda sıçanlar, intrakardiyak kan alımı ile sakrifiye edilmiştir. Alınan kan örneklerinde serum kalsiyum, serum alkalin fosfataz ve serum osteokalsin seviyeleri incelenmiştir. Bu amaçla, kan örneklerinden 3000 devir/dakika hızda, 10 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. Serumlar 1,5mL'lik ependorf tüplere konularak ölçümler yapılncaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Serum kalsiyum ve serum alkalin fosfataz seviyeleri Dimension RL Max otoanalizör cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

Serum osteokalsin seviyesi ise Rat Osteocalcin ELISA Kit (Rapidbio Inc., Los Angeles, CA, USA) kullanılarak ölçülmüştür.

3.3.2 Histopatolojik analiz

Sakrifiye edilen sıçanların mandibulaları çıkartılıp, %10 formaldehit çözeltisi içinde dokular fikse edilerek histopatolojik inceleme için saklanmıştır. Histopatolojik incelemelerde, tüm dokuların tespiti *Thermo Scientific Excelsior* (ES) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Dokular, parafin içine gömülmüş ve Histocentre 2 cihazı kullanılarak bloklanmıştır. Bu bloklardan Leica RM2255 mikrotomu kullanılarak 3,5µm kalınlığında kesitler hazırlanmıştır. Tüm kesitler hematoksilin-eozin (HE) boyası ile Shandon Varistan cihazı kullanılarak boyanmıştır. Hem polarize ataşmanı hem de görüntüleri kaydetmek için dijital görüntü analiz sistem eklentisi olan Nikon Eclipse Ci ışık mikroskobu kullanarak inceleme yapılmıştır. Yeni kemik oluşum oranı ve yeni bağ doku oluşum oranı, histopatolojik skrolama yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.3.3 İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism 6.0 (San Diego, CA, USA) programı kullanılmıştır. Tüm parametrelerde ANOVA testi yapılmış ve ardından Dunnett testi uygulanmıştır.

Kontrol ve referans grubu ile karşılaştırılan deney sonuçlarındaki istatistiksel belirginlik aşağıdaki şekillerle ifade edilmiştir:

* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$

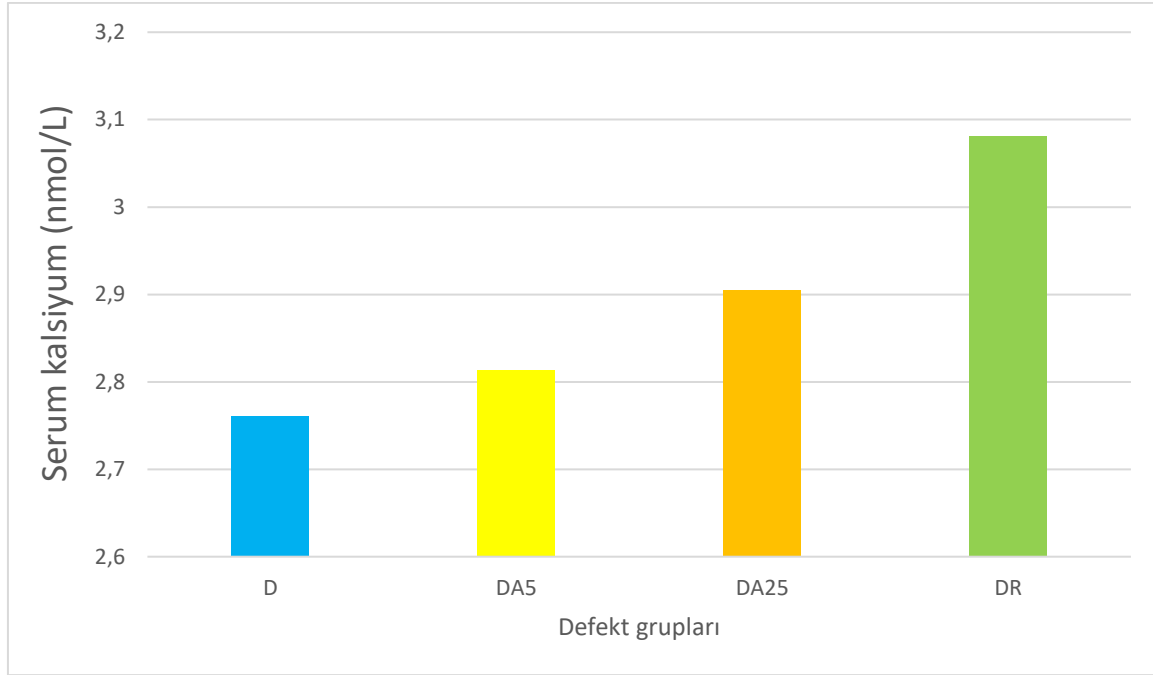
4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Bulgular

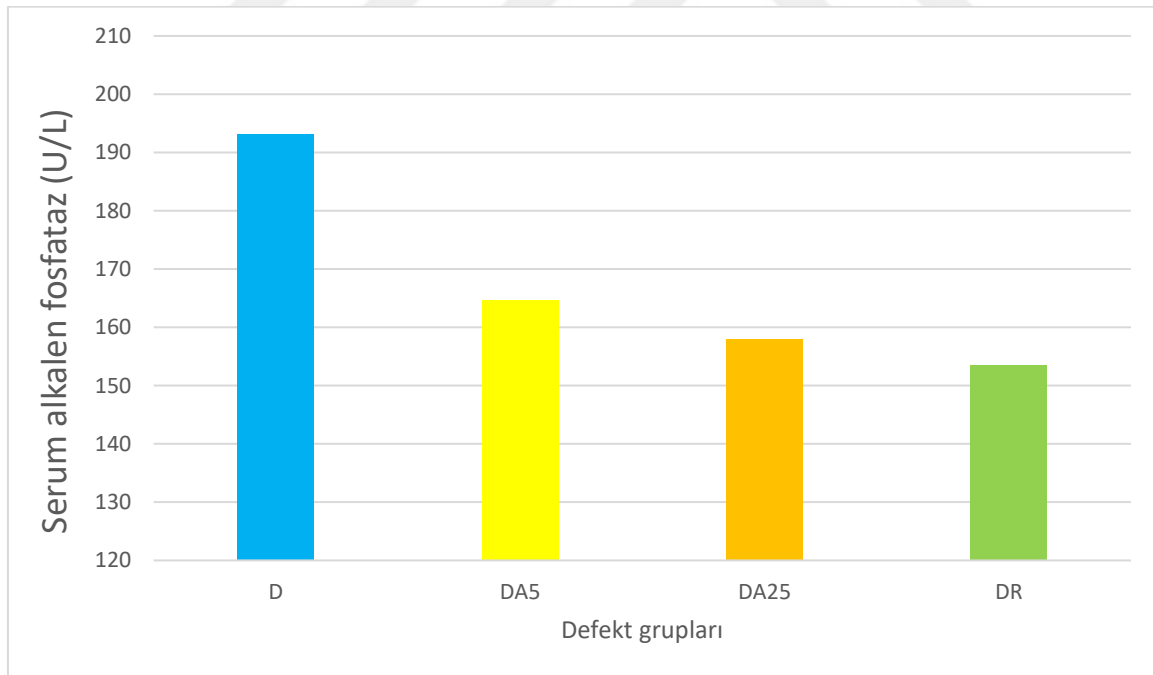
Tüm gruptaki ratlar, 4 haftalık çalışma süresinin ardından intrakardiyak kan alımı ile sakrifiye edilmiştir. Alınan kan örneklerinde serum kalsiyum, serum alkalen fosfataz ve serum osteokalsin seviyeleri incelenmiştir. Bu veriler Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Deney gruplarında serum kalsiyum, alkalen fosfataz ve osteokalsin değerleri

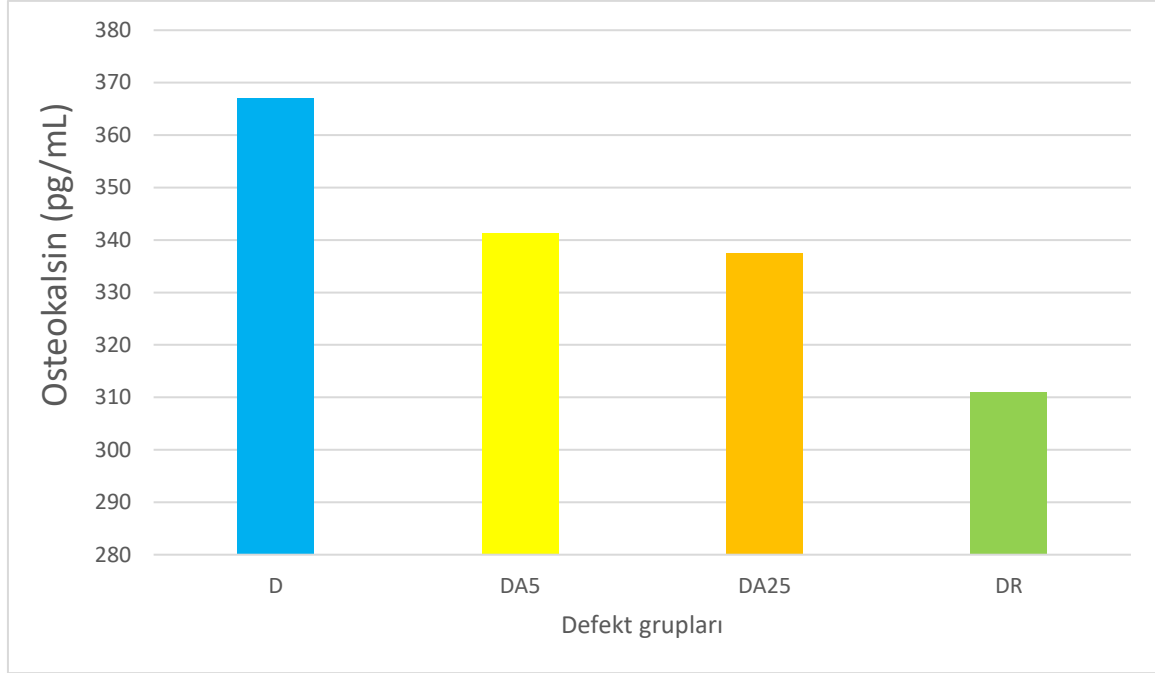
GRUPLAR	SERUM KALSİYUM (NMOL/L)	SERUM ALKALEN FOSFATAZ (U/L)	OSTEOKALSİN (PG/ML)
K	3.114 ± 0.571	158.9 ± 21.8	325.18 ± 14.10
O	2.305 ± 0.495	201.6 ± 19.3	385.18 ± 19.06
DK	2.761 ± 0.301	193.2 ± 17.4	367.05 ± 11.82
DA5	2.813 ± 0.417	164.7 ± 13.8	341.28 ± 11.82
DA25	2.905 ± 0.391*	158.0 ± 11.6*	337.51 ± 11.82*
DR	3.081 ± 0.312*	153.5 ± 17.1*	310.92 ± 11.82**
OD	2.106 ± 0.307	219.4 ± 25.8	403.36 ± 19.06
ODA5	2.284 ± 0.219	178.3 ± 14.1*	378.14 ± 19.06
ODA25	2.791 ± 0.283**	170.6 ± 10.3**	354.73 ± 19.06*
ODR	3.056 ± 0.252**	161.4 ± 9.7**	332.48 ± 19.06**



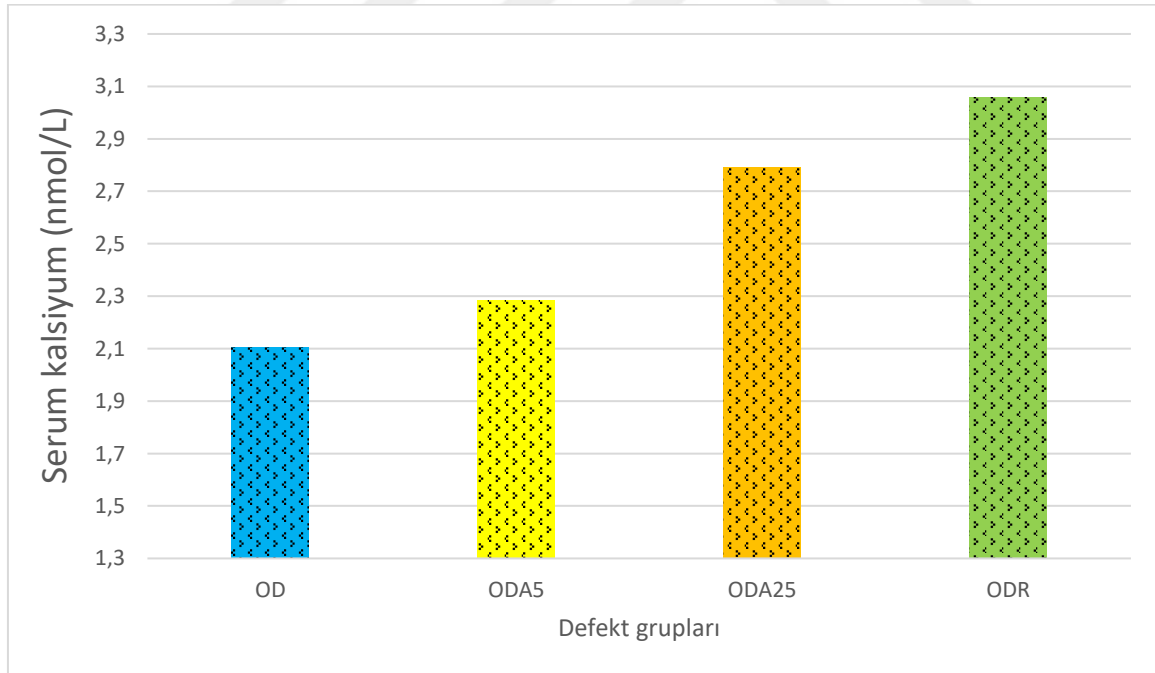
Şekil 4.1. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda serum kalsiyum (nmol/L) değerleri



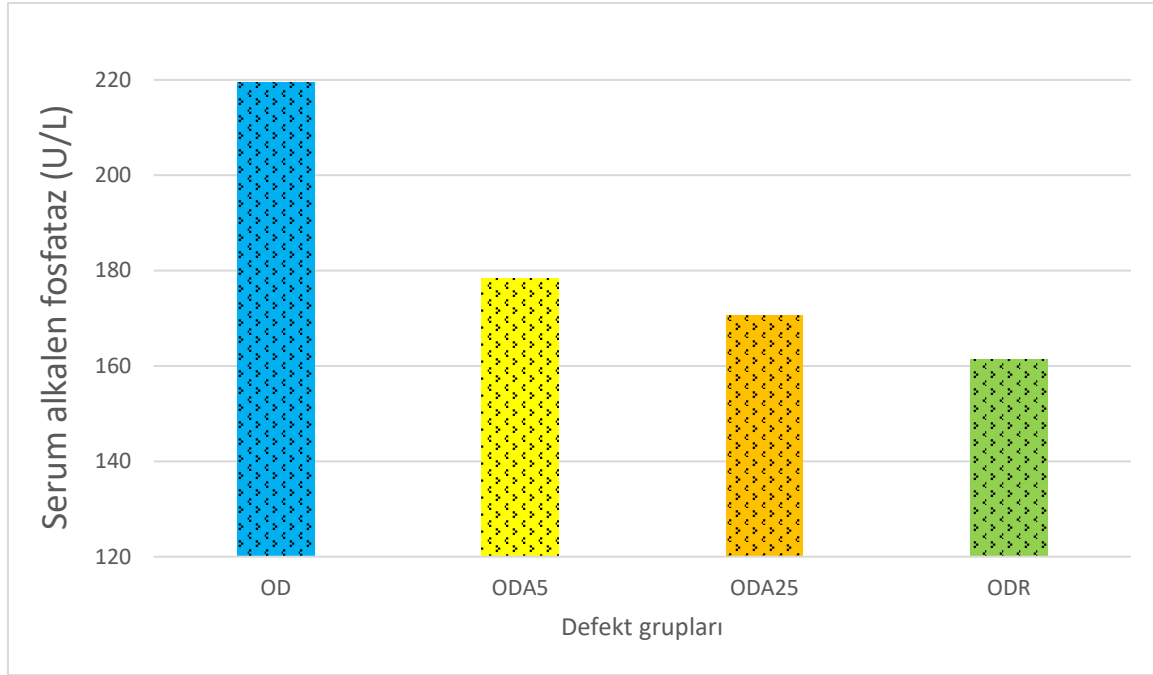
Şekil 4.2. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda serum alkaleen fosfataz (U/L) değerleri



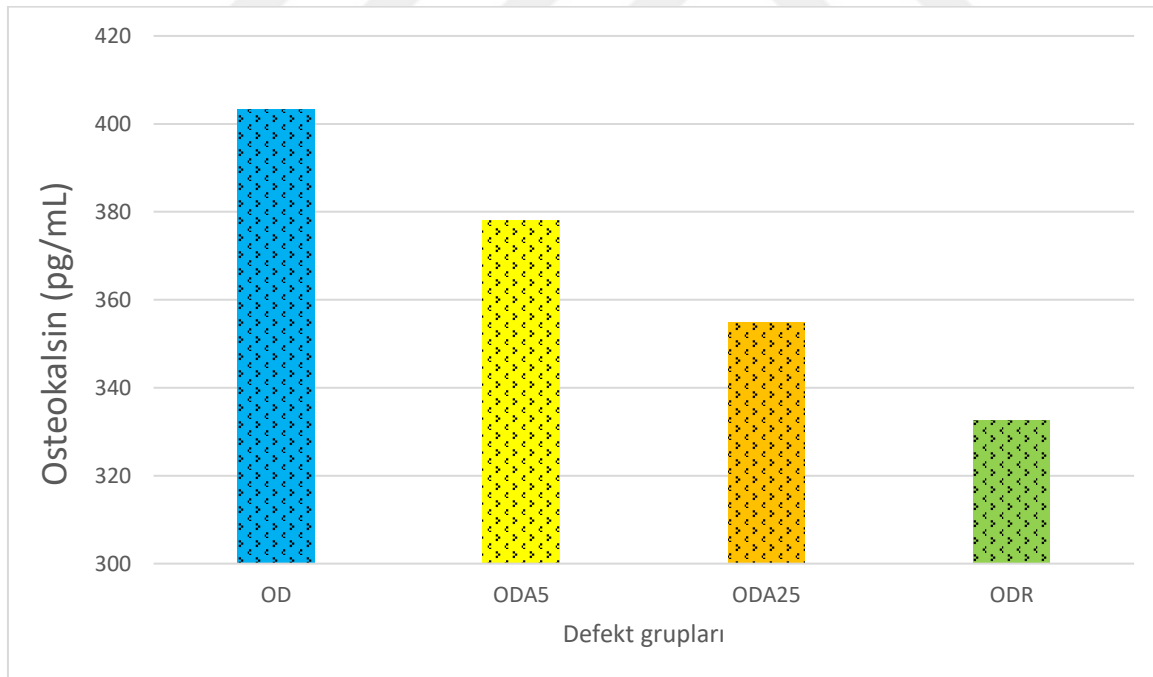
Şekil 4.3. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda osteokalsin (pg/mL) değerleri



