



**T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP)
DR-2026-0011**

**WİSTAR ALBİNO SIÇAN NEONATAL MALNÜTRİSYON
MODELİNDE FONKSİYONEL PİNEALEKTOMİ VE
EKSOJEN MELATONİN UYGULAMASININ KEMİK DOKU
GELİŞİMİ VE MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN UZUN
SÜRELİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ali Çağlar TURGUT
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ**

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP)
DOKTORA PROGRAMI
DR-2026-0011

**WİSTAR ALBİNO SIÇAN NEONATAL MALNÜTRİSYON
MODELİNDE FONKSİYONEL PİNEALEKTOMİ VE
EKSOJEN MELATONİN UYGULAMASININ KEMİK DOKU
GELİŞİMİ VE MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN UZUN
SÜRELİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

HAZIRLAYAN
Ali Çağlar TURGUT

DANIŞMAN
Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TPF-23043 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

AYDIN – 2026

KABUL VE ONAY

T.C. AydınAdnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Ali Çağlar TURGUT tarafından hazırlanan “Wistar Albino Sıçan Neonatal Malnütrisyon Modelinde Fonksiyonel Pinealektomi ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Kemik Doku Gelişimi ve Morfolojisi Üzerine Olan Uzun Süreli Etkilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03/02/2026

Üye (T.D.)	: Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL	Ege Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Gülçin Abban METE	Pamukkale Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Türker ÇAVUŞOĞLU	İzmir Bakırçay Üniversitesi	

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle, yoğun tez dönemimde yaptığım deneysel çalışmaların planlanmasında ve yürütülmesinde bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve eğitimim boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ'e

Mesleki bilgi ve tecrübesiyle eğitimim boyunca bana her zaman yol gösteren ve her türlü desteği veren Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN'e ve Prof. Dr. Kemal ERGİN'e,

Özellikle histolojik çalışmaların tamamlanması ve değerlendirilmesinde gösterdiği yoğun destek ve emek için, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyesi Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL ile Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Recep KUTLUBAY'a

Ayrıca, bu tez çalışmasındaki radyolojik tetkiklerin gerçekleştirilmesinde destek sağlayan, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Radyolojii Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Alparslan ÜNSAL'a, laboratuvarında biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesinde ve yorumlanmasında katkı sağlayan, Biyokimya alanında görev yapan Dr. Öğr. Üyesi Ayça TUZCU'ya, vertebra kemik spesmenleri üzerinde kemik mineral yoğunluğu ölçümlerinin gerçekleştirilmesi konusunda destek sağlayan, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Aziz Murat ARGON ile aynı spesmenler üzerinde biyomekanik ölçümlerin yapılmasında katkısı olan, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği bölümünden Doç. Dr. Mahmut PEKEDİŞ'e ve nihayet çalışma sonunda tüm sayısal verilerin istatistiksel olarak değerlendirmesini sağlayan, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim elemanları Prof. Dr. Mevlüt TÜRE ile Dr. Hakan ÖZTÜRK'e ve Anatomi alanında görev yapan Dr. Öğr. Üyesi Eda Duygu İPEK'e,

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi biriminde bana desteklerinden ötürü Prof. Dr. Turhan DOST, Öğr. Gör. Meltem Öztürk AYDIN ile Radyoloji Anabilim Dalından Baş Teknisyen Okan ARSLAN'a, BT teknisyenleri Merve

KAVAS'a ve Fatih ÜZKER ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalından kemik dansitometri teknisyeni Candan Özge CANDAN'a,

Doktora eğitim hayatımda bana destek olan arkadaşlarım Esra Gökmen YILMAZ'a, Bilge YILMAZ'a ve Nur Sevim KALKAN'a,

Son söz olarak, üzüntü ve sevinçlerimi paylaştığım tüm dostlarıma ve geçmişte yaşanan her türlü zorluğa rağmen maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen annem, babam ve abime teşekkürü borç biliyorum.

Dr. Ali Çağlar TURGUT

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xvi
GRAFİKLER DİZİNİ	xx
TABLolar DİZİNİ.....	xxiii
ÖZET	xxv
ABSTRACT	xxvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. MALNÜTRİSYON	4
2.1.1. Tanım.....	4
2.1.2. Etyoloji	4
2.1.3. Risk Grupları	5
2.1.4. Protein-Kalori Malnütrisyonu	6
2.1.5. Protein-Kalori Malnütrisyonu Şekilleri	6
2.1.5.1. Marasmus	7
2.1.5.2. Kwashiorkor	7
2.1.5.3. Marasmik Kwashiorkor	9
2.1.6. Protein-Kalori Malnütrisyonu Ayırıcı Tanısı	9
2.1.7. Deneysel Malnütrisyon Modelleri	10

2.1.8. Malnütrisiyonda Organ ve Vücut Ağırlığı ile Yaşam Süresi	12
2.1.9. Malnütrisiyonda İnflamasyon ve Sitokinlerin Rolü.....	12
2.1.10. Malnütrisiyonda Oksidatif Stres	12
2.1.11. Malnütrisiyonda Antioksidan Savunma Sistemi	13
2.2. Kemik Dokusu	14
2.2.1. Kemik Dokusunun Fonksiyonları.....	16
2.2.2. Kemiğin Anatomik Özellikleri	16
2.2.3. Kemiğin Makroskopik Özellikleri.....	17
2.2.3.1. Trabeküler Kemik.....	18
2.2.3.2. Kortikal (Kompakt) Kemik	18
2.2.4. Kemiğin Mikroskopik Özellikleri	19
2.2.4.1. Doku Düzeyinde Kemik Dokusu.....	19
2.2.4.1.1. İmmatür Kemik	20
2.2.4.1.2. Matür Kemik	20
2.2.4.2. Materyal Düzeyinde Kemik Dokusu	21
2.2.4.2.1. Ekstrasellüler Amorf Ara Madde	21
2.2.4.2.1.1. Organik Maddeler.....	21
2.2.4.2.1.2. İnorganik Maddeler	22
2.2.4.2.2. Kemik Hücreleri	23
2.2.4.2.2.1. Osteoprogenitor Hücre	24
2.2.4.2.2.2. Osteoblast	24
2.2.4.2.2.3. Osteosit	25
2.2.4.2.2.4. Osteoklast	25
2.2.5. Kemik Doku Oluşumu.....	25
2.2.6. Matür Kemiğin Morfolojik Yapısı	26
2.2.6.1. Substantia Compacta	26