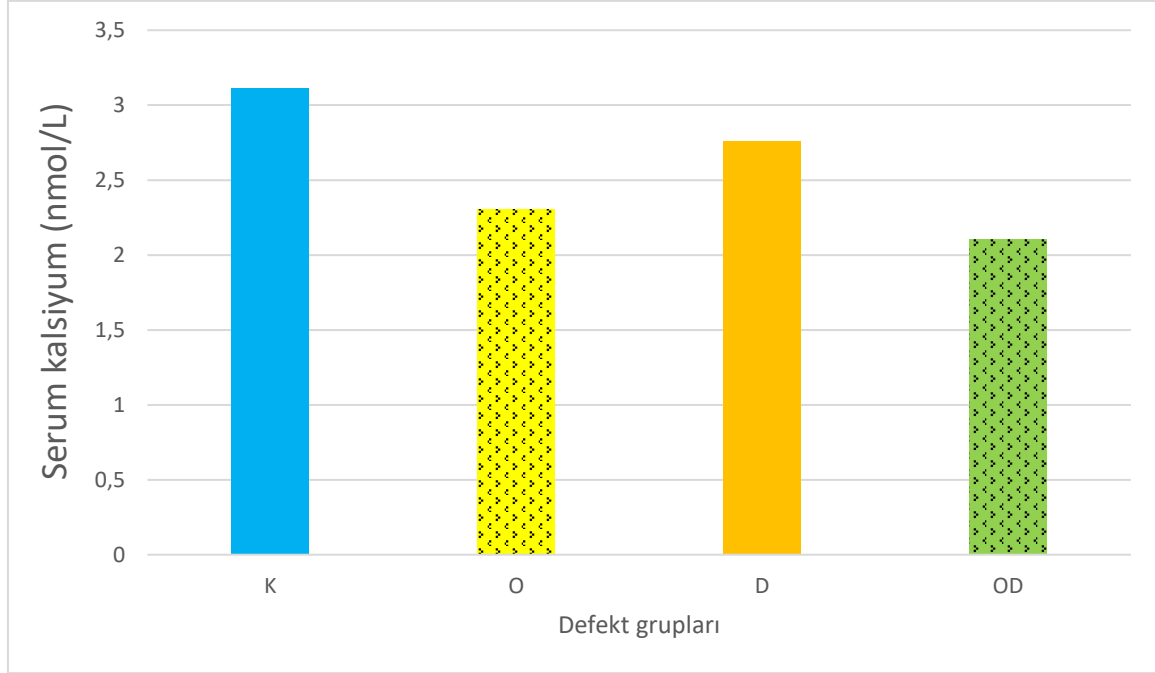
Şekil 4.4. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda serum kalsiyum (nmol/L) değerleri



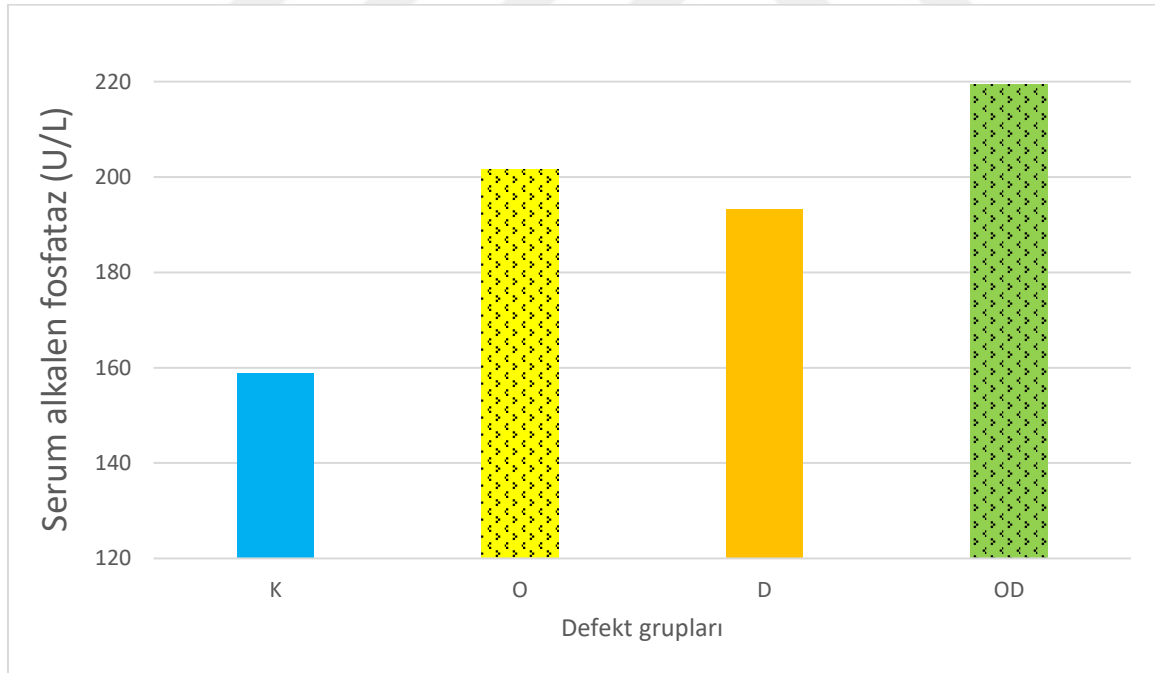
Şekil 4.5. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda serum alkalen fosfataz (U/L) değerleri



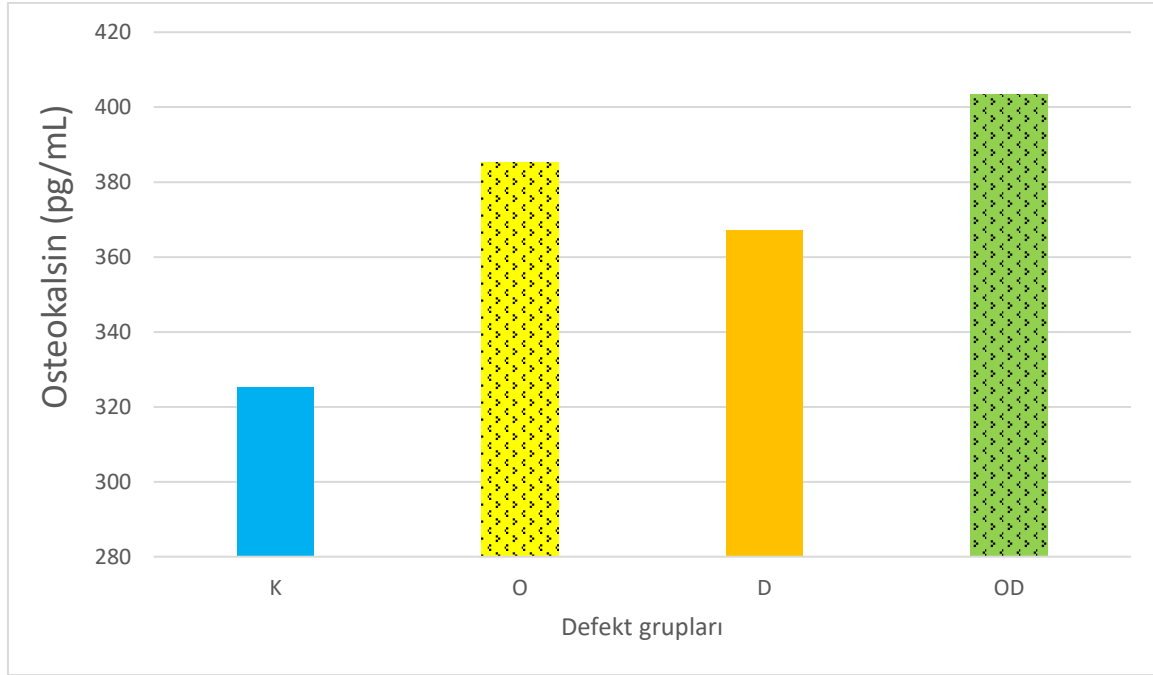
Şekil 4.6. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda osteokalsin (pg/mL) değerleri



Şekil 4.7. Kontrol, osteoporoz, defekt ve osteoporoz + defekt gruplarında serum kalsiyum (nmol/L) değerleri



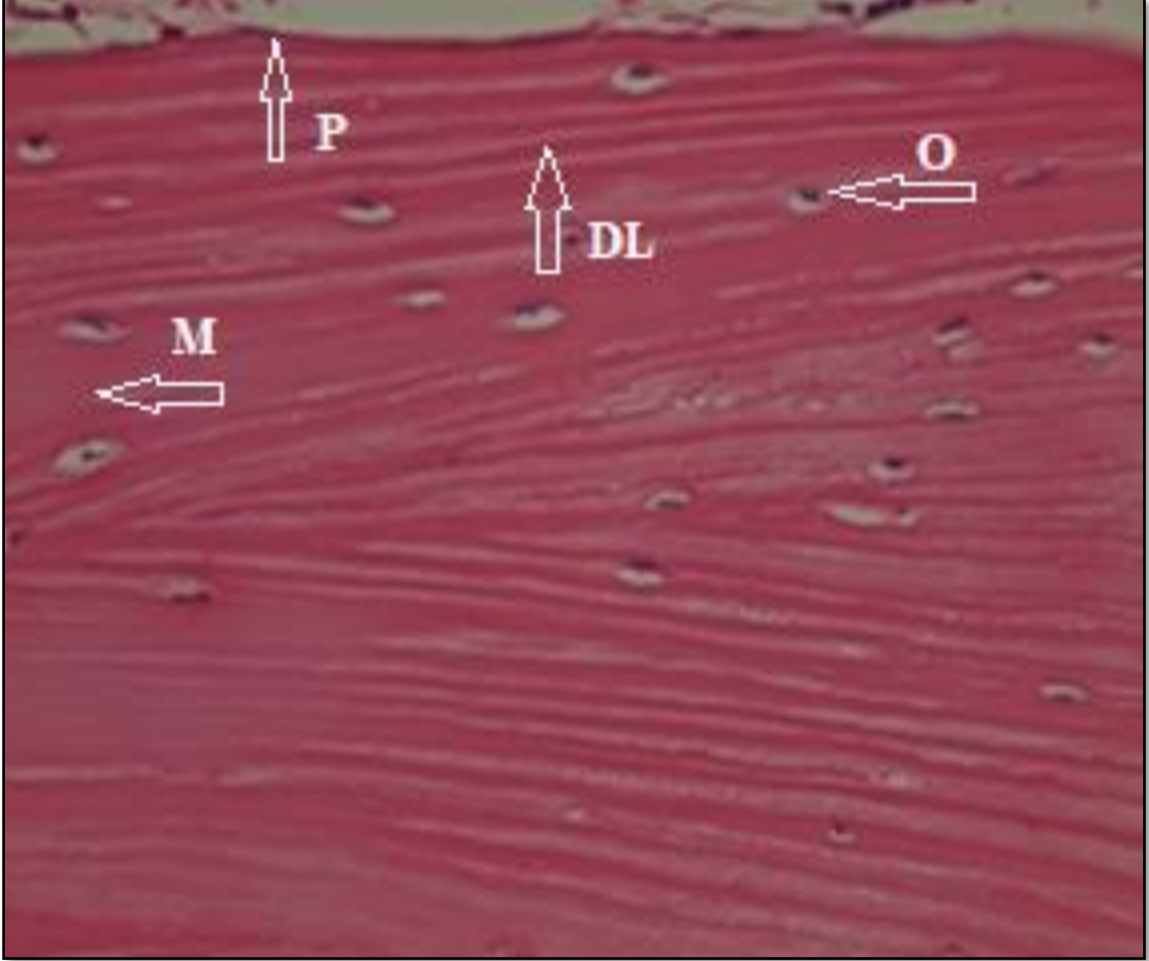
Şekil 4.8. Kontrol, osteoporoz, defekt ve osteoporoz + defekt gruplarında serum alkaleen fosfataz (U/L) değerleri



Şekil 4.9. Kontrol, osteoporoz, defekt ve osteoporoz + defekt gruplarında osteokalsin (pg/mL) değerleri

4.2 Histolojik Bulgular

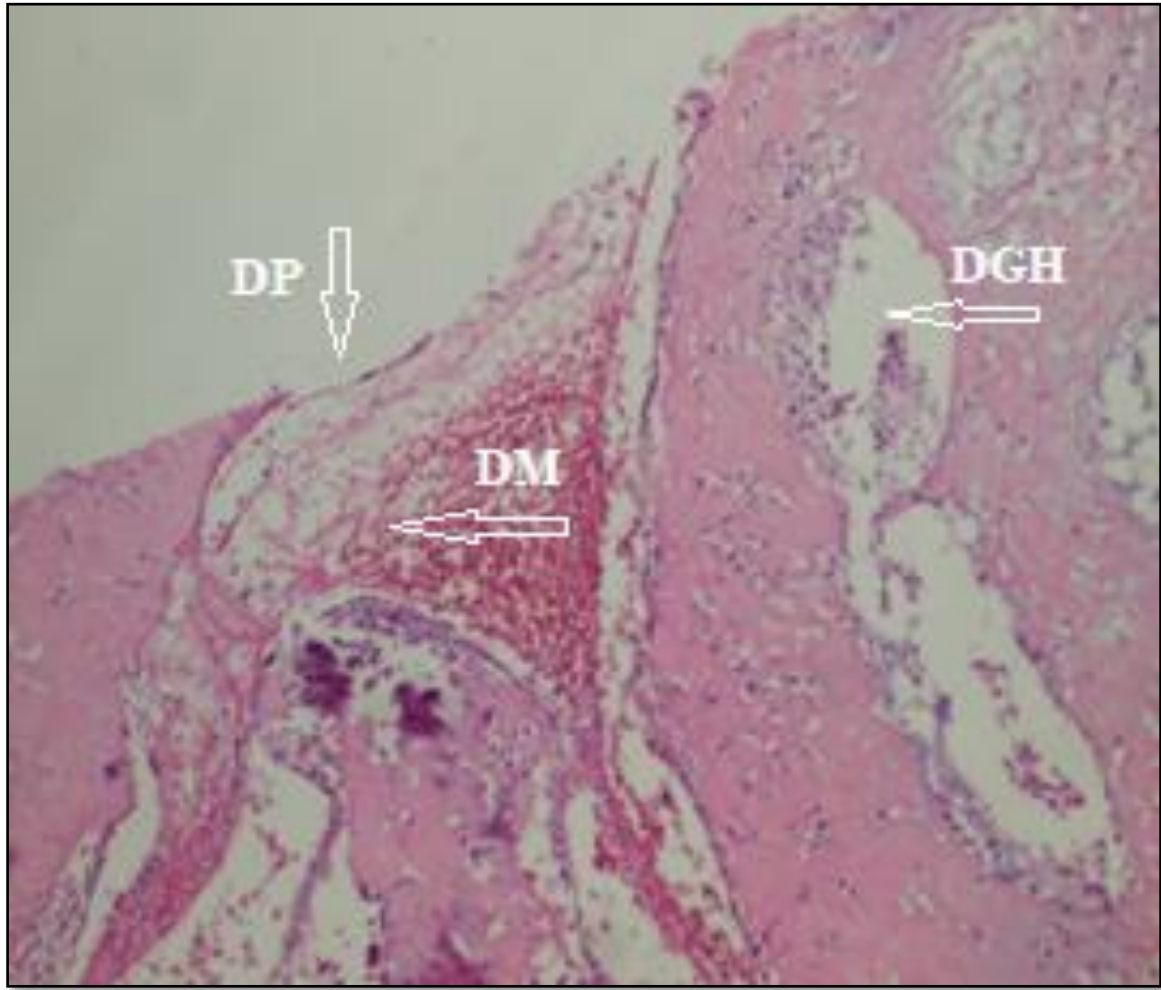
4.2.1. Kontrol grubu (K)



Resim 4.1. Kontrol grubuna ait kemik histopatolojisi (**DL**: Dış Halkasal Lameller, **M**: Matriks, **O**: Osteosit, **P**: Periosteum, orijinal büyütme 20x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Kontrol grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunu saran periosteum kılıfı, kemik hücreleri olan osteositler, kemik dokusunun çatısını oluşturan halkasal lamel ve kemik matriksinin normal yapıda olduğu tespit edilmiştir (Resim 4.1).

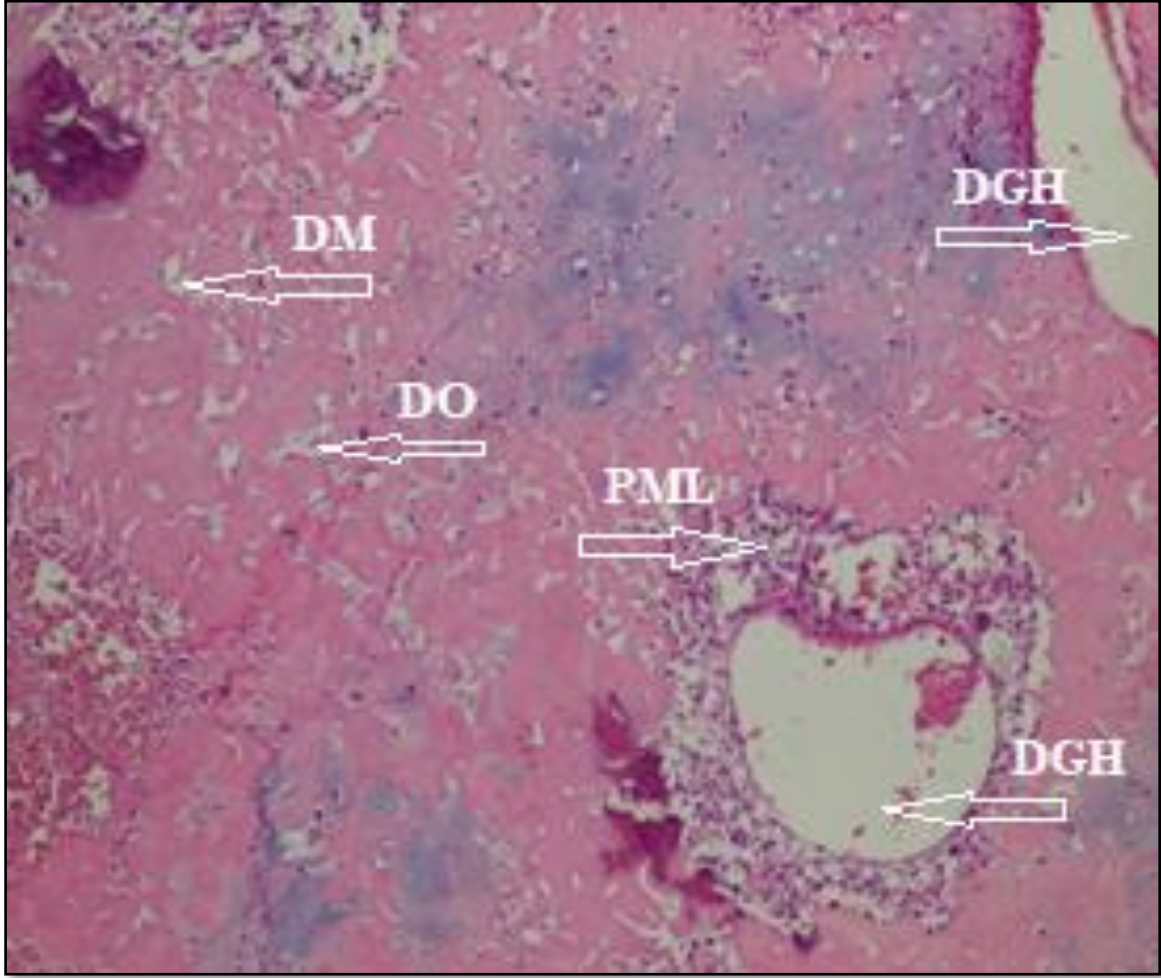
4.2.2. Osteoporoz grubu (O)



Resim 4.2. Osteoporoz grubuna ait kemik histopatolojisi (**DGH**: Dejenere genişlemiş havers kanalı, **DM**: Dejenere matriks, **DP**: Dejenere periosteum, orijinal büyütme 10x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Osteoporoz grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunu saran periosteum kılıfı ile kemik matriksinin dejenerasyona uğradığı, havers kanallarının da dejenerasyona uğrayarak genişlediği tespit edilmiştir (Resim 4.2).

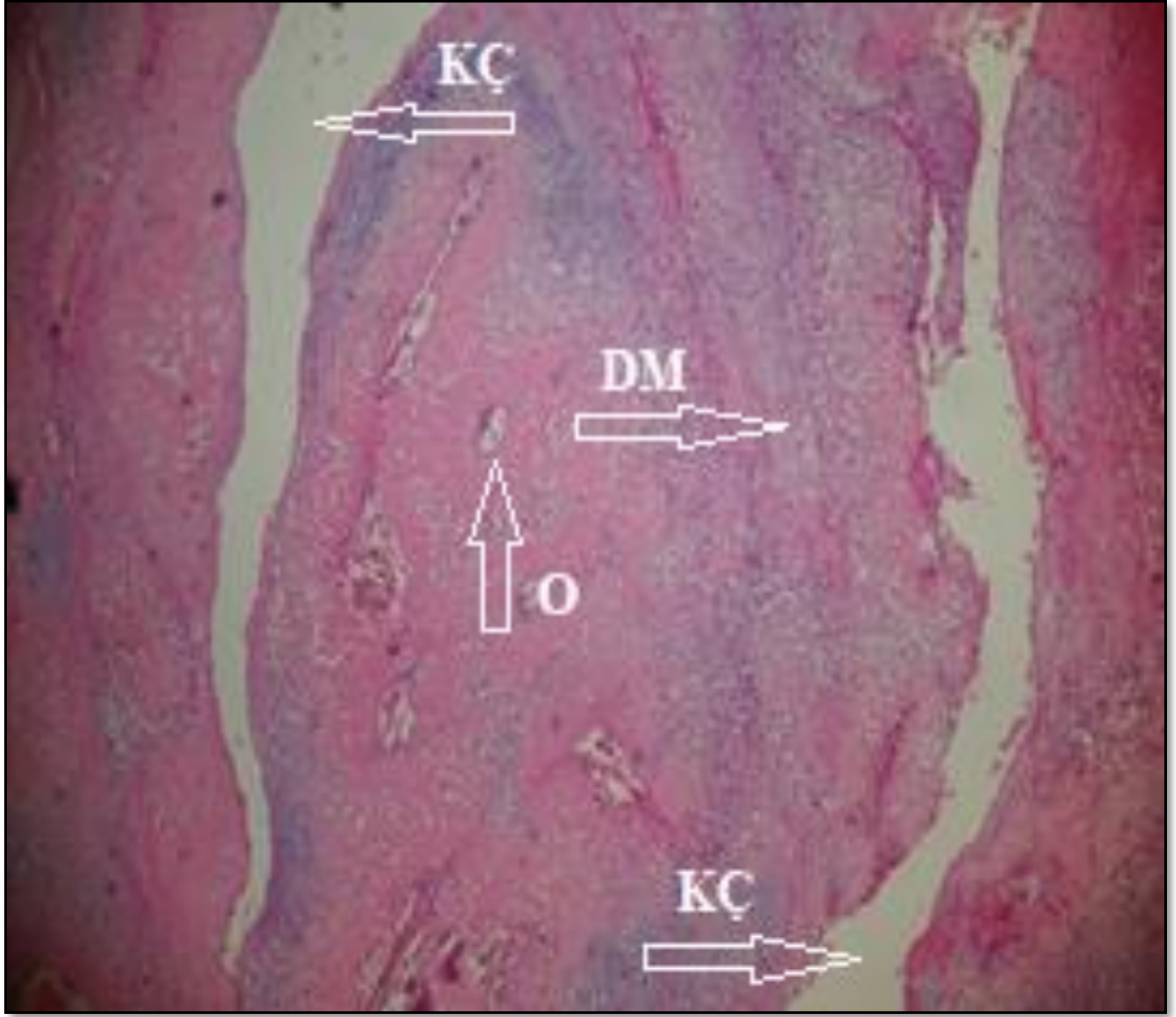
4.2.3. Defekt grubu (DK)



Resim 4.3. Defekt grubuna ait kemik histopatolojisi (**DGH**: Dejenere genişlemiş havers kanalı, **DO**: Dejeneratif osteosit, **DM**: Dejenere matriks, **PML**: Polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, orijinal büyütme 10x, ölçek birimi 200µm, hematoksil-eozin)

Defekt grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunu oluşturan havers kanallarının dejenerasyona uğrayarak genişlediği ve bu kanalların etrafında polimorfonükleer lökosit hücre infiltrasyonunun varlığı, kemik matriksinin dejenerasyona uğradığı ve dejeneratif osteosit oluşumu tespit edilmiştir (Resim 4.3).

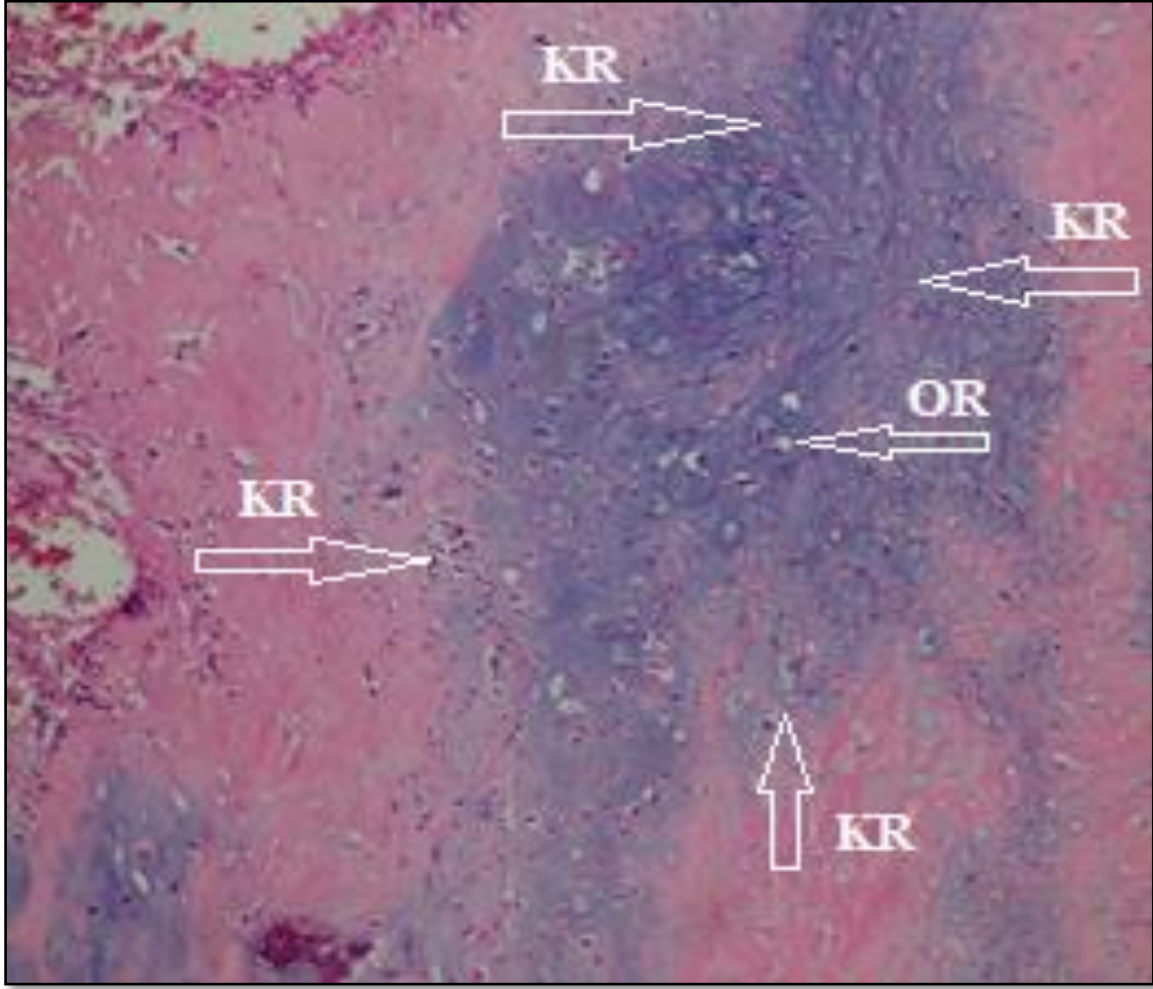
4.2.4. Defekt + astaksantin (5mg/kg) grubu (DA5)



Resim 4.4. Defekt + Astaksanthin (5mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi (**DM:** Dejenere matriks, **KÇ:** Kemik çatlağı, **O:** Osteosit, orijinal büyütme 10x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Defekt + Astaksanthin (5mg/kg) grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, normal osteosit hücrelerinin olduğu, kemik matriksinde dejenerasyonun varlığı ve yer yer kemik çatlaklarının oluştuğu tespit edilmiştir (Resim 4.4).

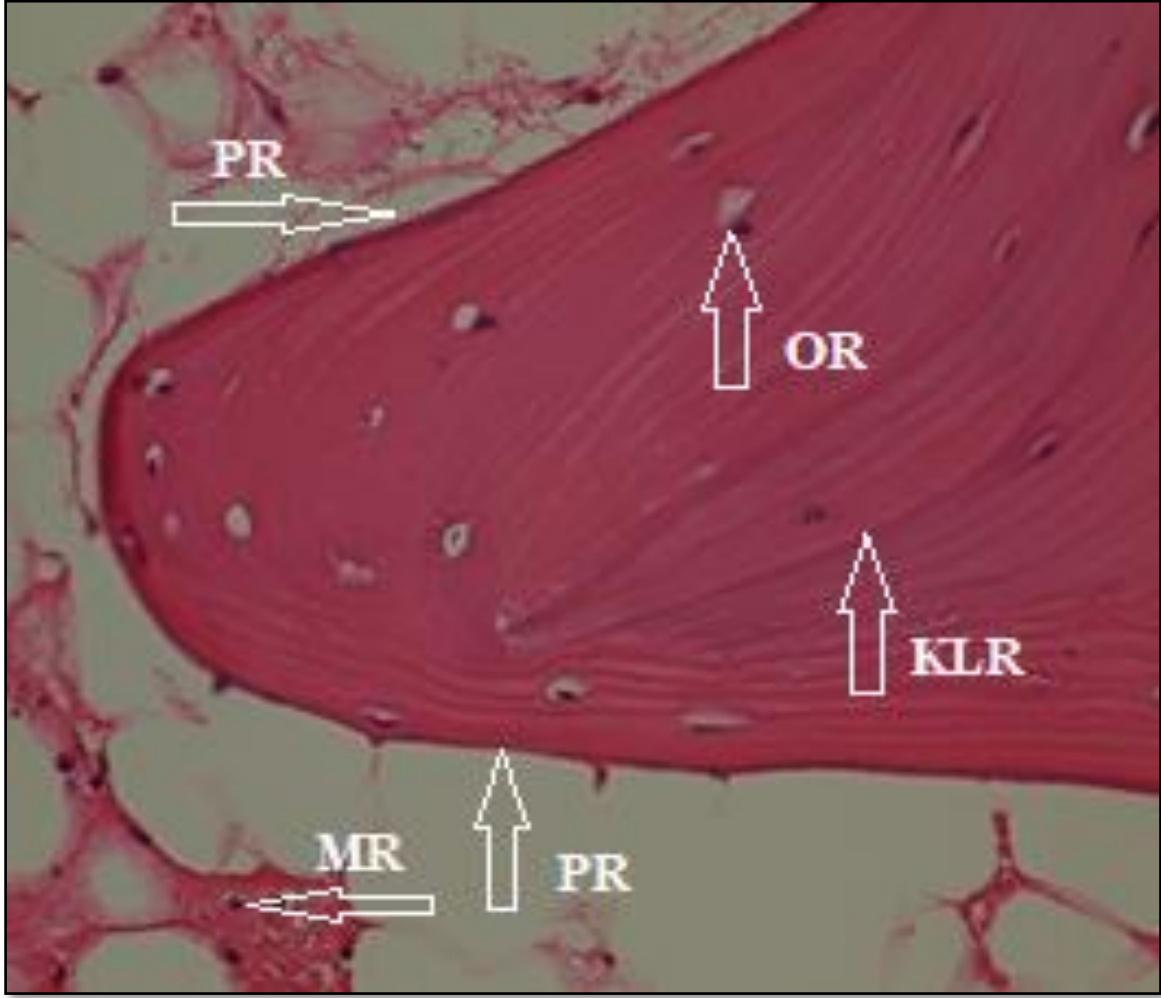
4.2.5. Defekt + astaksantin (25mg/kg) grubu (DA25)



Resim 4.5. Defekt + Astaksanthin (25mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi (**KR**: Kemik rejenerasyonu, **OR**: Osteosit rejenerasyonu, orijinal büyütme 10x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Defekt + Astaksanthin (25mg/kg) grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunda rejenerasyonun olduğu, buna bağlı olarak osteositlerde de rejenerasyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir (Resim 4.5).

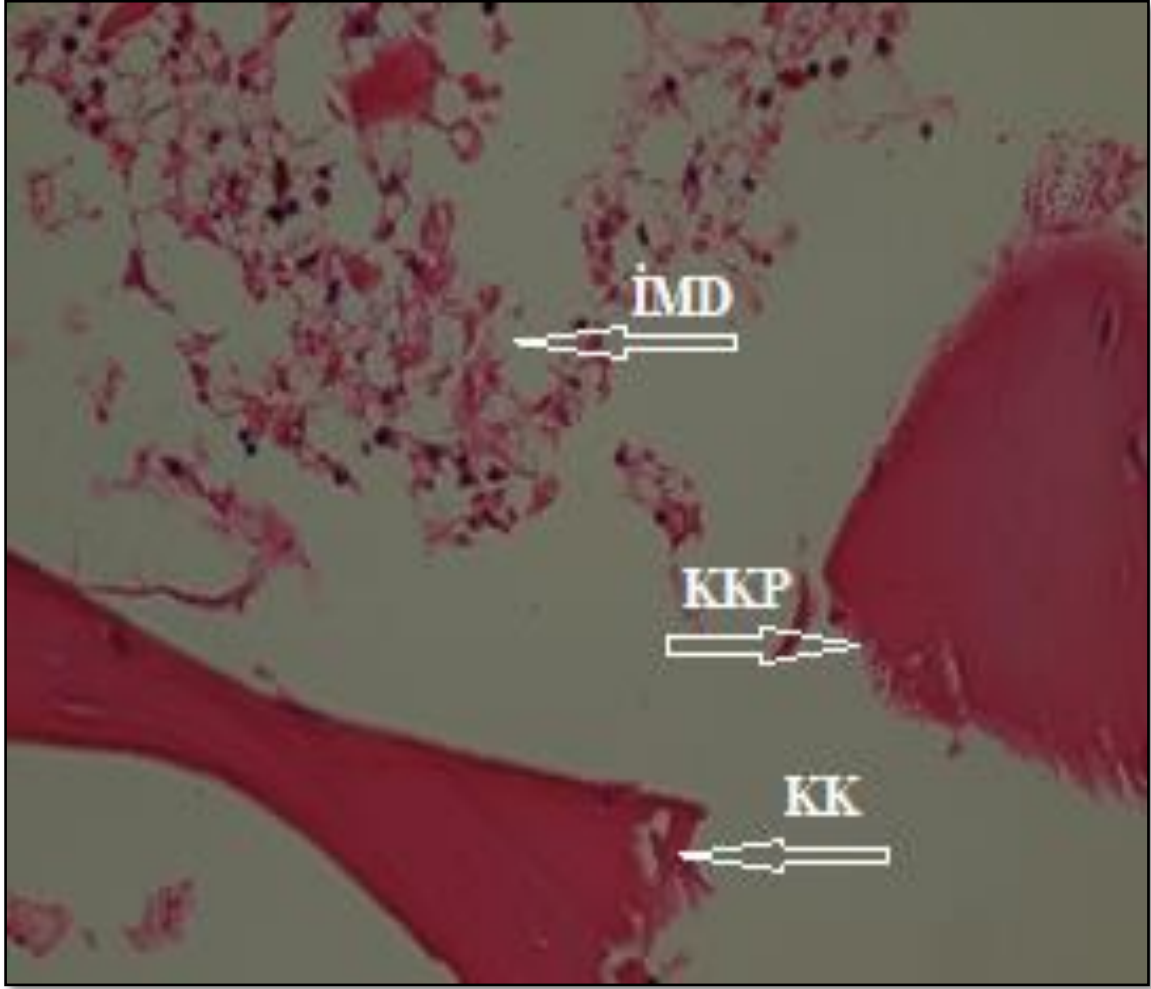
4.2.6. Defekt + raloksifen grubu (DR)



Resim 4.6. Defekt + Raloksifen grubuna ait kemik histopatolojisi (**KLR**: Kemik lamel rejenerasyonu, **MR**: Matris rejenerasyonu, **OR**: Osteosit rejenerasyonu, **PR**: Periosteum rejenerasyonu, orijinal büyütme 20x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Defekt + Raloksifen grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunun periosteum tabakasında rejenerasyon olduğu, havers kanalının temelini oluşturan kemik lamel rejenerasyonunun varlığı, kemik hücreleri olan osteositlerde rejenerasyon varlığı ve kemik matriksinde rejenerasyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir (Resim 4.6).