2.2.6.2. Substantia Spongiosa.....	26
2.2.6.3. Medulla Ossium.....	27
2.2.7. Uzun Kemiklerin Anatomik Yapısı.....	27
2.2.8. Kemiğin Zarları	27
2.2.9. Kemik Doku Fizyolojisi	28
2.2.9.1. Hücresel Mekanizmalar.....	28
2.2.9.1.1. Osteoblastların Biyolojisi	29
2.2.9.1.2. Osteoklastların Biyolojisi	30
2.2.9.1.3. Osteositlerin Biyolojisi	32
2.2.9.2. Hormonal Mekanizmalar.....	33
2.2.10. Kemik Adaptasyonu	35
2.2.10.1. Mekanik İletim	35
2.2.10.2. Kemik Dokuda “Modeling” Süreci	36
2.2.10.3. Kemik Dokuda “Remodeling” Süreci	38
2.2.10.4. Kemik Dokusu Degradasyonu.....	41
2.2.11. Kemik Dokusu Gücünün Değerlendirilmesi	42
2.2.12. Biyokimyasal Belirteçler	45
2.2.13. Malnütrisyon, İnflamasyon ve Osteoporoz İlişkisi	47
2.3. Epifiz Bezi ve Melatonin.....	48
2.3.1. Terminoloji	48
2.3.2. Felsefe.....	49
2.3.3. Anatomi	49
2.3.4. Histoloji	49
2.3.4.1. Pinealosit	50
2.3.4.2. Astrosit ve Mikroglia.....	51
2.3.4.3. Peptiderjik Nöron-Benzeri Hücreler.....	51

2.3.4.4. Sinir Sonlanmaları	52
2.3.5. Göze Işık Sinyali Gelmesi Sonrası “Fototransdüksiyon” Aşamaları	52
2.3.6. Retinadan Epifiz Bezine Işık Uyarını “Fotoreseptör” Aşamaları	53
2.3.7. Epifiz Bezinin Nöral Traktusları	54
2.3.8. Epifiz Bezinin Mineralleri	54
2.3.9. Epifiz Bezinin Fonksiyonları	54
2.3.10. Epifiz Bezi ve Sirkadiyen Ritm	55
2.3.11. Epifiz Bezi Fonksiyonlarını Etkileyen Çeşitli Faktörler	56
2.3.12. Melatonin	57
2.3.13. Melatoninin Osteogenez Üzerine Olan Etkileri	61
2.3.14. Sıçanlarda Pinealektomi İşlemi ve Sonuçları	62
3. GEREÇ VE YÖNTEM	64
3.1. Deney Hayvanları ve Ortam Koşulları	64
3.2. Sıçan Neonatal Malnütrisyon Modeli ve Deney Grupları	64
3.3. Radyolojik Değerlendirme	68
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	68
3.5. Kranium ve Lomber Vertebra Spesmenlerinin Hazırlanması	69
3.6. Lomber Vertebra Kemik Mineral Yoğunluğu Değerlendirmesi	71
3.7. Lomber Vertebra Biyomekanik Değerlendirmesi	72
3.8. Kranial Morfometrik Değerlendirme	74
3.9. Kemik Dokusunun Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi	76
3.9.1. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Yöntemler	77
3.9.1.1. Işık Mikroskobu İçin Kesit Alma	78
3.9.1.2. Histokimyasal Yöntem	78
3.9.2. İmmünohistokimyasal Yöntem	80
3.9.3. Mikroskobik Değerlendirme Yöntemleri	82

3.9.3.1. Morfometrik Analiz	82
3.9.3.1.1. Kranial Diploe Kalınlık Ölçümü	82
3.9.3.1.2. Kranial Laküna Analizi	83
3.9.3.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	84
3.10. İstatistiksel Analiz	85
4. BULGULAR	86
4.1. Makroskopik Analiz Bulguları	86
4.1.1 Vücut Ağırlığı Ölçümü	86
4.1.2. Lomber Vertebra Kemik Yoğunluk Histogram Analizi	89
4.1.3. Kranium Morfometrik Ölçüm Sonuçları	91
4.2. Lomber Vertebra Kemik Mineral Yoğunluğu Analizi	94
4.3. Lomber Vertebra Biyomekanik Kompresyon Testi Sonuçları	95
4.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları	97
4.5. Mikroskopik Analiz Bulguları	100
4.5.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları	100
4.5.1.1. Kranial Kemik Doku Kalitatif Değerlendirmesi	101
4.5.1.2. Kranial Kemik Doku Histomorfometrik Analizi	103
4.5.1.3. Lomber Vertebra Kemik Doku Kalitatif Değerlendirmesi	105
4.5.2. İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları	108
4.5.2.1. Kranial Kemik Doku Anti-Osteonektin Boyama Bulguları	108
4.5.2.2. Kranial Kemik Doku Anti-Sialoprotein Boyama Bulguları	110
4.5.2.3. Kranial Kemik Doku Osteonektin ve Kemik Sialoprotein İmmünoreaktive Skorları	113
5. TARTIŞMA	115
5.1. Malnütrisyonunda Kraniospinal Kemik Doku Gelişimi ve Morfolojik Değişiklikler	115
5.2. Malnütrisyon Sonrası Ortaya Çıkan Telafi Edici (Yakalayıcı) Kraniospinal Kemik Doku Değişiklikleri	116

5.3. Malnütrisyonda Kraniospinal Kemik Doku Değişiklikleri Üzerine Fonksiyonel Pinealektomi ve Melatonin Etkisi	117
5.4 Çalışmanın Güçlü Yönleri ve Kısıtlamaları	121
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	123
KAYNAKLAR.....	125
EKLER	153
BİLİMSEL ETİK BEYANI	154
ÖZ GEÇMİŞ	155