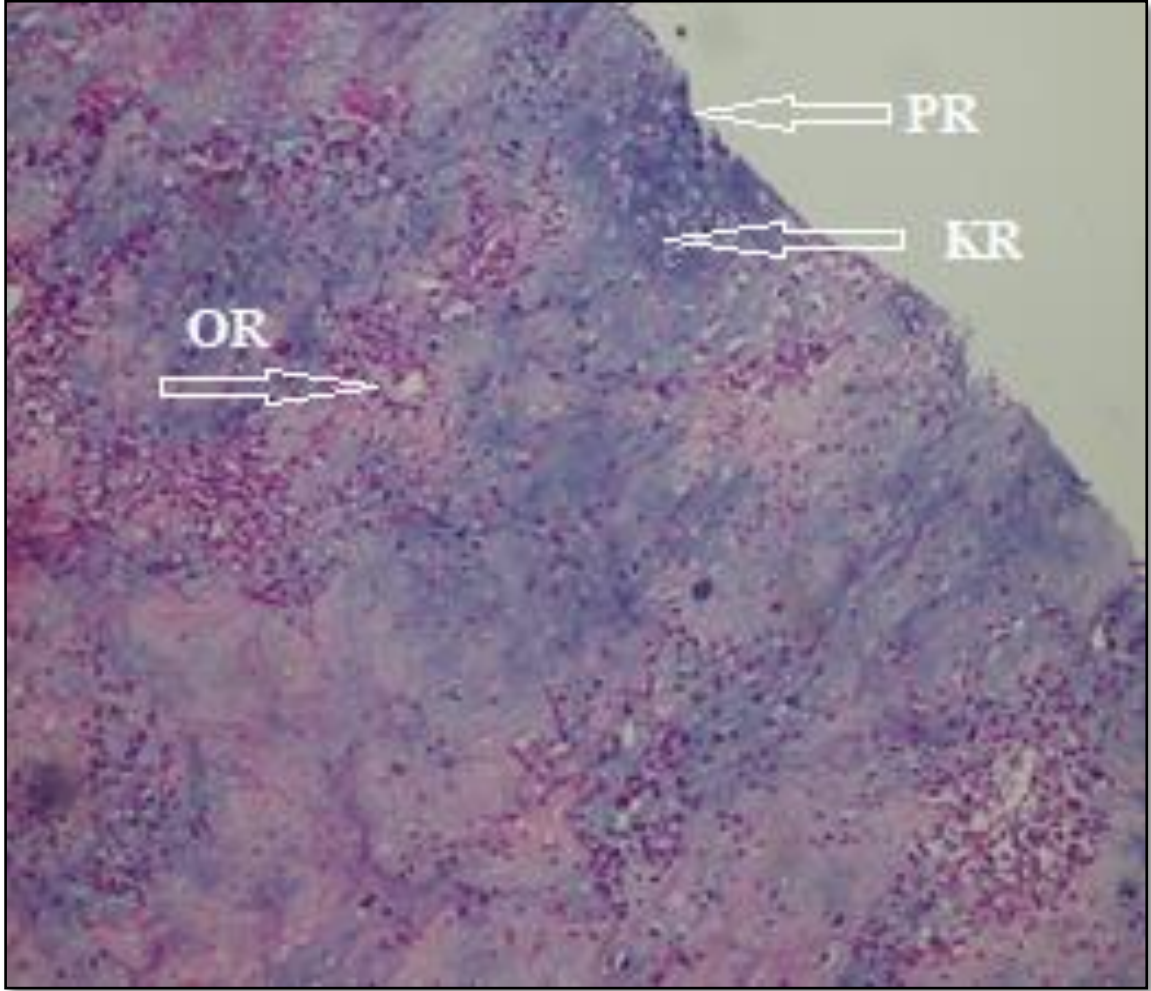
4.2.7. Osteoporoz + defekt grubu (OD)



Resim 4.7. Osteoporoz + Defekt grubuna ait kemik histopatolojisi (**İMD**: İleri düzey matriks dejenerasyonu, **KK**: Kemik kırığı, **KKP**, Kırılmış kemik parçası, orijinal büyütme 20x, ölçek birimi 200µm, hematoksilin-eozin)

Osteoporoz + Defekt grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunda kırılmaların meydana geldiği, buna bağlı olarak kemik parçalarının oluştuğu, kemik dokusu matriksinde ileri düzeyde dejenerasyon meydana geldiği tespit edilmiştir (Resim 4.7).

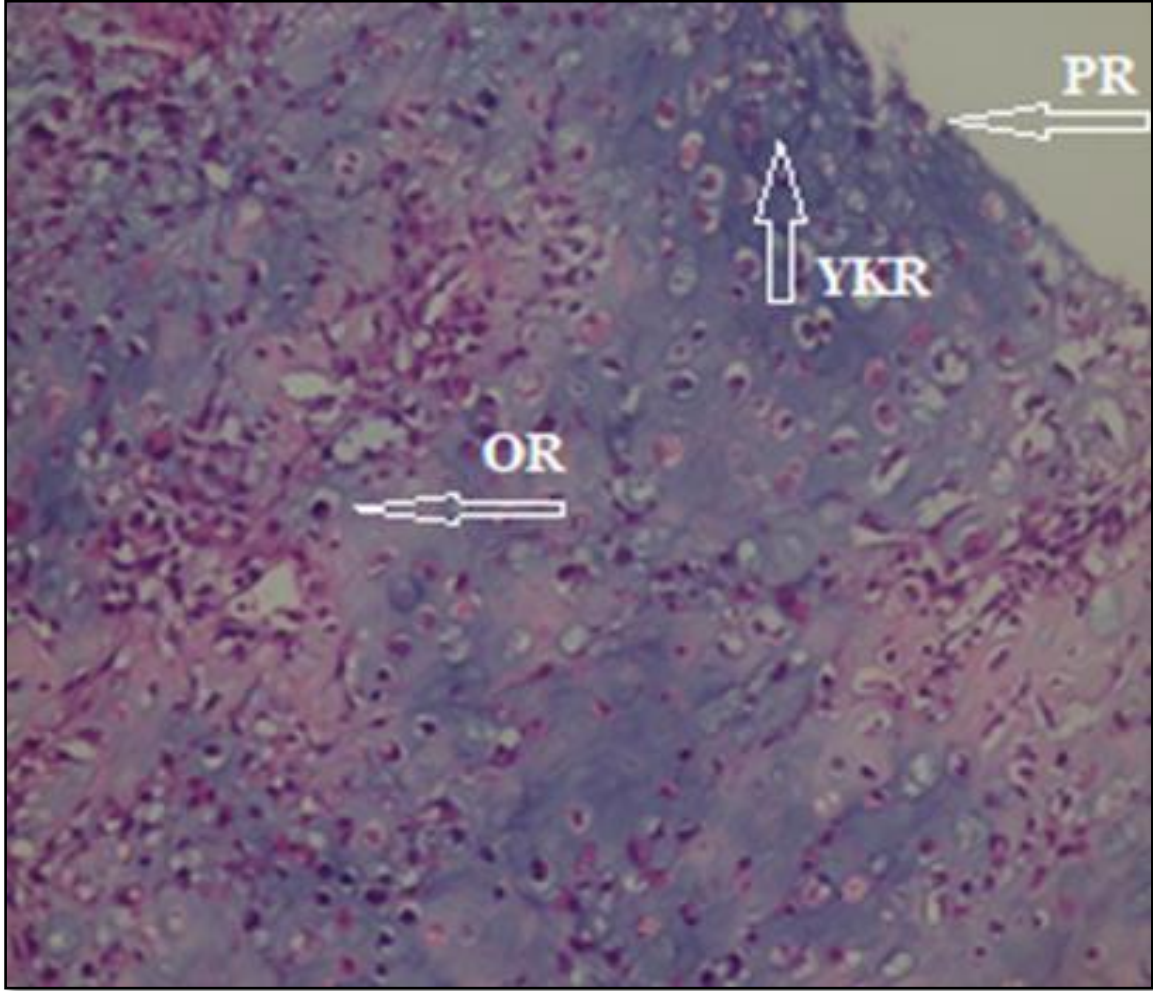
4.2.8. Osteoporoz + defekt + astaksantin (5mg/kg) grubu (ODA5)



Resim 4.8. Osteoporoz + Defekt + Astaksanthin (5mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi (**KR:** Kemik rejenerasyonu, **OR:** Osteosit rejenerasyonu, **PR:** Periosteum rejenerasyonu, orijinal büyüme 10x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Osteoporoz + Defekt + Astaksanthin (5mg/kg) grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, kemik dokusunda rejenerasyona bağlı olarak periosteum ve osteosit hücrelerinde rejenerasyonun olduğu tespit edilmiştir (Resim 4.8).

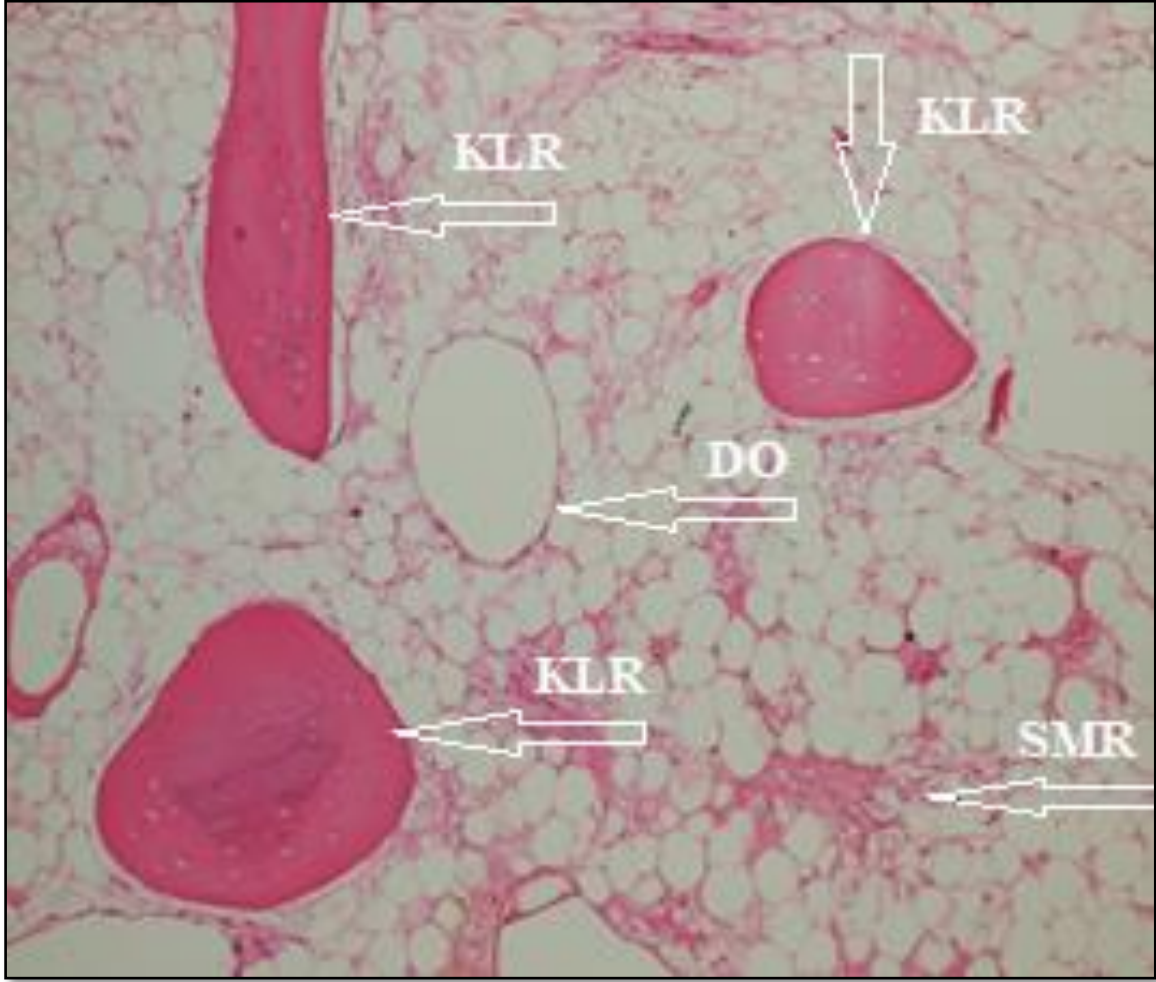
4.2.9. Osteoporoz + defekt + astaksantin (25mg/kg) grubu (ODA25)



Resim 4.9. Osteoporoz + Defekt + Astaksanthin (25mg/kg) grubuna ait kemik histopatolojisi (**OR**: Osteosit rejenerasyonu, **PR**: Periosteum rejenerasyonu, **YKR**: Yoğun kemik rejenerasyonu, orijinal büyütme 20x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Osteoporoz + Defekt + Astaksanthin (25 mg/kg) grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, belirgin şekilde yoğun kemik rejenerasyonunun olduğu, buna bağlı olarak kemik dokusunun çatısında iyileşme meydana geldiği, hem periosteum tabakasında hem de osteosit hücrelerinde rejenerasyonların olduğu tespit edilmiştir (Resim 4.9).

4.2.10. Osteoporoz + defekt + raloksifen grubu (ODR):



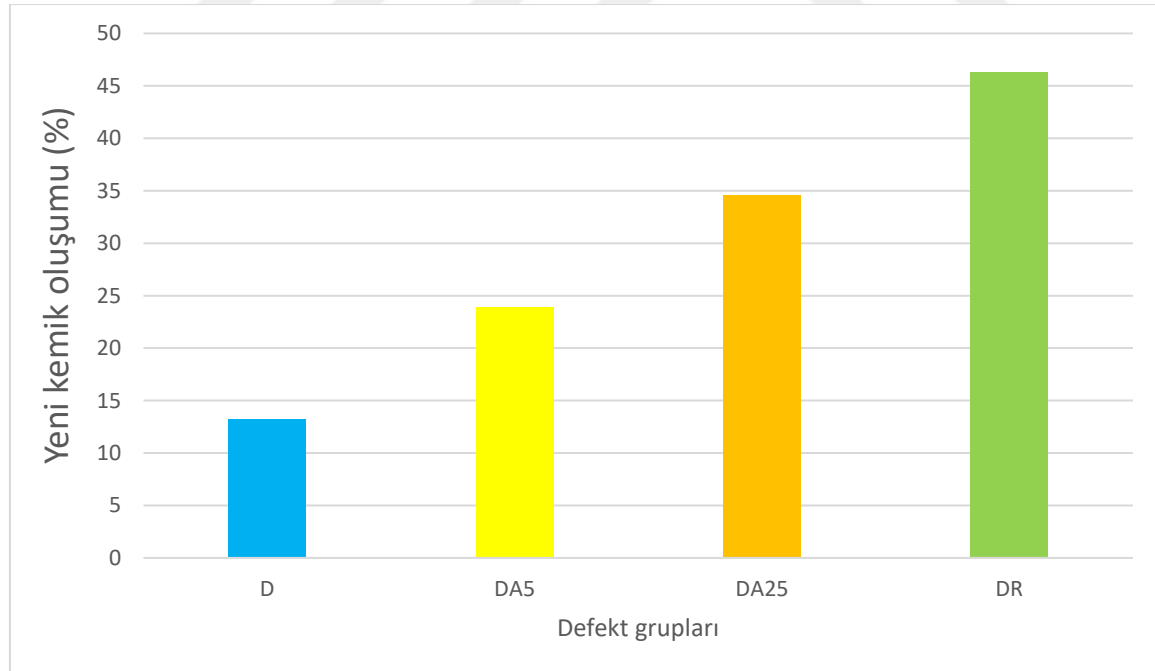
Resim 4.10. Osteoporoz + Defekt + Raloksifen grubuna ait kemik histopatolojisi (**DO**: Damar oluşumu, **KLR**: Kemik lamel rejenerasyonu, **SMR**: Sıkı matriks rejenerasyonu, orijinal büyütme 40x, ölçek birimi 200µm, hematoksilen-eozin)

Osteoporoz + Defekt + Raloksifen grubuna ait kemik dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, belirgin şekilde kemik lamel rejenerasyonunun olduğu, buna bağlı olarak lameller sistemini saran periosteum tabakasının meydana geldiği, kemik matriksinin rejenere olarak sıkı bir şekilde kemik doku çatısını oluşturduğu, kemik matriks yapısını beslemek üzere damar oluşumlarının meydana geldiği tespit edilmiştir (Resim 4.10).

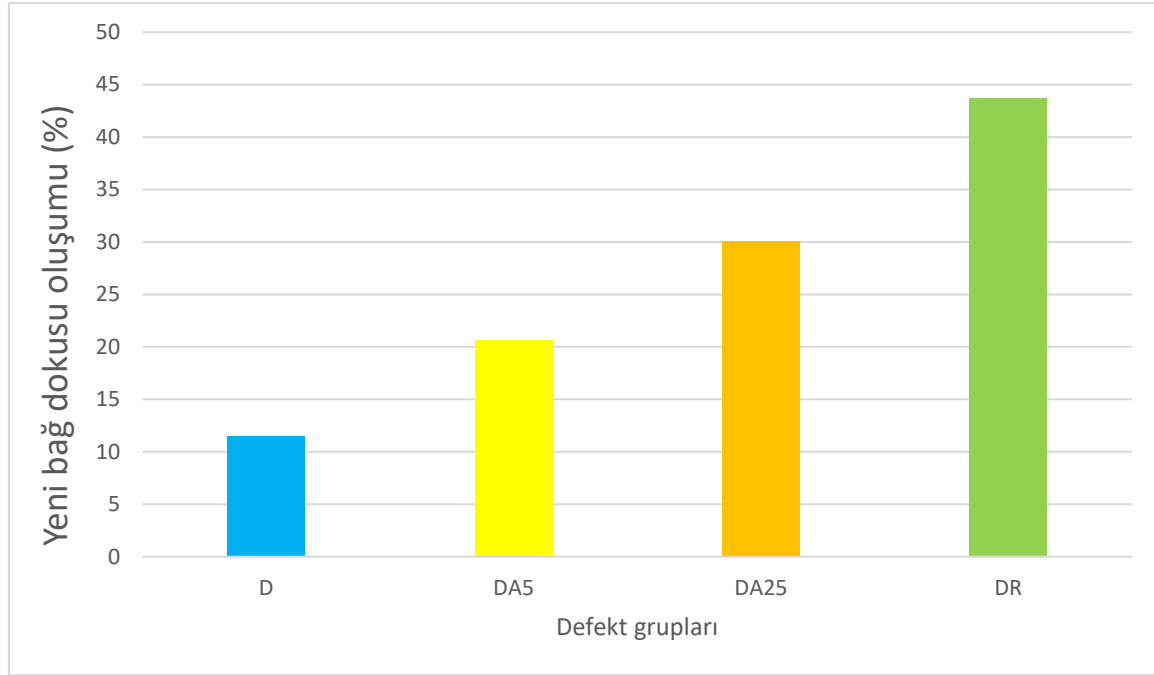
4.2.11. Histolojik veriler

Çizelge 4.2. Kemik defekti oluşturulan deney gruplarında yeni kemik ve yeni bağ dokusu oluşum oranları

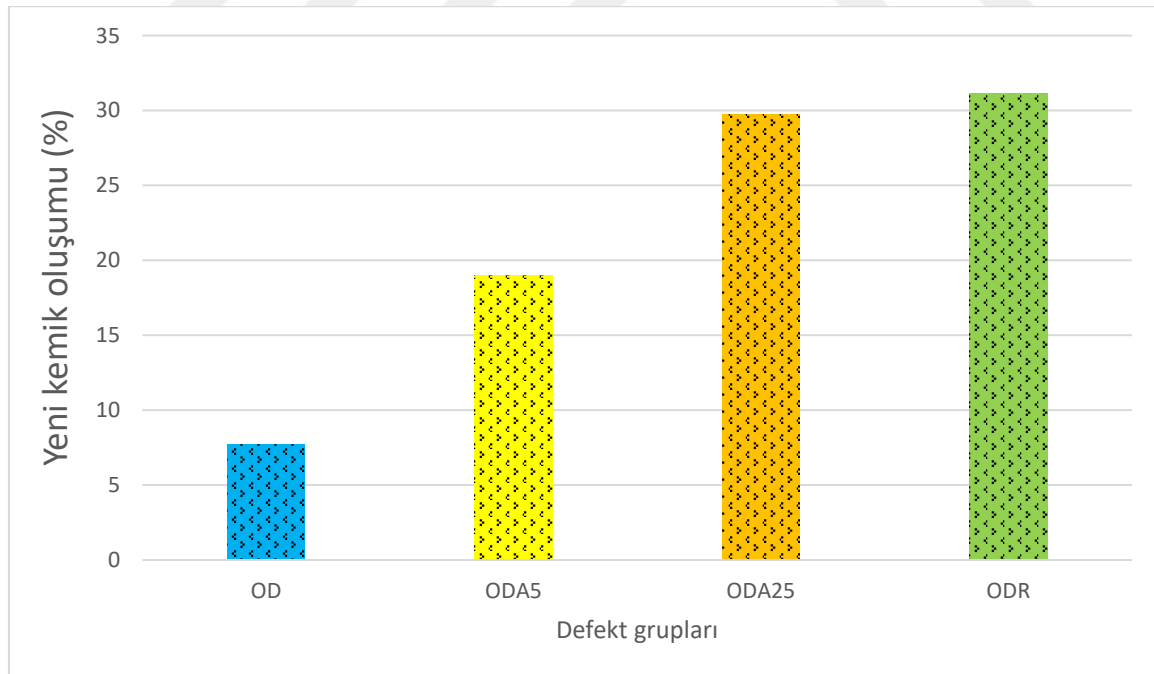
GRUPLAR	YENİ KEMİK OLUŞUMU (%)	YENİ BAĞ DOKUSU OLUŞUMU (%)
DK	13.18 ± 2.56	11.48 ± 3.07
DA5	23.90 ± 3.59	20.64 ± 3.63
DA25	34.53 ± 2.94**	30.12 ± 3.07*
DR	46.27 ± 3.08**	43.69 ± 2.24**
OD	7.69 ± 2.93	19.05 ± 2.43
ODA5	19.02 ± 3.11	22.94 ± 4.59
ODA25	29.73 ± 4.02*	28.77 ± 2.32*
ODR	31.12 ± 2.28*	32.33 ± 4.91*



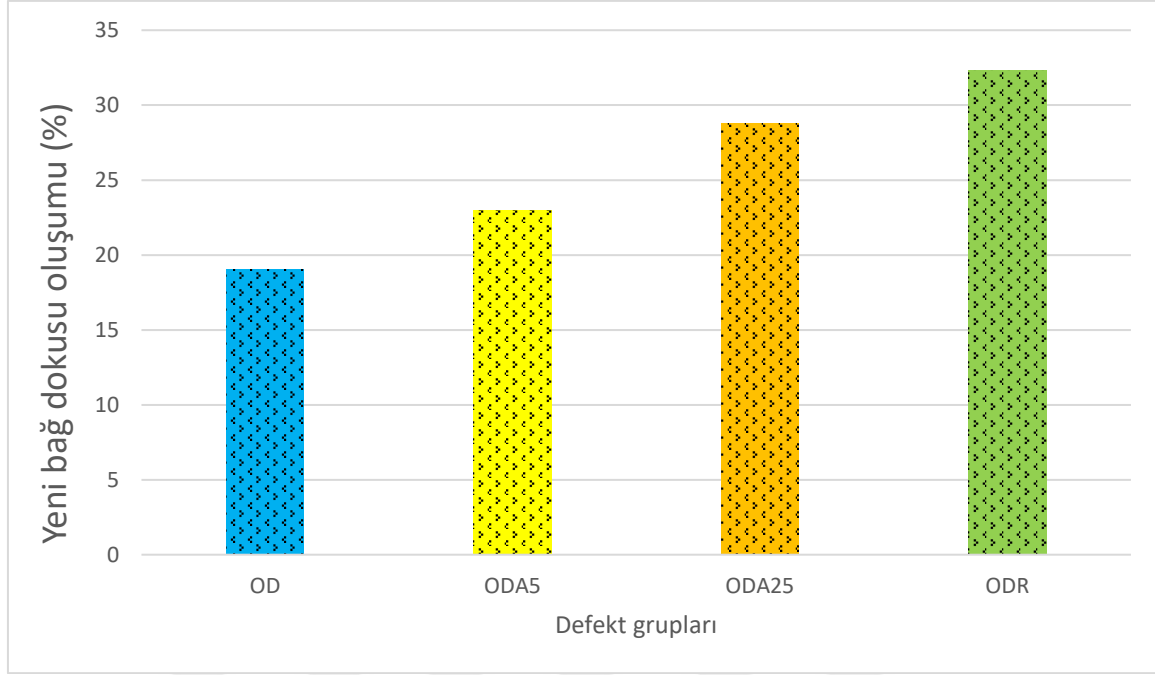
Şekil 4.10. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda yeni kemik oluşumu yüzdeleri



Şekil 4.11. Osteoporoz modeli oluşturulmadan mandibula defekti yapılan gruplarda yeni bağ dokusu oluşumu yüzdeleri



Şekil 4.12. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda yeni kemik oluşumu yüzdeleri



Şekil 4.13. Osteoporoz modeli oluşturulduktan sonra mandibula defekti yapılan gruplarda yeni bağ dokusu oluşumu yüzdeleri



5. TARTIŞMA

Osteoporoz, düşük kemik mineral yoğunluğuyla ve iskelet sisteminde mikro-yapısal bozulma ile karakterize, sistemik ve metabolik kemik hastalığıdır. Bu hastalık dünya genelinde önemli ve sık karşılaşılan bir sağlık problemi olarak görülmektedir [1]. Osteoporoz, minimal travmalar sonrası kemik kırığı riskini artırmanın yanında; tümör, travma ve diğer kemik bozukluklarında kemik iyileşmesinin yetersiz olmasına neden olmaktadır. Bu durumdan çene kemikleri sıklıkla etkilenmekte, diş çekimleri sonrası iyileşmede ve eksikliklerin rehabilitasyonunda güçlükler yaşanmakta, bu nedenlerle de hastaların beslenmeleri ve hayat kaliteleri olumsuz etkilenmektedir.

Günümüzde osteoporoz tedavisinde östrojen, östrojen-reseptör analogları, bifosfonatlar ve çeşitli anabolik ilaçlar kullanılmaktadır [2]. Kemik restorasyonunun sağlanmasında östrojen kritik rol oynadığından östrojen replasman terapisi uzun bir süre osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak uzun süreli östrojen kullanımının göğüs kanseri riskini artırdığı ve çeşitli kardiyovasküler problemlere neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır [3]. Osteoporoz tedavisinde kullanılan bifosfonatlar da uzun süreli kullanımda çeneleri etkileyen kemik nekrozlarına (MRONJ) neden olabilmektedir. MRONJ son yıllarda diş hekimlerinin sıklıkla karşılaştığı ve tedavisi oldukça zor durumlardan biridir [4]. Osteoporoz hastalarında, kemik yıkımını azaltan ve kemik yapımını artıran daha iyi güvenlik profiline sahip yeni ajanların bulunması gerekliliği, bu konuda yapılan her bilimsel araştırmanın sonunda vurgulanan bir konudur [2, 5]. Diş hekimliği alanında da özellikle diş çekimi, kist-tümör operasyonları ve dental implant cerrahileri gibi çene kemiklerini ilgilendiren durumlarda doğrudan etkisi bulunan bu önemli sağlık probleminin çözümü için çalışmalar yapılmaktadır. Bu araştırmanın çıkış noktası, osteoporoz tedavisinde güvenli bir alternatif arayışıdır.

Raloksifen, menopoiz sonrası kadınlarda osteoporozun önlenmesi ve tedavisi için FDA tarafından onaylanan tek SERM'dir (*selective estrogen receptor modulators*). Menopoiz sonrası kadınlarda raloksifenin, daha önce vertebra kırığı olan hastalarda vertebral kırık riskini yaklaşık %30 ve üç yıldan fazladır vertebra kırığı olmayan hastalarda yaklaşık %55 oranında azalttığı gösterilmiştir. [57].

1999 yılında yapılan MORE (*Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation*) adı verilen çalışmada, osteoporozu olan 7705 menopoz sonrası kadında raloksifen tedavisinin omurga ve omurga dışında kırık riski üzerine etkileri araştırılmıştır. Vertikal kırık riskinin, raloksifen alan çalışma gruplarında, plasebo grubuna göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Plasebo grubuyla karşılaştırıldığında, raloksifenin kemik mineral yoğunluğunu (KMY) femur boynunda %2,2-2,4 ve omurgada %2,6-2,7 oranında artırdığı tespit edilmiştir [59].

Raloksifen ile tedavi edilen kadınlarda, plasebo grubuna kıyasla, venöz tromboembolizm riski yüksektir, ancak raloksifen meme kanseri insidansı azalması ile ilişkilendirilmiştir [57]. Raloksifen, menopoz sonrası kadınlarda osteoporoz tedavisindeki etkinliği göz önüne alınarak, bu çalışmada referans materyal olarak tercih edilmiştir.

Bir materyalin, kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliği araştırılacak ise, materyalin etkilerinin doğru değerlendirilmesini sağlamak amacıyla, tutarlı bir test yapısı oluşturulmalıdır. Kemik iyileşmesi söz konusu olduğunda, iyileşebilecek bir kemik defektine ihtiyaç vardır. Test edilecek materyalin etkisini karşılaştırabilmek için de ayrı bir kontrol defekti gerekmektedir. Herhangi bir model için ön koşul, kontrol defektinin, deneysel materyalin uygulandığı defektten daha yavaş iyileşmesidir. En doğru model ise, defektin sadece bir materyal uygulandığında iyileşmesidir [98]. Bu durum, kritik boyut defekti (*critical size defect*) tanımını ortaya çıkarmıştır [99]. “Kritik boyut defekti (KBD), bir hayvan türü ve o hayvan türündeki ilgili kemikte, hayvanın hayatı boyunca spontan olarak iyileşmeyecek en küçük intraosseöz yara” [100] olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmanın amacı, bir materyalin kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesi olduğu için, tutarlı bir test yapısı sağlamak amacıyla, kullanılacak modelde KBD oluşturulmasına karar verilmiştir.

İnsanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalarda, sadece deneysel amaçlı defekt oluşturmak veya biyopsi almak etik olarak uygun olmadığı için araştırmanın uygun etik kurallar çerçevesinde deneysel hayvan çalışması olarak gerçekleştirilmesi daha kabul gören bir yaklaşımdır. Bu sebeple bu çalışmanın deney hayvanları üzerinde yapılması planlanmıştır.

Bir materyalin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak için yapılacak hayvan deneylerinde, öncelikle hangi hayvan modelinin kullanılacağına, daha sonra da kemik defektinin bu model üzerinde hangi bölgede oluşturulacağına karar verilmelidir [101].

Hayvan modeli seçimi ile ilgili olarak, tercih edilen model, insanlara benzer anatomik, fizyolojik ve fizyopatolojik özellikler sunmalıdır [102]. O'Loughlin ve ark. 2008 yılında, kemik rejenerasyonu ile ilgili araştırmalarda en sık kullanılan türler üzerinde gözden geçirilen makalelerin % 38'inde sıçanların kullanıldığını bildirmişlerdir [103]. Kemik rejenerasyon modelleri olarak sıçan (rat) tercih edilmesi, yüksek biyoyararlanımı, düşük maliyeti, laboratuvar ortamında doğrudan kullanımı, düşük biyomalzeme reddi oranı ve insan kemiğine benzer bir kimyasal kemik kompozisyonuna bağlıdır [104]. Bu avantajlar göz önüne alınarak, çalışmamızda kullanılan hayvan modeli Wistar Albino rat olarak belirlenmiştir.

Kemik defektinin model üzerinde hangi bölgede oluşturulacağı değerlendirildiğinde, rat gibi küçük hayvanlarda kritik boyut defekti için yer belirlemek ve belirlenen bölgede defekt oluşturmak kolay bir işlem değildir [101]. Hayvanın küçük olması, çene kemiği rejenerasyonu için araştırılan materyallerin denemelerinde bile, kalvaria ve femur gibi ekstraoral bölgelerin sıklıkla kullanılmasına neden olmuştur [105-108]. Ancak kullanılan materyallerin çene kemikleri üzerindeki etkinliğini araştırmak hedefleniyorsa, en uygun bölge çene kemiklerinin kendisi olmalıdır. Kemiğe bitişik yumuşak dokular, kemiğin vaskülarizasyonu, çiğneme hareketleri de dahil olmak üzere çene hareketlerinin doğurduğu mekanik yükleme koşullarının benzer olması araştırmanın doğruluğunu artıracaktır [109, 110]. Bu sebeplerle, bu çalışmada oluşturulan KBD lokalizasyonu mandibula angulus bölgesi olarak belirlenmiştir.

Deneyssel çalışma öncesinde, KBD ile ilgili karar verilmesi gereken bir diğer konu ise defektin boyutudur. Hollinger ve ark. yaptıkları araştırmada, rat mandibulasının angulus bölgesinde oluşturulan 4mm çapındaki defektlerin, KBD olarak yeterli olduğunu belirtmişlerdir [98]. Bu çalışmada da KBD'lerin boyutu, 4 mm olacak şekilde planlanmıştır.

Deney hayvanlarında osteoporoz modeli oluşturmak amacıyla çeşitli yöntemler kullanılabilir. Ratlarda osteoporoz modeli oluşturabilmek için hormonal müdahaleler, diyet düzenlemesi veya immobilizasyon gibi yöntemler kullanılabilir. Hormonal müdahaleler, cerrahi yöntemlerle ya da çeşitli ilaçlarla sağlanabilir. Cerrahi yöntemler arasında hipofizektomi, paratiroidektomi ve gonadektomi bulunmaktadır. Gonadektomi erkek sıçanlarda testislerin alınması, dişi sıçanlarda ise overlerin alınmasıyla

gerçekleştirilebilir. Lelovas ve ark. yaptıkları çalışmada, deney hayvanlarında osteoporoz modeli oluşturma tekniklerini karşılaştırmışlar ve ratlarda overektomi yoluyla oluşturulan osteoporoz modelinin en çok tercih edilen ve en başarılı sonuçların elde edildiği model olduğunu belirtmişlerdir [111]. Literatür incelendiğinde, dişi ratlara uygulanan overektomi işlemi ile osteoporoz modeli oluşturulan çok sayıda çalışmaya rastlamak mümkündür [101, 112-116].

Overektomi işleminden sonra osteoporoz modeli gelişebilmesi için bir süre beklenmesi gerekmektedir. Bu süre farklı çalışmalarda 10 gün ila 12 hafta arasında değişmektedir. Gomes-Filho ve ark. yaptıkları çalışmada, dişi Wistar ratlara overektomi işlemi uyguladıktan 10 gün sonra deneysel çalışmalarına başlamışlar [114], Yang ve ark. Sprague-Dawley cinsi ratlarda overektomi işleminden sonra deneysel çalışmaya geçmek için 12 hafta beklemişlerdir [113]. Camacho-Alonso ve ark. ise, Sprague-Dawley ratlarda overektomiyi takiben 6 hafta beklemenin yeterli olduğunu belirtmişlerdir [101]. Literatür genel olarak değerlendirildiğinde, araştırmacılar tarafından en çok tercih edilen sürenin 2 ay olduğu görülmektedir. Aydın ve ark. Wistar Albino ratlarda overektomiden sonra 2 ay beklemenin osteoporoz modeli oluşturmak için yeterli bir süre olduğunu vurgulamışlardır [116]. Aciole ve ark. [112] ile Orsal ve ark. [115] da Wistar Albino dişi ratlar üzerinde yaptıkları araştırmada, overektomi işlemini takiben 60 gün sonra osteoporoz modelinin oluştuğunu kabul etmişlerdir.

Bu çalışmada osteoporoz modeli oluşturmak amacıyla, literatürde çok sayıda örneği bulunan; Wistar Albino cinsi dişi ratlara overektomi işlemi yapılması tercih edilmiştir. Overektomi işleminin ardından 60 gün boyunca ratlar standart yem ve musluk suyu ile beslenmeye devam edilmiş, bu süre sonunda osteoporoz modeli oluştuğu kabul edilip deneysel materyallerin uygulanmasına geçilmiştir.

Astaksantin, çeşitli mikroorganizmalarda ve deniz hayvanlarında bulunan doğal bir karotenoiddir. Diğer karotenoidlerden daha potent biyolojik aktivitesinin olduğu birçok çalışma tarafından gösterilmiştir. Yüksek antioksidan etkiye sahiptir ve antioksidan aktivitesi E vitamininden 500 kat, β -karoten'den 10 kat daha fazladır [6]. Günümüzde yaygın bir şekilde gıda takviyesi ve gıda renklendiricisi olarak kullanımı mevcut olan astaksantin,

güvenli bir ajan olarak kabul edilir ve yapılan çalışmalarda herhangi bir toksik etkisi saptanmamıştır [7, 8].

Yüksek antioksidan etkinliğinin yanında anti-inflamatuar, anti-diyabetik, anti-kanser, kardiyovasküler hastalıklardan koruma ve immuno-modelasyon gibi etkinliklerinin olduğu bilinen astaksantin [6] son yıllarda doku iyileşmesinde de olumlu etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [9-12]:

Meephansan ve ark. topikal astaksantinın kutanöz yara iyileşmesini hızlandırdığını tespit etmişlerdir [9]. Kim ve ark. ratlarda, etanol ile indüklenen gastrik mukozal yaralanmalar üzerinde astaksantinın koruyucu etkinliği olduğu sonucuna ulaşmışlardır [10]. Mizuta ve ark. güçlü bir antioksidan olan astaksantinın, iyileşmenin erken fazında oksidatif stresi düzenleyerek, yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini belirtmişlerdir [12]. Kim ve ark. astaksantinın, nöral kök hücrelerinin osteojenik ve adipojenik diferansiasyon potansiyelini önemli ölçüde geliştirdiği sonucuna ulaşmışlardır [11].