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

3-D	: 3-boyutlu (3-D)
5-HT	: 5-hidroksitriptamin
6-OHDA	: 6-hydroxydopamine
ALP	: Alkalen fosfataz
BMD	: Kemik mineral yoğunluğu
BMP-2	: Kemik morfogenetik protein-2
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BSP	: Kemik sialoproteini
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CTX-I	: C-terminal telopeptid tip I kollajen
DEXA	: Çift enerjili X-ışını absorpsiyometrisi
DMT	: Di-metiltriptamin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent analiz
EMA	: Elektromanyetik alan
ER	: Endoplazmik retikulum
F⁻	:Florür
H-E	: Hematoksilen-eozin
IL-6	: İnterlökin-6
IL-10	: İnterlökin-10
MD	: Multi dedektörlü
MKH	: Mezenkimal kök hücreleri
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme

MT	: Melatonin
NA	: Noradrenalin
NAT	: N-asetiltransferaz
OCN	: Osteokalsin
ON	: Osteonektin
OPN / OSP	: Osteopontin
p-CPA	: Parachlorophenylalanine
PKM	: Protein-kalori malnütrisiyonu
PND0	: Doğum günü
PTH	: Paratiroid hormonu
Px	: Pinealektomi
PVN	: Paraventriküler nukleus
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SCN	: Suprakiazmatik nukleus
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Malnütrisyon etyolojisini ve sonuçlarını özetleyen bu şekil (Rytter ve diğerleri, 2014)’den değiştirilerek alınmıştır.	5
Şekil 2.2. Serbest radikaller antioksidanlar arasındaki dengesizlik neticesinde ortaya çıkan oksidatif stres hali. [Bu şekil, (Ighodaro ve Akinloye, 2018)’den değiştirilerek alınmıştır].....	14
Şekil 2.3. Anatomik olarak kemik tipleri [Bu şekil, (https://www.besyohaber.net/hareket-sistemi-ve-kemik-cesitleri-kemik-tipleri/)’den alınmıştır]	17
Şekil 2.4. Doku düzeyinde kemik doku mikroskobisi: immatür ve matür kemik dokusu [Bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)’den alınmıştır].....	19
Şekil 2.5. Kemik doku hücreleri: osteosit, osteoblast, osteoklast ve osteojenik kök hücreler [Bu şekil, (http://adliantropoloji101.blogspot.com/2017/07/kemik-doku-histolojisine-giris-2.html)’den alınmıştır]	23
Şekil 2.6. Osteoblastogenez ve pro-inflamatuar sitokinlerin rolü. (A) Normal koşullar altında, osteoblastlarda çeşitli reseptörler ve aşağı akış sinyal yolları aktive edilebilmekte olup, en yaygın ligandlar, reseptörler ve sinyal iletimleri (siyah renkli) gösterilmiştir. Buna karşın, PKM gibi bir enflamasyon hali mevcudiyetinde ise, pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-6, IL-1 ve TNF- α) salınımı sonucu çeşitli mekanizmalar yoluyla osteojenik farklılaşmanın inhibe olması (yeşil renkli) gösterilmiştir. (B) Pro-inflamatuar sitokinler, BMP-2, Osx, Runx2, OCN ve Wnt yolunun ekspresyonunda artışa sebep olmak suretiyle, NF- κ B aracılığıyla osteojenik farklılaşmayı sağlamaktadır. Kısaltmalar: AP-1, aktivatör protein 1; BMPR, BMP reseptörü; ERK, hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz; FGF, fibroblast büyüme faktörü; gp130, glikoprotein 130; IL-6R, IL-6 reseptörü; JAK, Janus kinaz; JNK, JUN N-terminal kinaz; LRP5-6, düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne bağlı protein 5 veya 6; Osx, osterix (Sp7); OPG, osteoprotegerin; ALP, alkalın fosfat; BSP, kemik sialoproteini; OPN, osteopontin; OCN, osteokalsin; p38, p38 MAPK [Bu şekil, (Osta ve diğerleri, 2014)’den alınmıştır]	30

Şekil 2.7. Osteoklastogenez ve pro-inflamatuar sitokinlerin rolü. Hematopoetik kök hücreler farklılaştıktan sonra, RANKL'nin etkisi altında osteoklast fenotipine doğru ilerleyerek, RANKL, transkripsiyon faktörleri AP-1 ve NF- κ B aracılığıyla sinyal vermektedir. RANKL varlığında, pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-6, IL-1 ve TNF- α), osteoklast oluşumunu artırmak için işbirliği içinde çalışmaktadır. Kısaltmalar: AKT, protein kinaz B; CA2, karbonik anhidraz 2; CSK, katepsin K; ERK, hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz; IKK, I κ B kinaz; JAK, Janus kinaz; gp130, glikoprotein 130; GRB2, büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2; MITF, mikroftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörü; MMP, matriks metalloproteinaz; NFATc1, aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü, sitoplazmik 1; PI3K, fosfoinositid 3-kinaz; SPI1, dalak odak oluşturan virüs (SFFV) proviral entegrasyon onkogeni spi1; STAT, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü; TRAP, tartrata dirençli asit fosfataz [Bu şekil, (Osta ve diğerleri, 2014)'den alınmıştır]..... 31

Şekil 2.8. Mekanotransdüksiyon: Kemik dokusunun hiyerarşik yapısı ve osteositlerin özellikleri (solda), hidrostatik basınçtan ve içinden geçen sıvı akışı ve biyokimyasal sinyaller tarafından indüklenen osteoprogenitor hücreler (sağda) görülmektedir [(Chen ve diğerleri, 2010)'dan uyarlanarak hazırlanmış olan bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den alınmıştır]..... 35

Şekil 2.9. Kemik kütlesi değişikliklerinin göstergesi olan kemik mineral dansitesinin kazanılması, yaşam süresi boyunca sürdürülmesi ve kaybedilmesi. Ergenlik yıllarında toplam yetişkin kemik kütlelerinin yaklaşık % 50-60'ının yaklaşık 30 yaşından önce kazanılmış olduğuna ve en yüksek kemik kütlesi değerine ulaşıldıktan sonra, normal (yeşil renkli olarak gösterilmiş olan), osteopenik (sarı renkli olarak gösterilmiş olan) veya osteoporotik (kırmızı renkli olarak gösterilmiş olan) kemiğin dansitesi aralıklarının her biri için, ileri yaşlara doğru kademeli olarak kemik kütle değerinin bir azalma gösterdiğine dikkat ediniz. Kısaltmalar: BMD, kemik mineral yoğunluğu [Bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den alınmıştır] 37

- Şekil 2.10.** Hücresel düzeyde, remodeling sürecinin şematik görünümü. Osteoporoz (solda), osteositler arasındaki kanaliküllerin birbirinden ayrılarak “osteosit apoptozu”na yol açan bir mikro çatlak tarafından uyarılmaktadır. Astar hücreleri ve osteositler, hücreleri kan ve kemik iliği rezervuarlarından çekmek suretiyle osteoklastogeneze yol açan hasarlı bölgeye sinyal göndermektedir. Kemik oluşumu (sağda), yeni lameller kemiğe çok sayıda osteoblast akışıyla başlamakta ve bu osteoblastlar daha sonra ekstrasellüler astar hücrelerine ya da kemik matrisine gömülü halde olan osteositlere dönüşmektedir [Bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den alınmıştır]..... 39
- Şekil 2.11.** Kemiğin özelliklerini değerlendirmek için gerekli teknolojiler (sağda) ile birlikte kemiğin gücünün veya kırılabilirliğinin materyal (malzeme) ve strüktürel (yapısal) belirleyicileri (solda); makroskopik, mikroskopik ve nanoskopik olarak (yukarıdan aşağıya) gösterilmiştir [(Fonseca ve diğerleri, 2014)'den uyarlanarak hazırlanmış olan bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den alınmıştır]..... 44
- Şekil 2.12.** Epifiz bezinin anatomik yapısı [Bu şekil, (Tapp ve Huxley, 1972)'den alınmıştır]..... 49
- Şekil 2.13.** Pinealosit hücre yapısı şematik olarak gösterilmiştir [Bu şekil, (Sahai ve Sahai, 2013)'den alınmıştır]..... 50
- Şekil 2.14.** Göze ışık sinyali gelmesi sonrası “fototransdüksiyon” aşamaları şematize edilerek gösterilmiştir [Bu şekil, (Standring, 2008)'den alınmıştır] 52
- Şekil 2.15.** Göze ışık sinyali gelmesi sonrası “fototransdüksiyon” aşamaları şematize edilerek gösterilmiştir [Bu şekil, (Sahai ve Sahai, 2013)'den alınmıştır] 53
- Şekil 2.16.** Epifiz bezinin içinde yer aldığı sirkadiyen ritm ile ilişkili anatomik yapılar şematik olarak gösterilmiştir. Kısaltmalar: MRGC melanopsin içeren retinal ganglion hücreleri; RTH, retino-hipotalamik traktus; SCN, suprakiazmatik nükleus; PVN, paraventriküler nükleus; IMCC, intermediolateral hücre kolonu; SCG, sempatik servikal ganglion; PG, epifiz bezi; Mel, melatonin [Bu şekil, (Tan ve diğerleri, 2018)'den alınmıştır] 56
- Şekil 2.17.** MT nörohormonunun biyokimyasal yapısı [Bu şekil, (Sener, 2010)'dan alınmıştır]..... 57

Şekil 2.18. Triptofan'dan MT sentez basamaklarını özetleyen şematik çizim. Kısaltmalar: NA, noradrenalin (norepinefrin); SCN, suprakiazmatik nukleus; PVN, paraventriküler nukleus. [Bu şekil, (Sener, 2010)'dan alınmıştır]	57
Şekil 2.19. Karanlıkta, kan dolaşımında ve 3. ventrikül içinde bulunan beyin omurilik sıvısında ölçülen MT düzeyleri karşılaştırmalı olarak görülmektedir [Bu şekil, (Tan ve diğerleri, 2016)'dan alınmıştır]	59
Şekil 2.20. MT'nin kemik yapımı ve yıkımı üzerine olan etkileri şematik olarak gösterilmiştir. Kısaltmalar: ALP, alkalen fosfataz; PTH, paratiroid hormon; OSP, osteopontin; OCN, osteokalsin; OPG, osteoprotegerin; TRAP, tartarat dirençli asit fosfataz; CTR, kalsitonin reseptörü; BMP, kemik morfogenetik protein [Bu şekil, (Maria ve Witt-Enderby, 2014)'den alınmıştır]	61
Şekil 3.1. Sıçan neonatal PKM modelinde fonksiyonel Px ve eksojen MT uygulamasının kemik doku (kranium ve vertebra) gelişimi ve morfolojisi üzerine olan uzun süreli etkilerinin değerlendirildiği deneysel çalışmadaki deney grupları ve uygulanan tedavi şeması	66

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 3.1.** (A) Laboratuvarında değişik deney gruplarındaki sıçanlar farklı kafeslerde tutulduğu görülmektedir. (B) Deneklerin vücut ağırlıklarının PND0'dan başlayarak sakrifikasyon aşamasına kadar üçer haftalık zaman periyotlarında düzenli bir şekilde ölçülüp kayıt altına alınması görülmektedir. (C) Sakrifikasyon işlemi öncesi her gruptan ve her iki cinsiyetten (dişi ve erkek) birer sıçanın rastgele seçilip, ketamin-HCl ve ksilazin enjeksiyonu yapılarak genel anestezi prosedürünün uygulanması görülmektedir. (D) Anestezi altındaki deneklerin 3-D lomber vertebra görüntüleri ile L3 vertebra korpusuna ait yoğunluk histogram profilleri elde olunmak üzere, 160 MDBT cihazına alınması görülmektedir. (E) Daha sonra makroskobik ve mikroskobik değerlendirmeler yapılacak olan lomber vertebra (LV2-LV5)'nin 3-D MDBT görüntüsü görülmektedir. (F) Daha sonra gerçekleştirilecek biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere deneklerinden birinden 5 cc'lik enjektör kullanılarak intrakardiyak yoldan kan örneği alınması görülmektedir. Kısaltmalar: PND0, doğum sonrası 0. gün; 3-D, 3 boyutlu; MDBT, multi dedektörlü bilgisayarlı tomografi 67
- Resim 3.2.** Deneysel işlem sonrası bir deneğin “dekapitasyon yöntemi”yle sakrifiye edilmesi prosedürü görülmektedir. 70
- Resim 3.3.** Sakrifikasyonu sonrasında cerrahi diseksiyon işlemi yapılarak elde olunan bir sıçan kraniumuna ait dorsal (A), ventral (B), anterior (C), posterior (D) ve lateral (E) eksen görünimleri görülmektedir. 70
- Resim 3.4.** (A-D) Deney sonunda sakrifikasyon işlemi sonrasında, dorsal cilt insizyonu ve median fasiyal işaretleme yapıldıktan sonra, makas kullanılarak L2-L5 lomber vertebral kolon spesmeninin “en blok” rezeksiyonu görülmektedir. 71
- Resim 3.5.** Deneklerden birine ait lomber vertebral kolon (LV2-LV5) spesmeninin DEXA cihazına (Hologic QDR-4500A, Hologic Inc., Waltham, MA, USA) yerleştirilmesi ve BMD ölçülmesi işlemi görülmektedir. 72