Astaksantinın yumuşak dokularda yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini gösteren çalışmalar, kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin merak edilmesine neden olmuştur. Bu çalışma planlanırken, literatürde astaksantinın kemik iyileşmesi üzerine etkinliğini değerlendiren herhangi bir çalışma ile karşılaşılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, astaksantinın çene kemiğinin iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amacıyla Wistar Albino ratların mandibulasında 4mm çapında oluşturulan KBD modelinde astaksantin uygulanmasına karar verilmiştir. Astaksantinın hem sağlıklı ratlarda hem de osteoporoz modeli oluşturulan ratlarda, KBD iyileşmesi üzerine etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın planlanmasının ardından yayınlanan bir çalışmada; Balcı Yüce ve ark. deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda, astaksantin verilen gruplarda, kontrol gruplarına göre kemik kaybının daha az olduğunu tespit etmişlerdir [117].

Yapılan çalışmalarda farklı amaçlarla kullanılan astaksantin dozu farklılıklar göstermektedir. Yara iyileşmesi üzerine belirlenmiş etkin bir astaksantin dozu bulunmamaktadır. Choi ve ark. ratlarda astaksantinın farmakokinetiğini, farklı dozlarda intravenöz (5, 10 ve 20mg/kg) ve oral (100 ve 200mg/kg) yolla uygulayarak değerlendirmişler, doymuş hepatik

metabolizması nedeniyle intravenöz uygulamadan sonra doza bağımlı, ancak oral uygulamadan sonra dozdan bağımsız olduğunu belirtmişlerdir [7].

Lin ve ark. astaksantin'in tekrarlanan oral dozlarda toksisite ve güvenlik değerlendirmesi üzerine çalışma yapmışlardır. Ratlara kristal formda ya da zeytinyağında çözünmüş astaksantin oral yolla verilmiş, 90 gün boyunca oral gavaj yoluyla 750mg/kg/gün dozda astaksantin verilen ratlarda; vücut ağırlığı artışlarında, hematoloji ve serum kimyası değerlerinde, hepatik enzim stabilitesinde, organ bütünlüğünde ve organ ağırlığında herhangi bir toksik değişiklik görülmediği sonucuna ulaşılmıştır [8].

Meephansan ve ark. [9] yaptıkları çalışmada günde iki kez 78µM topikal astaksantin, Kim ve ark. [10] oral yolla 2 farklı dozda (5mg/kg ve 25mg/kg) astaksantin, Mizuta ve ark. [12] oral yolla 100mg/kg astaksantin ve Balcı Yüce ve ark. [117] oral yolla 2 farklı dozda (1mg/kg ve 5mg/kg) astaksantin uygulamışlardır. Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda farklı dozlarda astaksantin uygulanması nedeniyle, bu çalışmada da iki farklı dozda astaksantin kullanılmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmalarda; 1mg/kg/gün ile 25mg/kg/gün arasındaki astaksantin dozlarında olumlu sonuçların alındığı görülmüştür. Bu nedenlerle bu çalışmada kullanılan astaksantin dozları 5mg/kg/gün ve 25mg/kg/gün olarak kararlaştırılmıştır.

Kemik döngüsü (*turnover*), sağlıklı bir kemikte sürekli olarak devam eden ve birbirini takip eden yapım, yıkım ve yeniden mineralizasyon evrelerinden meydana gelen bir döngüdür. Kemik dokunun devam eden yapım ve yıkım mekanizması; zamanla ortaya çıkan yıpranmalara, hasarlara karşı bir önlem niteliğindedir ve bu döngü kemik dokunun sağlıklı kalmasını sağlar. Yaralanan kemik dokunun tamir sürecinde de devam eden bir yapım ve yıkım vardır, ancak bir defektin yeniden kemikle dolarak iyileşebilmesi için tamir hızının yıkım hızından fazla olması gerekmektedir. Yıkım hızının, yapım hızından fazla olduğu durumda ise kemik kaybı görülmektedir. Erken dönem postmenopozal osteoporozda kemik döngüsünde artış olur. Hem yapım hızında hem de yıkım hızında yükseliş olmasına rağmen yıkım hızındaki artışın fazla olması, kemik kaybına neden olmaktadır. Kemik döngüsünün hızını tahmin edebilmek için bazı biyokimyasal belirteçlerin serum ve idrar seviyeleri kullanılabilir. Kemik yapımı için alkalen fosfataz (ALP) ve osteokalsin (OC) sıklıkla kullanılan biyokimyasal belirteçlerdir. Kemik yapım hızının arttığı durumlarda bu belirteçlerin

seviyesinde de artış meydana gelir [56]. Serum alkalen fosfataz ve osteokalsin seviyelerinin yükselmesi kemik yapım hızındaki artışı göstermesine rağmen bu bilgi tek başına kemik kütlesindeki artışı ifade etmek için yeterli olmaz. Yapım hızının arttığı ancak yıkım hızının daha fazla olduğu durumlarda total kemik kütlesinde azalma meydana gelir. Bu nedenlerle bu çalışmada oluşturulan kemik defektinin iyileşme düzeyini değerlendirmek amacıyla serum kalsiyum, serum alkalen fosfataz ve osteokalsin seviyeleriyle birlikte; yeni kemik oluşum oranları ve yeni bağ dokusu oluşum oranları incelenmiştir.

Ohta ve ark. yaptıkları bir çalışmada, premenopozal ve postmenopozal denekler arasında seks steroidlerinin serum seviyelerini, kemik metabolizmasını ve kemik mineral yoğunluklarını (KMY) karşılaştırmışlar; postmenopozal deneklerde, premenopozal deneklere oranla serum ALP ve OC seviyelerinin önemli ölçüde arttığı ancak KMY'nin azaldığı sonucuna ulaşmışlardır. Araştırmacılar, postmenopozal dönemde kemik döngüsünün hızlandığı, hem kemik yapımının hem de kemik yıkımının arttığı, fakat kemik oluşumuna karşı kemik rezorpsiyonunun negatif dengesi nedeniyle KMY'nin azaldığını belirtmişlerdir [118]. Garnero ve ark. menopoz sonrası dönemdeki 653 kadın üzerinde yaptıkları çalışmada, KMY seviyesinin en düşük olduğu hastalarda, ALP ve OC seviyelerinin en yüksek düzeyde olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, KMY'nin düşük olduğu yaşlı kadınlarda, KMY değerleri normal olan kadınlarla karşılaştırıldığında, kemik döngüsü hızının %85'e kadar daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir [119]. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda (K) serum ALP değeri 158,9U/L ve OC değeri 325,18pg/mL iken, osteoporoz grubunda (O) bu değerler serum ALP için 201,6U/L ve OC için 385,18pg/mL olarak bulunmuştur. Osteoporoz modelinde KMY'nin düşmesi beklenen bir durum olduğu için serum ALP ve OC değerlerindeki yükselme literatürle uyumlu bir sonuç ortaya koymaktadır. Bu değerler osteoporoz oluşturulmayan ancak kemik defekti oluşturulan D grubunda O grubuna göre daha düşükken, osteoporoz modeli ve kemik defekti oluşturulan OD grubunda ise O grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. D grubunda kontrol grubuna (K) göre ve OD grubunda O grubuna göre serum ALP ve OC seviyelerindeki artış; kemik defekti oluşturulan ancak tedavi almayan ratlarda kemik döngüsü hızında yükselme olduğuna işaret etmektedir. Her iki grupta da kemik döngüsü hızında yükseliş olmasına rağmen 4 hafta sonunda D grubunda oluşan yeni kemik dokusu oranı %13,18 ve yeni bağ dokusu oranı %11,48; OD grubunda yeni kemik dokusu oranı %7,69 yeni bağ dokusu oranı ise %19,05

olarak ölçülmüştür. Bu oranların kemik döngüsü hızının daha düşük olduğu tedavi gruplarında kemik doku için %46'lara, bağ dokusu için %43'lere kadar çıkmış olması da göz önüne alındığında, "kemik döngüsü hızında yükseliş olması; defekt tamirini olumlu yönde etkiler" anlamına gelmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Birçok çalışmada, postmenopozal dönemde KMY'nin düşmesiyle birlikte kemik döngüsü hızında artış olduğu gösterilmiştir. Postmenopozal osteoporoz tedavisinde kullanılabilecek antirezorptif ajanların araştırıldığı deneysel çalışmalarda, başarılı olduğu düşünülen ajanların, serum ALP ve OC gibi biyokimyasal belirteçlerin değerlerinde azalmaya neden oldukları ve kemik döngüsü hızını düşürdüklerini belirten çalışmalar vardır [45, 113, 115, 116, 120, 121]:

Raisz ve ark. yaptıkları çalışmada postmenopozal kadınlarda erken fazda, kısa süreli, yüksek doz risedronat tedavisinin kemik yapım ve yıkım biyobelirteçleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, 2 haftalık tedavi sürecinden sonra OC, ALP ve C-terminal peptid tip I prokolajen (PICP) seviyelerinde hızlı ve istatistiksel olarak anlamlı düşüşler tespit etmişlerdir [120].

Aydın ve ark. osteoporoz modeli oluşturulan ratlarda, karnitinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, osteoblastik aktivitenin düzenlenmesine katkı sağlayan ve kemik iyileşmesinin erken evresinde önemli rol oynayan OC'nin; overektomi yapılan gruplarda anlamlı artış gösterdiğini, karnitin uygulanan gruplarda yükselen OC seviyesinin normal değerlere düştüğünü belirtmişlerdir [116].

Orsal ve ark. overektomi yapılan ratlarda karnitinin kemik koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde, osteoporoz modeli oluşturulan gruplarda önemli ölçüde artan OC seviyesinin, karnitin uygulaması ile normal değerlere döndüğü sonucuna ulaşmışlardır [115].

Delmas ve ark. 601 postmenopozal kadın üzerinde yaptıkları çalışmada, farklı dozlarda uygulanan raloksifenin, KMY, serum lipid konsantrasyonları ve endometrial kalınlık üzerine etkilerini incelemişler; plasebo grubuyla karşılaştırıldığında, tedavi gruplarında OC seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterdiğini belirtmişlerdir [121].

Yang ve ark. Sprague-Dawley cinsi dişi ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, overektomi ile osteoporoz modeli oluşturmuşlar; icariin, genistein ve hispidulinin antiosteoporotik etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar serum ALP ve OC seviyelerini değerlendirmişler ve osteoporoz modeli oluşturulan grupta serum ALP ve OC'nin önemli artış gösterdiğini, tedavi gruplarında ise her iki biyobelirteç seviyelerinin düştüğünü ve normale yaklaştığını belirtmişlerdir [113].

Bizim çalışmamızda da osteoporoz gruplarında (O, OD) ve defekt grubunda (D), kontrol grubuna (K) göre serum ALP ve OC seviyesinde önemli bir artış görülmüştür. Bu artış D grubunda, O ve OD gruplarına kıyasla daha düşüktür. K grubunda 158,9U/L olan serum ALP değeri, D grubunda 193,2U/L'ye, O grubunda 201,6U/L'ye ve OD grubunda 219,4U/L'ye yükselmiştir. Benzer şekilde K grubunda 325,18pg/mL olan OC değeri, D grubunda 367,05pg/mL'ye, O grubunda 385,18pg/mL'ye ve OD grubunda 403,36pg/mL'ye yükselmiştir. Tedavi gruplarında (DA5, DA25, DR, ODA5, ODA25, ODR) hem serum ALP hem de OC değerlerinde azalma tespit edilmiş ve bu azalma DA25, DR, ODA25, ODR gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmuştur. Serum ALP değeri; DA5 grubunda 164,7U/L, DA25 grubunda 158,0U/L, DR grubunda 153,5U/L, ODA5 grubunda 178,3U/L, ODA25 grubunda 170,6U/L, ODR grubunda 161,4U/L olarak bulunmuştur. Aynı gruplar için OC değerlerine bakıldığında; DA5 grubunda 341,28pg/mL, DA25 grubunda 337,51pg/mL, DR grubunda 310,92pg/mL, ODA5 grubunda 378,14pg/mL, ODA25 grubunda 354,78pg/mL, ODR grubunda 332,48pg/mL olarak ölçülmüştür. Bu veriler ışığında, osteoporoz modelinde, literatürdeki örneklerle paralel şekilde artış gösteren kemik döngüsü biyobelirteçlerinin, uyguladığımız tedavi ile normal değerlere yaklaşacak şekilde düşüş gösterdiği söylenebilmektedir. Benzer durum sağlıklı rat gruplarında da geçerlidir. Tedavi almayan grupta (D) yüksek olan serum ALP ve OC seviyeleri, tedavi alan gruplarda düşüş göstererek normal değerlere yaklaşmıştır. Serum ALP ve OC seviyelerinin normal değerlere en çok yaklaştığı gruplar sırasıyla raloksifen, 25mg astaksantin ve 5mg astaksantin gruplarıdır. Bu sıralama, hem sağlıklı gruplarda hem de osteoporoz modeli oluşturulan gruplarda geçerlidir.

Osteoporotik hastalarda kemik yıkım göstergelerinde artış görülmesi beklenen bir durumdur, ancak kemik yapım göstergelerinde artış görülmesi, kemik kaybının meydana geldiği bir hastalık için aykırı görünebilir. Literatürde birçok örneği olduğu üzere, KMY'si

düşük olan hastalarda hem kemik yıkım hem de kemik yapım belirteçlerinde artış görülmesi, yıkım lehine dengenin bozulduğu hızlanmış bir kemik döngüsüne işaret etmektedir. Yapım hızındaki yükselme, artmış olan yıkım hızını dengelemek amacıyla ortaya çıkmaktadır. Yapılan birçok çalışmada, düşük KMY ile hızlı kemik döngüsünün birlikte görüldüğü durumlarda antirezorptif ajanların kullanılmasının, artmış olan kemik döngüsü hızını baskılayarak KMY'nin düşmesini engellediği ve/veya artırdığı gösterilmiştir [122, 123]. Bizim çalışmamızda etkilerini araştırdığımız astaksantin, incelediğimiz biyokimyasal belirteç seviyelerindeki değişiklikler değerlendirildiğinde, artmış kemik döngüsü hızını azaltarak etki ettiğini söylemek mümkündür.

Yang ve ark.'nın çalışmasında kullanılan biyokimyasal analizde, overektomi yapılan ratlarda, serum kalsiyum seviyesinin anlamlı bir şekilde düştüğü, idrar kalsiyum seviyesinin ise yükseldiği belirtmiştir. Tedavi gruplarındaki tüm ratlarda, overektomi grubuna kıyasla, serum kalsiyum seviyelerinde anlamlı artış olduğu görülmüştür [113]. Bizim çalışmamızda da Yang ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde, kontrol grubuyla kıyaslandığında osteoporoz (O) ve osteoporoz + defekt (OD) gruplarında, serum kalsiyum seviyelerinde önemli bir düşüş görülmüştür. Kontrol grubunda 3,114nmol/L olan serum kalsiyum değeri, O grubunda 2,305nmol/L'ye, OD grubunda 2,106nmol/L'ye düşmüştür. Hem sağlıklı ratlarda hem de osteoporoz modeli oluşturulan ratlarda, raloksifen ve iki farklı astaksantin dozu verilen deneklerin serum kalsiyum seviyelerinde yükselme olmuştur. Bu artış defekt gruplarıyla karşılaştırıldığında, 25mg/kg/gün astaksantin uygulanan gruplarda (DA25, ODA25) ve 10mg/kg/gün raloksifen uygulanan gruplarda (DR, ODR) istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmuştur. D grubunda 2,761nmol/L olan değer; DA5 grubunda 2,813nmol/L, DA25 grubunda 2,905nmol/L ve DR grubunda 3,081nmol/L olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde OD grubunda 2,106nmol/L olan serum kalsiyum değeri; ODA5 grubunda 2,228nmol/L, ODA25 grubunda 2,791nmol/L ve ODR grubunda 3,056nmol/L olarak ölçülmüştür.

Astaksantin yüksek antioksidan etkisinin yanında, yumuşak doku iyileşmesine pozitif katkılarını gösteren çalışmalar, son dönemde materyalin kemik doku üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmasına neden olmuştur. El-Baz ve ark. 2019 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, intraperitoneal D-galaktoz enjeksiyonu yoluyla osteoporoz modeli oluşturulan ratlara 2 hafta boyunca, doğal astaksantin en iyi kaynağı olan *Haematococcus pluvialis* mikroalg biyokütlesi ve fraksiyonları oral yolla verilmiştir. 2 haftanın sonunda

hayvanlar kurban edilmek biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Araştırmacılar, 2 haftalık tedavi sürecinin ardından kemiğe özgü ALP'nin serum seviyelerini incelediklerinde, osteoporoz grubunda artış gösteren ALP'nin, tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Çalışmada ayrıca, osteoporotik kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tedavi gruplarında serum kalsiyum seviyesinin %21, %23 ve %41 oranında artış gösterdiği belirtilmiştir. En yüksek artış görülen grubun, mikroalg biyokütlesinin karotenoid fraksiyonu ile tedavi edilen grup olduğu söylenmiştir [124]. Bizim çalışmamızda da El-Baz ve ark.'nın elde ettiği sonuçlara benzer şekilde astaksantin ile tedavi edilen gruplarda, tedavi almayan gruplara kıyasla serum kalsiyum seviyelerinde artış olduğu bulunmuştur.

Hwang ve ark. 2018 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, overektomi yapılan farelerde astaksantin kemik kütlesi üzerindeki antiosteoporotik etkisini incelemiştir. Araştırmacılar overektomi işlemini takip eden 6 haftalık periyotta, farelere oral yolla 2 farklı dozda (5mg/kg/gün ve 10mg/kg/gün) astaksantin uygulamışlardır. Overektomi yapılan hayvanlarda düşen kalsiyum, fosfor ve toplam kolesterol düzeylerinin astaksantin uygulaması ile arttığını, serum ALP düzeyinin ise kontrol gruplarına kıyasla düştüğünü belirtmişlerdir. Araştırmacılar, astaksantin, overektomi ile indüklenen osteoporotik farelerde oral yoldan verilmesinin, KMY seviyesini düşüren ve kemik mikro mimarisinin tahribatını engelleyen osteoklast aktivitesini azalttığı; terapötik bakış açısından astaksantin, osteoklast farklılaşmasının inhibisyonu ve uterus ağırlığının azaltılması yoluyla postmenopozal osteoporozda kemik kaybının korunması için iyi bir aday olarak kabul edilebileceği sonucuna ulaşmışlardır. Çalışmada ayrıca astaksantin herhangi bir konsantrasyonda, herhangi bir sitotoksik etkisinin görülmediği vurgulanmıştır [125]. Hwang ve ark.'nın elde ettiği sonuçlar, hem serum kalsiyum değerleri hem de serum ALP değerleri için bizim çalışmamızdaki sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Benzer şekilde; astaksantin ile tedavi edilen gruplarda serum kalsiyum seviyeleri yükselirken, serum ALP değerleri düşüş göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre serum biyobelirteç seviyelerindeki değişimleri, incelediğimiz diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda; Yang ve ark. [113], El-Baz ve ark. [124], Hwang ve ark. [125] yaptıkları çalışmalarla paralel olacak şekilde, tedavi gruplarında serum kalsiyum değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Serum ALP değerindeki değişimler

incelendiğinde, bizim çalışmamızda overektomi işlemi ile artan serum ALP değerinin, tedavi gruplarında azalarak normal değerlere yaklaşması, Yang ve ark. [113], Hwang ve ark. [125], El-Baz ve ark. [124], Delmas ve ark. [121] yaptıkları çalışmaların sonuçlarına paralellik göstermektedir. OC değerleri incelendiğinde, bu çalışmada overektomi işlemi ile artan osteokalsin değerinin de serum ALP değerinde olduğu gibi tedavi gruplarında azalarak normal değerlere yaklaşması, Yang ve ark. [113], Aydın ve ark. [116], Orsal ve ark. [115] ve Delmas ve ark.'nın [121] yaptıkları çalışmaların sonuçları ile benzer bulunmuştur. Balcı Yüce ve ark. [117] ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada, bizim çalışmamızdan ve literatürdeki diğer çalışmalardan farklı olarak, astaksantin tedavisi uygulanan gruplarda OC seviyesinde artış olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ancak araştırmacılar serum osteokalsin seviyesini değil, periodontitis modelinin oluşturulduğu sağ mandibuler molar bölgeden alınan kesitlerde immunohistokimyasal boyama yöntemi ile osteokalsin yoğunluğunu değerlendirmişlerdir.