- Resim 3.6.** Lomber vertebra (LV3) biyomekanik kompresyon test düzeneği (A, B) ve yarı statik kompresyon yükleme testi kullanılarak her bir LV3 spesmen örneğinde gözlemlenen bir tipik ölçüm örneği (C) görülmektedir..... 73
- Resim 3.7.** Her bir deneğe ait kranium spesmenleri üzerinde, yanılma payı ± 0.02 mm olan bir kumpas (vernier caliper) kullanılarak gerçekleştirilmiş olan bir ölçüm örneği görülmektedir.. 74
- Resim 3.8.** Işık mikroskopik incelemeler yapılmak üzere 5 μ m kalınlığında kesitlerin hazırlanmasında kullanılan mikrotom (Leica RM 2145) ve sıcak su banyosu düzeneği görülmektedir. 79
- Resim 3.9.** Sıçan kraniumu üzerinde, “diploe kalınlık ölçümü” ve “laküna analizi” yapılmak üzere seçilmiş olan “lambda” anatomik noktasına komşu 3 farklı kortikal kemik alanı (kırmızı noktalar şeklinde) (A) ile bu kemik alanlarına ait kesitlere ait histolojik görüntü (4x büyütme bar 200 μ m H&E) (B) görülmektedir..... 82
- Resim 3.10** Kranial “laküna analizi” yapılmak üzere, farklı deney gruplarındaki her iki cinsiyette (dişi ve erkek) deneklerin kranial “lambda” anatomik noktasını sınırlayan komşu oksipital kemik ile sağ parietal ve sol parietal kemiklerin kortikal alanından hazırlanmış olan H-E boyamalı görüntüler görülmektedir. (A) Dişi cinsiyette denekler: A1 kontrol, A2 PKM, A3 PKM+Px, A4 PKM+MT. (B) Erkek cinsiyette denekler: B1 kontrol, B2 PKM, B3 PKM+Px, B4 PKM+MT. Görüntü analizleri, açık kaynaklı ImageJ (Fiji, NIH, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Görüntülerin kalibrasyonu, mikroskop ölçeği referans alınarak 20 μ m gerçek dünya birimine ayarlanmış ve nicel sayıma hazırlanmıştır (siyah üçgen, dolu laküna; siyah ok, boş laküna). 83
- Resim 4.1.** Kontrol (A), PKM (B), PKM+Px (C) PKM+MT (D) gruplarındaki dişi sıçanların lomber vertebra kemik yoğunluk histogramlarına örnekler. Kontrol ve PKM+MT gruplarındaki hayvanlarda “spike profili” görülürken, PKM ve PKM+Px gruplarındaki hayvanlarda vertebraların mineralizasyonunun azaldığını gösteren “plato profili” görülmektedir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin..... 90

- Resim 4.2.** Kontrol (A), PKM (B), PKM+Px (C) PKM+MT (D) gruplarındaki erkek sıçanların lomber vertebra kemik yoğunluk histogramlarına örnekler. Kontrol ve PKM+MT gruplarındaki hayvanlarda “spike profili” görülürken, PKM ve PKM+Px gruplarındaki hayvanlarda vertebraların mineralizasyonunun azaldığını gösteren “plato profili” görülmektedir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin..... 90
- Resim 4.3.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünüşleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Hematoksilen-Eosin boyama..... 101
- Resim 4.4** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Erkek deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünüşleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Hematoksilen-Eosin boyama..... 102
- Resim 4.5.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin lomber vertebra dokularının histopatolojik görünüşleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Hematoksilen-Eosin boyama..... 106
- Resim 4.6.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT) grubu. Erkek deneklerin lomber vertebra dokularının histopatolojik görünüşleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Hematoksilen-Eosin boyama..... 107
- Resim 4.7.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünüşleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Anti-ON boyama. 108

- Resim 4.8.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Erkek deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Anti-ON boyama. 109
- Resim 4.9.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Anti-BSP boyama. 111
- Resim 4.10.** (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Erkek deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Anti-BSP boyama. 112

GRAFİKLER DİZİNİ

- Grafik 4.1** Vücut ağırlığındaki ölçüm sonuçları. PND0'dan başlayan ve toplam 21 hafta devam eden bu deneysel çalışmada, üçer hafta arayla yapılmış ölçüm sonuçları (BW1-BW7) görülmektedir. Kontrol grubu ile PKM'ye uğratılan gruplar için başlangıçtan dördüncü üç haftalık periyot sonuna kadar yapılmış olan vücut ağırlığı ölçümleri (BW1-BW4) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın mevcut olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p=0,001$ ve $p=0,027$). Her bir gruba ait vücut ağırlığı ölçüm sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PND0, doğum sonrası 0. gün; PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin. 89
- Grafik 4.2.** Makroskobik kranial morfolometrik analiz yükseklik (A), uzunluk (B) ve genişlik (C) ölçüm sonuçları. Her bir gruba ait kranium yükseklik, uzunluk ve genişlik ölçüm sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Morfolometrik analizler arasında yer alan L2, L5 ve W4 ölçümleri dışında kalan tüm ölçüm sonuçları için, kontrol grubu ile PKM grupları (PKM grubu, PKM+Px grubu ve PKM+MT grubu) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin; H, yükseklik; L, uzunluk; W, genişlik..... 91
- Grafik 4.3** Deney gruplarına göre sıçan lomber vertebra (L2-L5) BMD ölçüm sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerde BMD değerlerinin daha düşük olduğuna ve gruplar arasında en düşük değere sahip olan grubun ise, PKM+Px grubu olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait lomber vertebra (L2-L5) BMD sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: BMD, kemik mineral yoğunluğu; PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin.. 94

Grafik 4.4 Deney gruplarına göre, lomber vertebra (LV3) kemiği biyomekanik analiz sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı gruplarda, hem maksimum kuvvet hem de rijidite ölçüm sonuçlarının, kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğuna ve tüm gruplar arasında en düşük maksimum kuvvet ve rijidite değerlerine sahip grubun PKM+Px grubu olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait lomber vertebra (L3) biyomekanik kompresyon testi sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin. 96

Grafik 4.5 Deney gruplarına göre serum IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeyi sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı gruplarda hem proinflatuar (IL-6 ve TNF- α) ve hem de anti-inflatuar (IL-10) sitokin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğuna ve tüm gruplar arasında en yüksek değerlerine sahip grubun ise PKM+Px grubu olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeyi sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: IL-6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF- α , tümör nekroz faktörü alfa; PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin. 98

Grafik 4.6 Deney gruplarına göre, serum OCN ve CTX-I düzeyi sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerde kemik yapımı ve yıkımı gibi kemik metabolizmasıyla ilgili belirteçler arasında yer alan OCN düzeylerinin, kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğuna, buna karşın CTX-I düzeylerinin ise daha yüksek olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait OCN ve CTX-I düzeyi sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: OCN, osteokalsin; CTX-I, C-terminal telopeptid tip I kollajen; PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin..... 100

Grafik 4.7 Deney gruplarına göre mikroskopik kranium diploe kalınlığı ölçüm sonuçları. Başta PKM+Px grubu olmak üzere, PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı tüm gruplarda, kontrol grubuna kıyasla, kranium diploe kalınlığında azalma olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait kranium diploe kalınlığı değerleri (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin..... 103

Grafik 4.8 Deney gruplarına göre mikroskobik kranium boş laküna % oranı değerleri.

Başta PKM+Px grubu olmak üzere, PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı tüm gruplarda, kontrol grubuna kıyasla, kranium boş laküna % oranı değerlerinde artış olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait kranium boş laküna % oranı değerleri (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin. 104

Grafik 4.9. Gruplara göre kranial kemik doku osteonektin (ON) ve kemik sialoprotein

(BSP) ekspresyonları kıyaslandığında, immünoreaktif değerinin başta PKM+Px grubunda olmak üzere, PKM gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmış olduğu, buna karşın PKM+MT grubunda artış gösterdiği ve kontrol grubuna yakın bir değere ulaştığı dikkati çekmektedir. Her bir gruba ait ON ve BSP immünoreaktif skoru (0-3) değerleri (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin. 114

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1 Marasmus ve Kwashiorkor klinik belirti ve bulguları ile laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması	8
Tablo 2.2. Protein-kalori malnütrisiyonu (PKM) ağırlığının puanlandırılması.	9
Tablo 2.3. Kemik dokunun fonksiyonları	16
Tablo 2.4. Kemik dokunun temel öğeleri	23
Tablo 2.5. Kemik mikroskobik yapısı.....	28
Tablo 2.6. Kemik metabolizmasının endokrin düzenlenmesi.....	34
Tablo 2.7. Yetişkinde kemik remodeling süreci	40
Tablo 2.8. Serum ve idrar örneklerinde kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonu süreçleri değerlendirilmesi için kullanılan kemik metabolizmasına ait biyokimyasal belirteçler	46
Tablo 3.1. Deney grupları	66
Tablo 3.2. Sıçan kraniumuna ait morfometrik analizlerde kullanılan anatomik parametreler.	75
Tablo 3.3. Işık mikroskobu doku takip protokolü.....	78
Tablo 3.4. Hematoksilen-eozin (H-E) boyama protokolü.....	79
Tablo 3.5. Asit alkol solüsyonu.....	80
Tablo 3.6. Amonyaklı su solüsyonu.....	80
Tablo 3.7. İmmünohistokimyasal boyama için gerekli işlem basamakları.....	81
Tablo 4.1. Deney gruplarına göre farklı zaman periyotlarındaki vücut ağırlığı ölçüm sonuçları.....	87
Tablo 4.2. Deney gruplarına göre makroskobik kranial morfometrik analiz sonuçları.....	92
Tablo 4.3. Deney gruplarına göre sıçan lomber vertebra (L2-L5) BMD sonuçları	95

Tablo 4.4. Deney gruplarına göre lomber vertebra (LV3) kemiği biyomekanik analiz sonuçları.....	97
Tablo 4.5. Deney gruplarına göre ELISA testleri sonuçları	99
Tablo 4.6. Deney gruplarına göre mikroskopik kranium diploe kalınlığı, kranium total laküna sayısı, kranium boş laküna sayısı ve kranium boş laküna % oranı değerleri	105
Tablo 4.7. Deney gruplarına göre kranial kemik dokusuna ait ON ve BSP immünoreaktif değerleri.....	113

ÖZET

WİSTAR ALBİNO SIÇAN NEONATAL MALNÜTRİSYON MODELİNDE FONKSİYONEL PİNEALEKTOMİ VE EKSOJEN MELATONİN UYGULAMASININ KEMİK DOKU GELİŞİMİ VE MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN UZUN SÜRELİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Turgut AÇ. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Aydın, 2026.