Bir materyalin kemik iyileşmesi üzerine etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda birçok parametre kullanılabilir. Kritik boyutta kemik defekti oluşturularak iyileşmenin araştırıldığı durumlarda, defekt bölgesinde yeni oluşan kemik miktarının değerlendirilmesi sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Araştırmacılar, kemik defekti oluşturulan deneklerde, etkinliği araştırılan materyalin uygulandığı tedavi gruplarında, defekt alanında oluşan yeni kemik ve bağ dokusu oranını, defekt oluşturulup herhangi bir ajan verilmeyen kontrol grubundaki yeni kemik ve bağ dokusu oranı ile kıyaslayarak, materyalin etkinliğini değerlendirebilirler [113, 125-129]. Yaptığımız çalışmada hem sağlıklı defekt gruplarında hem de osteoporoz modeli oluşturulan defekt gruplarında, astaksantin ve raloksifen uygulanan ratlarda, kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark yaratan yeni kemik ve bağ dokusu oluşum yüzdeleri tespit edilmiştir. D grubunda yeni kemik oluşum değeri %12,13 oranındayken, DA5 grubunda bu oran %23,90, DA25 grubunda %34,53, DR grubunda %46,27 olarak tespit edilmiştir. OD grubunda yeni kemik oluşumu %7,69, ODA5 grubunda %19,02, ODA25 grubunda %29,73 ve ODR grubunda bu oran %31,12 olarak ölçülmüştür. Yeni oluşan bağ dokusu yüzdeleri de kemik oluşum oranlarına paralel şekilde; D grubunda %11,48, DA5 grubunda %20,64, DA25 grubunda %30,12, DR grubunda %43,69, OD grubunda %19,05, ODA5 grubunda %22,94, ODA25 grubunda %28,77 ve ODR grubunda %32,33 olarak kaydedilmiştir.

Bu veriler ile serum biyobelirteç seviyeleri birlikte değerlendirildiğinde, astaksantin ve raloksifen tedavisinin, yükselen kemik döngüsü hızını baskılayarak kemik kaybını yavaşlattığı ve yapım-yıkım dengesini yapım lehine çevirerek kemik iyileşmesine pozitif etki ettiğini söylemek mümkündür.





6. SONUÇ

Osteoporoz modeli oluşturulmuş ratlarda astaksantin'in kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelendiği bu çalışmada; overektomi işlemini takip eden 2 aylık bekleme süresinin ardından, deneklerin serum ALP ve OC seviyelerinde yükselme görülmesi, literatürdeki osteoporoz modeli oluşturulan diğer çalışmalarla ve postmenopozal osteoporozda serum biyobelirteç bulgularıyla uyumludur ve bu durum osteoporoz modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu göstermektedir.

Tedavi gruplarında astaksantin uygulaması; osteoporoz tedavisinde kullanılan antirezorptif ilaçlar gibi, artan kemik döngü hızını azaltmakta ve yıkım lehine olan dengesizliği engellemektedir. Defekt bölgelerinde oluşan yeni kemik ve bağ dokusu oluşum oranları değerlendirildiğinde astaksantin, yapım-yıkım döngüsünü, yapım lehine çevirdiği ve kemik iyileşmesini arttırdığı görülmektedir. Osteoporoz modeli oluşturulmadan kemik iyileşmesinin değerlendirildiği tedavi gruplarında, astaksantin uygulanan deneklerde defekt alanlarında oluşan yeni kemik ve bağ dokusu oranları göz önüne alındığında, astaksantin hem osteoporoz modelinde hem de sağlıklı metabolizmalarda yeni kemik oluşumunu arttırarak kemik iyileşmesine istatistiksel olarak anlamlı, pozitif katkıda bulunduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Astaksantin, kemik yıkımını azaltan ve kemik yapımını artıran bir materyal olmasının yanında bu zamana kadar tespit edilmiş herhangi bir toksik etkiye de sahip değildir. Henüz bu materyal ile yapılan çalışmaların çeşitliliği, kapsamı ve sayısı yetersiz olmakla birlikte, astaksantin özellikle osteoporoz tedavisi için alternatif olabilecek, güvenlik profiline sahip umut vadeden bir ajan olduğu söylenebilir. Astaksantin özelliklerini ve etkilerini araştıran çalışmaların önümüzdeki yıllarda artış göstereceği ve bu çalışmada elde edilen sonuçların yapılacak daha kapsamlı ileri çalışmalar için rehber olabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. Salari Sharif, P., Abdollahi, M. and Larijani, B. (2011). Current, new and future treatments of osteoporosis. *Rheumatol Internatonalt*, 31(3), 289-300.
2. Gennari, L., Rotatori, S., Bianciardi, S., Gonnelli, S., Nuti, R. and Merlotti, D. (2015). Appropriate models for novel osteoporosis drug discovery and future perspectives. *Expert Opinion Drug Discovery*, 10(11), 1201-1216.
3. Utian, W. H., Archer, D. F., Bachmann, G. A., Gallagher, C., Grodstein, F., Heiman, J. R., Henderson, V. W., Hodis, H. N., Karas, R. H., Lobo, R. A., Manson, J. E., Reid, R. L., Schmidt, P. J., Stuenkel, C. A. (2008). Estrogen and progestogen use in postmenopausal women: July 2008 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*, 15(4 Pt 1), 584-602.
4. Limones, A., Saez-Alcaide, L. M., Diaz-Parreno, S. A., Helm, A., Bornstein, M. M. and Molinero-Mourelle, P. (2020). Medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ) in cancer patients treated with denosumab VS. zoledronic acid: A systematic review and meta-analysis. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 25(3), e326-e336.
5. Lewiecki, E. M. (2009). Emerging drugs for postmenopausal osteoporosis. *Expert Opinion Emerging Drugs*, 14(1), 129-144.
6. Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S. and Aswathanarayana, R. G. (2014). Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications--a review. *Marine Drugs*, 12(1), 128-152.
7. Choi, H. D., Kang, H. E., Yang, S. H., Lee, M. G. and Shin, W. G. (2011). Pharmacokinetics and first-pass metabolism of astaxanthin in rats. *British Journal of Nutrition*, 105(2), 220-227.
8. Lin, Y. J., Lin, J. Y., Wang, D. S., Chen, C. H. and Chiou, M. H. (2017). Safety assessment of astaxanthin derived from engineered Escherichia coli K-12 using a 13-week repeated dose oral toxicity study and a prenatal developmental toxicity study in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 87, 95-105.
9. Meephansan, J., Rungjang, A., Yingmema, W., Deenonpoe, R. and Ponnikorn, S. (2017). Effect of astaxanthin on cutaneous wound healing. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 10, 259-265.
10. Kim, J. H., Choi, S. K., Choi, S. Y., Kim, H. K. and Chang, H. I. (2005). Suppressive effect of astaxanthin isolated from the Xanthophyllomyces dendrorhous mutant on ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 69(7), 1300-1305.

11. Kim, J. H., Nam, S.-W., Kim, B. W., Kim, W.-J. and Choi, Y. H. (2010). Astaxanthin improves the proliferative capacity as well as the osteogenic and adipogenic differentiation potential in neural stem cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1741-1745.
12. Mizuta, M., Hirano, S., Hiwatashi, N., Tateya, I., Kanemaru, S., Nakamura, T. and Ito, J. (2014). Effect of astaxanthin on vocal fold wound healing. *Laryngoscope*, 124(1), E1-7.
13. Akay, M. T. (2014). *Genel Histoloji* (Dokuzuncu Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 147-171
14. Layton, C. and Suvarna, K. (2013). *Bancroft's Theory and Practise of Histological Techniques (7th edition) (Co-author)*. London: Churchill Livingstone, 317-352.
15. Yamaguchi, M. (2012). Role of carotenoid beta-cryptoxanthin in bone homeostasis. *Journal of Biomedical Science*, 19, 36.
16. Mescher, A. (2013). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas (13th edition)*, by Anthony L. Mescher. New York: McGraw-Hill Education, 315-361.
17. Miller, N. (2012). *Ten Cate's oral histology, (8th edition)* (Vol. 213). Missouri: Mosby, 95-121.
18. Little, N., Rogers, B. and Flannery, M. (2011). Bone formation, remodelling and healing. *Surgery - Oxford International Edition*, 29(4), 141-145.
19. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M. A., del-Canto-Pingarron, M. and Blanco-Jerez, L. (2006). Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 11(1), E47-51.
20. Çakır, M. (2014). *Ankaferd Kanama Durdurucu Ve Kollajenize Heterolog Kemik Greftinin Sinüs Tabanı Yükseltilmesi Uygulamalarında Kemik İyileşmesine Etkisinin Deneyisel Olarak İncelenmesi*, Doktora Tezi, Gazi University Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-45.
21. Karaçelebi, E. (2015). *Bifosfonat Uygulaması Yapılmış Ratlarda Diş Çekimini Takiben Pentoksifilin Ve Tokoferol Uygulamasının Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-38.
22. Kılıçoğlu, S. S. (2002). Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 55(2), 143-150.
23. Altunatmaz, K. (2004). Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 30(1), 141-147.

24. Roberts, J. L., Paglia, D. N. and Drissi, H. (2018). Transcriptional Mechanisms of Secondary Fracture Healing. *Current Osteoporosis Reports*, 16(2), 146-154.
25. Genant, H. K., Cooper, C., Poor, G., Reid, I., Ehrlich, G. and Kanis, J., (1999). Interim report and recommendations of the World Health Organization Task-Force for Osteoporosis. *Osteoporosis International*, 10(4), 259-264.
26. Marcus, R., Dempster, D. W. and Bouxsein, M. L. (2013). Chapter 2 - The Nature of Osteoporosis. In R. Marcus, D. Feldman, D. W. Dempster, M. Luckey, & J. A. Cauley (Eds.), *Osteoporosis (Fourth Edition)* San Diego: Academic Press, 21-30.
27. *Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis*. (1998). Geneva: World Health Organization, 68-69
28. Brown, J. P. and Josse, R. G. (2002). 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *Canadian Medical Association Journal*, 167(10 Suppl), 1-34.
29. İnternet: Rosen, C. J. (2000). The Epidemiology and Pathogenesis of Osteoporosis. *Endotext*. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279134> adresinden 15 Aralık 2018'de alınmıştır.
30. Lane, N. E. (2006). Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 194(2), 3-11.
31. Tuzun, S., Eskiurt, N., Akarirmak, U., Saridogan, M., Senocak, M., Johansson, H. and Kanis, J. A. (2012). Incidence of hip fracture and prevalence of osteoporosis in Turkey: the FRACTURK study. *Osteoporosis International*, 23(3), 949-955.
32. Nursel Üstündağ, M. K., Öksüz kaya, A., Balbal oğlu, Ö. ve Karataş Eray, İ. (2013). Classification of Osteoporosis, Determining Risk Factors and One-Minute Osteoporosis Risk Test. *Eurasian Journal of Family Medicine*, 2(3), 107-114.
33. Tüzün, F. (1999). *Osteoporozun tanımı, sınıflaması ve epidemiyolojisi*. İstanbul Osteoporoz Sempozyumu, İstanbul.
34. Nordin, B. E. C., Chatterton, B. E., Need, A. G., and Horowitz, M. (1995). The Definition, Diagnosis, and Classification of Osteoporosis. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 6(3), 395-414.
35. Nordin, B. E. C. (2013). Chapter 3 - Reflections on Osteoporosis. In R. Marcus, D. Feldman, D. W. Dempster, M. Luckey, and J. A. Cauley (Eds.), *Osteoporosis (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press, 31-50.
36. Francis, R. M., Peacock, M., Aaron, J. E., Selby, P. L., Taylor, G. A., Thompson, J., Marshall, D. H., Horsman, A. (1986). Osteoporosis in hypogonadal men: Role of

decreased plasma 1,25-dihydroxyvitamin D, calcium malabsorption, and low bone formation. *Bone*, 7(4), 261-268.

37. Harris, S. S. and Dawson-Hughes, B. (1996). Weight, body composition, and bone density in postmenopausal women. *Calcified Tissue International*, 59(6), 428-432.
38. Kerstetter, J. E. and Allen, L. H. (1990). Dietary protein increases urinary calcium. *The Journal of Nutrition*, 120(1), 134-136.
39. Reid, I. R. and Ibbertson, H. K. (1987). Evidence for Decreased Tubular Reabsorption of Calcium in Glucocorticoid-Treated Asthmatics. *Hormone Research in Paediatrics*, 27(4), 200-204.
40. Bressot, C., Meunier, P. J., Chapuy, M. C., Lejeune, E., Edouard, C. and Darby, A. J. (1979). Histomorphometric profile, pathophysiology and reversibility of corticosteroid-induced osteoporosis. *Metabolic Bone Disease and Related Research*, 1(4), 303-311.
41. Mukherjee, S. and Sorrell, M. F. (2000). Effects of alcohol consumption on bone metabolism in elderly women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), 1073.
42. Rapuri, P. B., Gallagher, J. C., Balhorn, K. E. and Ryschon, K. L. (2000). Alcohol intake and bone metabolism in elderly women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), 1206-1213.
43. Krall, E. A. and Dawson-Hughes, B. (1999). Smoking increases bone loss and decreases intestinal calcium absorption. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(2), 215-220.
44. Barger-Lux, M. J. and Heaney, R. P. (1995). Caffeine and the calcium economy revisited. *Osteoporos International*, 5(2), 97-102.
45. Uçar, M. (2009). *Deneyisel osteoporoz oluşturulan ratlarda brain natriüretik peptid düzeyinin biyokimyasal markırlar, kemik mineral yoğunluğu ve progenitör faktörlerle ilişkisinin araştırılması*. Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 11-25.
46. Pfeilschifter, J., Koditz, R., Pfohl, M. and Schatz, H. (2002). Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocrine Reviews*, 23(1), 90-119.
47. Aubin, J. E. and Bonnelye, E. (2000). Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. *Osteoporos International*, 11(11), 905-913.
48. Riggs, B. L., Khosla, S. and Melton, L. J. (2002). Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine Reviews*, 23(3), 279-302.

49. Bartl, R., Frisch, B. and Bartl, C. (2009). *Osteoporosis: Diagnosis, prevention, therapy*. 1-321.
50. Alexandru, D. and So, W. (2012). Evaluation and management of vertebral compression fractures. *The Permanente journal*, 16(4), 46-51.
51. de Souza, M. P. G. (2015). Osteoporosis, diagnosis and treatment. *Revista brasileira de ortopedia*, 45(3), 220-229.
52. Swaminathan, R. (2001). Biochemical markers of bone turnover. *Clinica Chimica Acta*, 313(1-2), 95-105.
53. Füsün Şahin, N. K. ve Banu Kuran. (2005). Ankilozan Spondilitte Kemik Yoğunluğu Ölçüm Yöntemleri ve Kemik Döngüsü Parametrelerinin Özellikleri. *Osteoporoz Dünyasından*, 11(3), 115-120.
54. Areeckal, A. S., Kocher, M. and S, S. D. (2019). Current and Emerging Diagnostic Imaging-Based Techniques for Assessment of Osteoporosis and Fracture Risk. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, 12, 254-268.
55. Carey, J. J. and Buehring, B. (2018). Current imaging techniques in osteoporosis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 114(5), 115-126.
56. Tüzün, F. (2003). *Kemik eklem dekadında osteoporoz ve kemik kalitesi*. İstanbul: Lilly, 35-102
57. Chen, L. R., Ko, N. Y. and Chen, K. H. (2019). Medical Treatment for Osteoporosis: From Molecular to Clinical Opinions. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2213, 1-21.
58. Pleiner-Duxneuner, J., Zwettler, E., Paschalis, E., Roschger, P., Nell-Duxneuner, V. and Klaushofer, K. (2009). Treatment of osteoporosis with parathyroid hormone and teriparatide. *Calcified Tissue International*, 84(3), 159-170.
59. Ettinger, B., Black, D. M., Mitlak, B. H., Knickerbocker, R. K., Nickelsen, T., Genant, H. K. and Cummings, S. R. (1999). Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *The Journal of the American Medical Association*, 282(7), 637-645.
60. Kidd, P. (2011). Astaxanthin, cell membrane nutrient with diverse clinical benefits and anti-aging potential. *Alternative Medicine Review*, 16(4), 355-364.
61. Barros, M. P., Marin, D. P., Bolin, A. P., de Cássia Santos Macedo, R., Campoio, T. R., Fineto, C. and Otton, R. (2012). Combined astaxanthin and fish oil supplementation

- improves glutathione-based redox balance in rat plasma and neutrophils. *Chemico-Biological Interactions*, 197(1), 58-67.
62. Ranga Rao, A., Raghunath Reddy, R. L., Baskaran, V., Sarada, R. and Ravishankar, G. A. (2010). Characterization of Microalgal Carotenoids by Mass Spectrometry and Their Bioavailability and Antioxidant Properties Elucidated in Rat Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(15), 8553-8559.
 63. Ranga Rao, A., Sindhuja, H. N., Dharmesh, S. M., Sankar, K. U., Sarada, R. and Ravishankar, G. A. (2013). Effective inhibition of skin cancer, tyrosinase, and antioxidative properties by astaxanthin and astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(16), 3842-3851.
 64. Ranga Rao, A., Baskaran, V., Sarada, R. and Ravishankar, G. A. (2013). In vivo bioavailability and antioxidant activity of carotenoids from microalgal biomass - A repeated dose study. *Food Research International*, 54(1), 711-717.
 65. Chavda, V. P. (2019). Chapter 4 - Nanobased Nano Drug Delivery: A Comprehensive Review. In S. S. Mohapatra, S. Ranjan, N. Dasgupta, R. K. Mishra and S. Thomas (Eds.), *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*. Amsterdam: Elsevier, 69-92
 66. Kozat, S. (2017). Sıvı Tedavisinde Koloidal Solüsyonların Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(2), 210-217.
 67. Farruggia, C., Kim, M. B., Bae, M., Lee, Y., Pham, T. X., Yang, Y. and Lee, J. Y. (2018). Astaxanthin exerts anti-inflammatory and antioxidant effects in macrophages in NRF2-dependent and independent manners. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 62, 202-209.
 68. Naguib, Y. M. (2000). Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1150-1154.
 69. Liu, X. and Osawa, T. (2007). Cis astaxanthin and especially 9-cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all-trans isomer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 357(1), 187-193.
 70. Kamath, B. S., Srikanta, B. M., Dharmesh, S. M., Sarada, R. and Ravishankar, G. A. (2008). Ulcer preventive and antioxidative properties of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *European Journal of Pharmacology*, 590(1), 387-395.
 71. Karppi, J., Rissanen, T. H., Nyyssonen, K., Kaikkonen, J., Olsson, A. G., Voutilainen, S. and Salonen, J. T. (2007). Effects of astaxanthin supplementation on lipid peroxidation. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 77(1), 3-11.