Amaç: Günümüzde, özellikle gelişmekte olan ülkelerde sık görülen bir sağlık sorunu olan postnatal malnütrisyonunda kemik dokuda ortaya çıkan değişiklikler hala yeterince aydınlığa kavuşturulamamıştır. Bu çalışmada, laktasyon döneminde malnütrisyonu uğratılmış sıçanlarda, fonksiyonel Px ve eksojen MT uygulanması sonrasında kranium ve lomber vertebra kemiklerinin gelişiminde ve morfolojisinde ortaya çıkan değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Anne sıçanlar ile birlikte tutulan ve çoğaltılmış yavru malnütrisyon modeli kullanılan her iki cinsiyetten toplam 72 adet yavru sıçan 4 eşit gruba (kontrol, PKM, PKM+Px ve PKM+MT) ayrılmıştır. Laktasyon dönemi sonrasında standart diyetle beslenen sıçanlarda 21 haftalık deney süresi sonunda DEXA ve BT cihazlarında lomber vertebra kemik ve mineral yoğunluk ölçümleri yapılmış, ELISA tekniği kullanılarak serum IL-6, IL-10, TNF- α , OCN ve CTX-I düzeyleri analiz edilmiştir. Sakrifiye edilen deneklerin vertebra spesmenlerinde biyomekanik mukavemet testleri uygulanmış, kraniumlarında morfometrik ölçümler yapılmış ve dokular histolojik olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Bulgular topluca değerlendirildiğinde, başta PKM+Px olmak üzere, PKM'ye uğratılmış deneklerin vücut ağırlığı ve kranium gelişiminde gerilik ile lomber vertebra kemik yoğunluğunda ve dayanıklılığında azalma görülürken, biyokimyasal inflamatuvar sitokin aktivitelerinde ve histolojik olarak metabolik kemik döngüsünde rezorbsiyon yönünde anlamlı artış saptanmıştır ($p < 0,005$). Diğer yandan, PKM+MT grubunda ise, mevcut bulgularda kısmi bir düzelme dikkati çekmiştir.

Sonuç: Ucuz, kolay ve tekrarlanabilir olan sıçan neontal PKM modelinde, erişkin sıçanların kranium ve vertebra kemik dokularında ortaya çıkan değişikliklerin insanlardaki osteoporoza benzerlik gösterdiği görülmüştür. PKM'ye uğratılmış sıçanlarda, PKM sonrasında kemik gelişimi ve morfolojisinde uzun vadede ortaya çıkan telafi edici etkilerin sinerjik olarak uyarılmasında ve kemik rezorpsiyonunun engellenmesinde eksojen MT uygulamasının koruyucu ve destekleyici bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Kafatası, Melatonin, Omurga, Protein-kalori malnütrisiyonu, Sıçan.

ABSTRACT

EVALUATION OF LONG-TERM EFFECTS OF FUNCTIONAL PINEALCOTOMY AND EXOGENOUS MELATONIN APPLICATION ON BONE TISSUE DEVELOPMENT AND MORPHOLOGY IN THE WISTAR ALBINO RAT NEONATAL MALNUTRITION MODEL

Turgut AÇ. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute Department of Histology and Embryology (Medicine) PhD Thesis, Aydın, 2026.

Objective: Currently, the changes occurring in bone tissue due to postnatal malnutrition, a common health problem especially in developing countries, are still not fully understood. This study aimed to investigate the changes in the development and morphology of cranial and lumbar vertebral bones in malnourished rats subjected to functional Px and exogenous MT during lactation.

Material and Metod: A total of 72 pups of both sexes, kept with their mothers and using model with offspring the undernourished by increasing litter size, were divided into 4 equal groups (control, PCM, PCM+Px, and PCM+MT). After the lactation period, the rats were fed a standard diet, and at the end of the 21-week experiment, lumbar vertebral bone and mineral density measurements were performed using DEXA and CT devices, and serum IL-6, IL-10, TNF- α , OCN, and CTX-I levels were analyzed using ELISA technique. Biomechanical strength tests were performed on the vertebral specimens of the sacrificed subjects, morphometric measurements were taken in their cranium, and the tissues were evaluated histologically.

Results: When the findings were evaluated collectively, subjects who underwent PCM, especially those in the PCM+Px group, showed retardation in body weight and cranial development, as well as a decrease in lumbar vertebral bone density and strength, while a significant increase in biochemical inflammatory cytokine activity and histological resorption in metabolic bone turnover was detected ($p < 0,005$). On the other hand, a partial improvement in the existing findings was observed in the PCM+MT group.

Conclusion: In the inexpensive, easy, and reproducible rat neonatal PCM model, the changes observed in the cranial and vertebral bone tissues of adult rats were found to be similar to osteoporosis in humans. This suggests that exogenous MT administration plays a protective and supportive role in synergistically stimulating the long-term compensatory effects on bone development and morphology, and in reduction of bone resorption in PCM-treated rats.

Key words: Melatonin, Protein-calorie malnutrition, Rat, Skull, Vertebra.

1. GİRİŞ

Günümüzde, “malnütrisyon” olarak adlandırılan yetersiz beslenme, gelişmekte olan ülkelerde çocuklar arasında en yaygın beslenme bozukluğudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, özellikle çocukluk çağı malnütrisyonu tüm dünya için önemli bir sağlık sorunudur (de Onís ve diğerleri, 1993). İnsanlarda, normal gelişme ve büyüme için özellikle gebelik ve laktasyon dönemlerinde yeterli protein alınması son derece önemlidir (Desai ve diğerleri, 1980; de Onís ve diğerleri, 1993; Fernandes ve diğerleri, 2008; Pires ve diğerleri, 2020). Perinatal dönem olarak bu kritik döneme ait protein-kalori malnütrisyonu (PKM) durumunda en fazla etkilenen yapılardan biri kraniofasiyal bölge ve vertebral kolon olmasına karşın, bu konudaki bilimsel çalışmalar hala yeterli değildir (Pucciarelli ve Oyhenart, 1987; Miller ve German, 1999; Fernandes ve diğerleri, 2008; Pires ve diğerleri, 2020). 1954’de, Baer (1954) sıçanlarda kafatası kemiklerinde postnatal dönemde ilk 20 gün içinde çok hızlı bir büyüme olduğunu bildirmiştir (Baer, 1954). Daha sonra, bazı araştırmacılar, erken postnatal dönemde alınan protein ve kalori miktarının yeterli olmaması durumunda kraniofasiyal bölgede kemik formasyonu ve kalsifikasyonu ile ilişkili olarak hayat boyu devam eden bazı kalıcı strüktürel ve fonksiyonel değişiklikler ortaya çıktığını rapor etmişlerdir (Nakamoto ve Miller, 1979; Alippi ve diğerleri, 2002; Fernandes ve diğerleri, 2008; Pires ve diğerleri, 2020). PKM’de, osteoblastik aktivitenin azalmasına karşın osteoklastik aktivitede artış olması neticesinde, osteojenik ve osteoklastik mekanizmalar arasında bir dengesizlik hali ortaya çıkmaktadır (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, 2001; Zou ve diğerleri, 2020; Ren ve diğerleri, 2023). Sonuçta, kemik yıkımının yapımdan daha fazla olmasıyla karakterize “osteoporoz” adı verilen kemik doku hastalığı ortaya çıkmakta, trabeküler kemik yapısı bozulmakta, kemiğin mineral yoğunluğu azalmakta ve fraktür riski artmaktadır (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, 2001; Zou ve diğerleri, 2020; Ren ve diğerleri, 2023). Son yıllarda, bazı araştırmacılar adiposit ve osteoblast adı verilen hücrelerin kemik iliğinde bulunan mezenkimal kök hücreleri (MKH)’den farklılaşmakta olduğunu ve kemik iliğinde osteoblastik farklılaşmada artış olması halinde adiposit sayısında bir azalmanın sözkonusu olacağını ileri sürmüşlerdir (Veldhuis-Vlug ve Rosen, 2018; Basaloglu ve diğerleri, 2022; Dekker ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). Bu nedenle, postnatal PKM’le ilişkili