72. Park, J. S., Chyun, J. H., Kim, Y. K., Line, L. L. and Chew, B. P. (2010). Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition and metabolism*, 7, 18.
73. Uchiyama, K., Naito, Y., Hasegawa, G., Nakamura, N., Takahashi, J. and Yoshikawa, T. (2002). Astaxanthin protects beta-cells against glucose toxicity in diabetic db/db mice. *Redox Report*, 7(5), 290-293.
74. Nishigaki, I., Rajendran, P., Venugopal, R., Ekambaram, G., Sakthisekaran, D. and Nishigaki, Y. (2010). Cytoprotective role of astaxanthin against glycated protein/iron chelate-induced toxicity in human umbilical vein endothelial cells. *Phytotherapy Research*, 24(1), 54-59.
75. Hussein, G., Nakagawa, T., Goto, H., Shimada, Y., Matsumoto, K., Sankawa, U. and Watanabe, H. (2007). Astaxanthin ameliorates features of metabolic syndrome in SHR/NDmcr-cp. *Life Sciences*, 80(6), 522-529.
76. Bhuvaneswari, S., Yogalakshmi, B., Sreeja, S. and Anuradha, C. V. (2014). Astaxanthin reduces hepatic endoplasmic reticulum stress and nuclear factor-kappaB-mediated inflammation in high fructose and high fat diet-fed mice. *Cell Stress Chaperones*, 19(2), 183-191.
77. Bhuvaneswari, S., Arunkumar, E., Viswanathan, P. and Anuradha, C. V. (2010). Astaxanthin restricts weight gain, promotes insulin sensitivity and curtails fatty liver disease in mice fed a obesity-promoting diet. *Process Biochemistry*, 45(8), 1406-1414.
78. Manabe, E., Handa, O., Naito, Y., Mizushima, K., Akagiri, S., Adachi, S., Takagi, T., Kokura, S., Maoka, T., Yoshikawa, T. (2008). Astaxanthin protects mesangial cells from hyperglycemia-induced oxidative signaling. *Journal of Cellular Biochemistry*, 103(6), 1925-1937.
79. Naito, Y., Uchiyama, K., Aoi, W., Hasegawa, G., Nakamura, N., Yoshida, N., Maoka, T., Takahashi, J., Yoshikawa, T. (2004). Prevention of diabetic nephropathy by treatment with astaxanthin in diabetic db/db mice. *BioFactors*, 20(1), 49-59.
80. Kim, Y. J., Kim, Y. A. and Yokozawa, T. (2009). Protection against Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis of High-Glucose-Exposed Proximal Tubular Epithelial Cells by Astaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 8793-8797.
81. Fassett, R. G. and Coombes, J. S. (2011). Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Marine Drugs*, 9(3), 447-465.
82. Lauver, D. A., Lockwood, S. F. and Lucchesi, B. R. (2005). Disodium Disuccinate Astaxanthin (Cardax) attenuates complement activation and reduces myocardial injury following ischemia/reperfusion. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 314(2), 686-692.

83. Gross, G. J., Hazen, S. L. and Lockwood, S. F. (2006). Seven day oral supplementation with Cardax (disodium disuccinate astaxanthin) provides significant cardioprotection and reduces oxidative stress in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 283(1-2), 23-30.
84. Monroy-Ruiz, J., Sevilla, M.-Á., Carrón, R. and Montero, M.-J. (2011). Astaxanthin-enriched-diet reduces blood pressure and improves cardiovascular parameters in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacological Research*, 63(1), 44-50.
85. Chew, B. P. and Park, J. S. (2004). Carotenoid action on the immune response. *The Journal of Nutrition*, 134(1), 257-261.
86. Zhang, L. X., Cooney, R. V. and Bertram, J. S. (1992). Carotenoids up-regulate connexin43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. *Cancer Research*, 52(20), 5707-5712.
87. Chew, B. P., Park, J. S., Wong, M. W. and Wong, T. S. (1999). A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice in vivo. *Anticancer Research*, 19(3a), 1849-1853.
88. Palozza, P., Torelli, C., Boninsegna, A., Simone, R., Catalano, A., Mele, M. C. and Picci, N. (2009). Growth-inhibitory effects of the astaxanthin-rich alga *Haematococcus pluvialis* in human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 283(1), 108-117.
89. Maoka, T., Tokuda, H., Suzuki, N., Kato, H. and Etoh, H. (2012). Anti-oxidative, anti-tumor-promoting, and anti-carcinogenesis activities of nitroastaxanthin and nitrolutein, the reaction products of astaxanthin and lutein with peroxynitrite. *Marine drugs*, 10(6), 1391-1399.
90. Jyonouchi, H., Sun, S., Iijima, K. and Gross, M. D. (2000). Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action. *Nutrition and Cancer*, 36(1), 59-65.
91. Jyonouchi, H., Hill, R. J., Tomita, Y. and Good, R. A. (1991). Studies of immunomodulating actions of carotenoids. I. Effects of beta-carotene and astaxanthin on murine lymphocyte functions and cell surface marker expression in in vitro culture system. *Nutrition and Cancer*, 16(2), 93-105.
92. Augusti, P. R., Quattrin, A., Somacal, S., Conterato, G. M., Sobieski, R., Ruviano, A. R., Maurer, L. H., Duarte, M. M., Roehrs, M., Emanuelli, T. (2012). Astaxanthin prevents changes in the activities of thioredoxin reductase and paraoxonase in hypercholesterolemic rabbits. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 51(1), 42-49.
93. Park, J. S., Mathison, B. D., Hayek, M. G., Massimino, S., Reinhart, G. A. and Chew, B. P. (2011). Astaxanthin stimulates cell-mediated and humoral immune responses in cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 144(3), 455-461.

94. Petri, D. and Lundebye, A.-K. (2007). Tissue distribution of astaxanthin in rats following exposure to graded levels in the feed. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 145(2), 202-209.
95. Serebruany, V., Malinin, A., Goodin, T. and Pashkow, F. (2010). The In Vitro Effects of Xancor, a Synthetic Astaxanthine Derivative, on Hemostatic Biomarkers in Aspirin-Naïve and Aspirin-Treated Subjects With Multiple Risk Factors for Vascular Disease. *American Journal of Therapeutics*, 17, 125-132.
96. Miyawaki, H., Takahashi, J., Tsukahara, H. and Takehara, I. (2008). Effects of astaxanthin on human blood rheology. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 43(2), 69-74.
97. Spiller, G. A. and Dewell, A. (2003). Safety of an astaxanthin-rich *Haematococcus pluvialis* algal extract: a randomized clinical trial. *Journal of Medicinal Food*, 6(1), 51-56.
98. Hollinger, J. O. and Kleinschmidt, J. C. (1990). The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *Journal of Craniofacial Surgery*, 1(1), 60-68.
99. Schmitz, J. P. and Hollinger, J. O. (1986). The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clinical Orthopaedics and Related Research* (205), 299-308.
100. Bozkaya, S. (2005). Maksillofasiyal Cerrahide Kritik Boyut Defekti Kavramı. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 6, 49-54.
101. Camacho-Alonso, F., Martinez-Ortiz, C., Plazas-Buendia, L., Mercado-Diaz, A. M., Vilaplana-Vivo, C., Navarro, J. A., Buendia, A. J., Merino, J. J., Martinez-Beneyto, Y. (2020). Bone union formation in the rat mandibular symphysis using hydroxyapatite with or without simvastatin: effects on healthy, diabetic, and osteoporotic rats. *Clinical Oral Investigations*, 24(4), 1479-1491
102. Gothard, D., Smith, E. L., Kanczler, J. M., Rashidi, H., Qutachi, O., Henstock, J., Rotherham, M., El Haj, A., Shakesheff, K. M., Oreffo, R. O. (2014). Tissue engineered bone using select growth factors: A comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man. *European Cells and Materials*, 28, 166-207
103. O'Loughlin, P. F., Morr, S., Bogunovic, L., Kim, A. D., Park, B. and Lane, J. M. (2008). Selection and development of preclinical models in fracture-healing research. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 90(1), 79-84
104. Pinheiro, F. A., Mourao, C. F., Diniz, V. S., Silva, P. C., Meirelles, L., Santos Junior, E. and Schanaider, A. (2014). In-vivo bone response to titanium screw implants anodized in sodium sulfate. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 29(6), 376-382.

105. Ezirganli, S., Kazancioglu, H. O., Mihmanli, A., Aydin, M. S., Sharifov, R. and Alkan, A. (2014). The effect of local simvastatin application on critical size defects in the diabetic rats. *Clinical Oral Implants Research*, 25(8), 969-976.
106. Zhang, Q., Jing, D., Zhang, Y. and Miron, R. J. (2018). Histomorphometric Study of New Bone Formation Comparing Defect Healing with Three Bone Grafting Materials: The Effect of Osteoporosis on Graft Consolidation. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 33(3), 645-652.
107. Barbirato, D. D. S., Fogacci, M. F., Gusman, H., Takiya, C. M., Carvalho, D. P. and Samsone, C. (2018). Hydroxyapatite calvaria graft repair in experimental diabetes mellitus in rats. *The Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 46(9), 1576-1585.
108. van Houdt, C. I. A., Ulrich, D. J. O., Jansen, J. A. and van den Beucken, J. (2018). The performance of CPC/PLGA and Bio-Oss((R)) for bone regeneration in healthy and osteoporotic rats. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(1), 131-142.
109. Liu, X., Bao, C., Xu, H. H. K., Pan, J., Hu, J., Wang, P. and Luo, E. (2016). Osteoprotegerin gene-modified BMSCs with hydroxyapatite scaffold for treating critical-sized mandibular defects in ovariectomized osteoporotic rats. *Acta Biomaterialia*, 42, 378-388.
110. Schortinghuis, J., Ruben, J. L., Raghoobar, G. M. and Stegenga, B. (2004). Ultrasound to stimulate mandibular bone defect healing: a placebo-controlled single-blind study in rats. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(2), 194-201.
111. Lelovas, P. P., Xanthos, T. T., Thoma, S. E., Lyritis, G. P. and Dontas, I. A. (2008). The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comparative Medicine*, 58(5), 424-430.
112. Aciole, J. M., de Castro, I. C., Soares, L. G., Barbosa, A. F., Aciole, G. T., Silveira, L., Jr. and Pinheiro, A. L. (2014). Assessment of the LED phototherapy on femoral bone defects of ovariectomized rats: a Raman spectral study. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 29(3), 1269-1277.
113. Yang, L., Yu, Z., Qu, H. and Li, M. (2014). Comparative effects of hispidulin, genistein, and icariin with estrogen on bone tissue in ovariectomized rats. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 70(1), 485-490.
114. Gomes-Filho, J. E., Wayama, M. T., Dornelles, R. C., Ervolino, E., Coclete, G. A., Duarte, P. C., Yamanri, G. H., Lodi, C. S., Dezan-Junior, E., Cintra, L. T. (2015). Effect of raloxifene on periapical lesions in ovariectomized rats. *The Journal of Endodontics*, 41(5), 671-675.
115. Orsal, E., Halici, Z., Bayir, Y., Cadirci, E., Bilen, H., Ferah, I., Aydin, A., Ozkanlar, S., Ayan, A. K., Seven, B., Ozaltin, S. (2013). The role of carnitine on ovariectomy and

- inflammation-induced osteoporosis in rats. *Experimental Biology and Medicine*, 238(12), 1406-1412.
116. Aydin, A., Halici, Z., Albayrak, A., Polat, B., Karakus, E., Yildirim, O. S., Bayir, Y., Cadirci, E., Ayan, A. K., Aksakal, A. M. (2015). Treatment with Carnitine Enhances Bone Fracture Healing under Osteoporotic and/or Inflammatory Conditions. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 117(3), 173-179.
 117. Balci Yuce, H., Lektemur Alpan, A., Gevrek, F. and Toker, H. (2018). Investigation of the effect of astaxanthin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 53(1), 131-138.
 118. Ohta, H., Ikeda, T., Masuzawa, T., Makita, K., Suda, Y. and Nozawa, S. (1993). Differences in axial bone mineral density, serum levels of sex steroids, and bone metabolism between postmenopausal and age- and body size-matched premenopausal subjects. *Bone*, 14(2), 111-116.
 119. Garnero, P. and Delmas, P. D. (1998). Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 27(2), 303-323.
 120. Raisz, L., Smith, J. A., Trahiotis, M., Fall, P., Shoukri, K., Digennaro, J. and Sacco-Gibson, N. (2000). Short-term risedronate treatment in postmenopausal women: effects on biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos International*, 11(7), 615-620.
 121. Delmas, P. D., Bjarnason, N. H., Mitlak, B. H., Ravoux, A. C., Shah, A. S., Huster, W. J., Draper, M., Christiansen, C. (1997). Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *The New England Journal of Medicine*, 337(23), 1641-1647.
 122. Shiraki, M., Fukunaga, M., Kushida, K., Kishimoto, H., Taketani, Y., Minaguchi, H., Onoue, T., Morita, R., Morii, K., Yamamoto, K., Orimo, H. (2003). A double-blind dose-ranging study of risedronate in Japanese patients with osteoporosis (a study by the Risedronate Late Phase II Research Group). *Osteoporos International*, 14(3), 225-234.
 123. Frost, M. L., Fogelman, I., Blake, G. M., Marsden, P. K. and Cook, G., Jr. (2004). Dissociation between global markers of bone formation and direct measurement of spinal bone formation in osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 19(11), 1797-1804.
 124. El-Baz, F. K., Saleh, D. O., Abdel Jaleel, G. A., Hussein, R. A. and Hassan, A. (2019). *Heamatococcus pluvialis* ameliorates bone loss in experimentally-induced osteoporosis in rats via the regulation of OPG/RANKL pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 116, 109017.

125. Hwang, Y. H., Kim, K. J., Kim, S. J., Mun, S. K., Hong, S. G., Son, Y. J. and Yee, S. T. (2018). Suppression Effect of Astaxanthin on Osteoclast Formation In Vitro and Bone Loss In Vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3).
126. Issa, J. P., do Nascimento, C., Iyomasa, M. M., Siessere, S., Regalo, S. C., Defino, H. L. and Sebald, W. (2008). Bone healing process in critical-sized defects by rhBMP-2 using poloxamer gel and collagen sponge as carriers. *Micron*, 39(1), 17-24.
127. do Nascimento, C., Issa, J. P., Iyomasa, M. M., Regalo, S. C., Siessere, S., Pitol, D. L., de Oliveira Wolga, N., Pedrazzi, V. (2008). Bone repair using mineral trioxide aggregate combined to a material carrier, associated or not with calcium hydroxide in bone defects. *Micron*, 39(7), 868-874.
128. Arosarena, O. A., Falk, A., Malmgren, L., Bookman, L., Allen, M. J., Schoonmaker, J., Tatum, S. A., Kellman, R. (2003). Defect repair in the rat mandible with bone morphogenic proteins and marrow cells. *Archives of Facial Plastic Surgery*, 5(1), 103-108.
129. Marques, L., Holgado, L. A., Francischone, L. A., Ximenez, J. P., Okamoto, R. and Kinoshita, A. (2015). New LLLT protocol to speed up the bone healing process- histometric and immunohistochemical analysis in rat calvarial bone defect. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 30(4), 1225-1230.



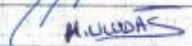
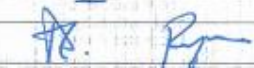
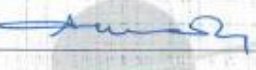
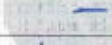
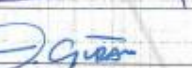
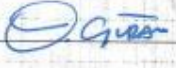
EKLER

EK – 1. Etik kurul onayı



KOBAY
Deney Hayvanları Laboratuvarı

Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.
 I.O.S.B 21. Cd. 520. Sk. No:2/2 Yenimahalle ANKARA
 Tel & Faks: 0 (312) 394 70 94
www.kobay.com.tr

KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI		
BAŞVURU BİLGİLERİ	Protokol Numarası	259
	Protokol Adı	<i>Osteoporoz Oluşturulan Ratlarda İstaksminin Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi</i>
	Başvuru Tarihi	14.12.2017
	Sorumlu Araştırmacı Adı-Unvanı	Prof.Dr.Dilek Aynur Uğar Çankal
	Sorumlu Araştırmacı Çalıştığı Kurum	Gazi Üniversitesi Prof.Dr.Esra Akkol Araş.Gör.Mert İlhan Dt.Ahmet Canpolat
	Yardımcı Araştırmacılar	
KARAR BİLGİLERİ	Onay Numarası	259
	Onay Tarihi	15.01.2018
	Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı	Wistar Albino Rat 60 adet
	Onay Bilgileri	Proje amaç, gerekece, yaklaşım ve yöntem yönünden incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde Etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ	Etik Kurul Başkanı Veteriner Hekim A. Begüm BUĞDAYCI AÇIKKOL	
	Etik Kurul Üyesi Doç.Dr.M.Orhan ULUDAĞ	
	Etik Kurul Üyesi Doç.Dr.Güneş Esenadağlı	
	Etik Kurul Üyesi Dr. Buğra Adil BUYRUKÇU	
	Etik Kurul Üyesi Dr. Can KOŞAL	
	Etik Kurul Üyesi Vet. Hekim Ergun KARAGENC	
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Hekim Salih Salar	
	Etik Kurul Üyesi Didem Yöyen Ermiş	
	Etik Kurul Üyesi Turgut ALTUN	
	Etik Kurul Üyesi Adil Kış	
	Etik Kurul Üyesi Oğuz GÜRAY	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : CANPOLAT, Ahmet
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 28.02.1991, SİNOP
 Telefon : 05457802945
 E-mail : ahmetcanpolat@windowlive.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Lise	Türk Eğitim Vakfı İnanç Türkeş Özel Lisesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017-devam ediyor	Özel Yağmur Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi
2014 – 2017	Özel Başdent Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Canpolat, A. and Çankal, D. (2017). Pain and erythema originated from an unknown impacted third molar in an elderly person: a case report. *Journal of Dentistry and Oral Biology*, 2(14): 1088.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