olarak kemik yapıda ortaya çıkan gelişimsel ve morfolojik değişikliklerin daha ayrıntılı bir şekilde aydınlatılmasının klinik açıdan özel bir öneme sahip olduğu aşıkardır.

Öte yandan, epifiz bezi tarafından gece artan ve gündüz azalan sirkadiyen bir ritme uygun bir şekilde sentezlenen, depolanan ve salgılanan bir nörohormon olan melatonin (MT) çok güçlü bir endojen serbest radikal giderici ve hücreleri oksidatif hasardan koruyan antioksidan ve anti-inflamatuar bir ajandır (Reiter ve diğerleri, 2000; Reiter ve diğerleri, 2001; Zhdanova ve Wurtman, 2005; Reiter ve diğerleri, 2010; Reiter ve diğerleri, 2013; Chen ve diğerleri, 2016, Tordjman ve diğerleri, 2017, Zarezadeh ve diğerleri, 2020; Ren ve diğerleri, 2023). Yine, MT nörohormonunun gebe anne sıçandan plasenta aracılığı ile fetuslara, emzirme döneminde ise anne sütü aracılığı ile yeni doğan yavru sıçanlara yeterli miktarda geçtiği oldukça uzun bir süredir bilinmektedir (Reppert ve Klein, 1978). Bu çalışmada, neonatal PKM modeli kullanılarak, laktasyon dönemindeki sıçanların “fonksiyonel pinealektomi (Px)” olarak adlandırılan ve 24 saat aydınlık ortamda tutulmaları ya da sıçanlara eksojen MT tedavisi uygulanması neticesinde, kemik dokuda ortaya çıkacak olası etkilerin morfometrik, biyokimyasal, radyolojik ve histolojik yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır. Fonksiyonel Px uygulamasının endojen MT salınımında bir azalmaya sebep olması nedeniyle, kemik dokudaki serbest radikal düzeyinde bir artışın ve antioksidan savunma sisteminde ise bir zayıflamanın ortaya çıkacağı öngörülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, MT hormonunun kemik iliği MKH'nin apoptozisini azaltırken, aynı hücrelere ait proliferasyon ve farklılaşma süreçleri ile kemik mineralizasyonu üzerine ise artırıcı bir etki gösterdiği saptanmıştır (Ostrowska ve diğerleri, 2002a; Ostrowska ve diğerleri, 2002b; Cardinali ve diğerleri, 2003; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2003a; Turgut ve diğerleri, 2003b; Fjellidal ve diğerleri, 2004; Turgut ve diğerleri, 2005; Uslu ve diğerleri, 2007; Vriend ve Reiter, 2016; Murodumi ve diğerleri, 2020; Zhang ve diğerleri, 2021; Basaloglu ve diğerleri, 2022; Liu ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). Sözü edilen böyle bir etkinin hücre siklusunu düzenleyen hücre içi sinyal yollarının düzenlenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmekte ise de, yapılan literatür taramasında, gerek deneysel hayvan modelleri üzerinde ve gerekse insanlarda gerçekleştirilmiş olan çok sayıda çalışmanın hiçbirinde PKM'de MT'nin olası rolünün şimdiye kadar hiç araştırılmamış olduğu fark edilmiştir. Yine, sıçan neonatal PKM modelinde eksojen MT uygulamasının kranium ve vertebra kemik dokularının gelişimsel ve morfolojik özellikleri üzerine bir etkiye sahip olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Bu deneysel çalışmada, eksojen MT'nin PKM ile ilişkili kemik doku gelişimi ve morfolojik

özellikleri üzerine olan olası uzun süreli etkileri ortaya konulması ve literatürdeki mevcut eksikliğin giderilmesi amacıyla, sıçan neonatal PKM modeli kullanılmıştır.

Bu deneysel çalışmanın ilk amacı, öncelikle neonatal malnütrisyonla ilişkili olarak kranium ve lomber vertebra kemik dokusunda ortaya çıkan gelişimsel ve morfolojik değişikliklerinin morfolojik, radyolojik, biyomekanik, biyokimyasal ve histolojik yöntemlerle ortaya konulmasıdır. Bu çalışmanın ikinci amacı ise, neonatal PKM ile ilişkili olarak kemik dokusunda ortaya çıkan söz konusu uzun süreli bulguların fonksiyonel Px ve eksojen MT uygulanmasıyla değişiklik gösterip göstermediğinin *in vivo* neonatal sıçan modeli üzerinde benzer yöntemler kullanılarak araştırılmasıdır. Böylece, insanlarda laktasyon dönemi PKM sonrası hayat boyu devam eden kalıcı değişiklikler üzerine etkili olabilecek yeni tedavi yöntemi olarak MT'nin olası rolünün açıklığa kavuşturulması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 . Malnütrisyon

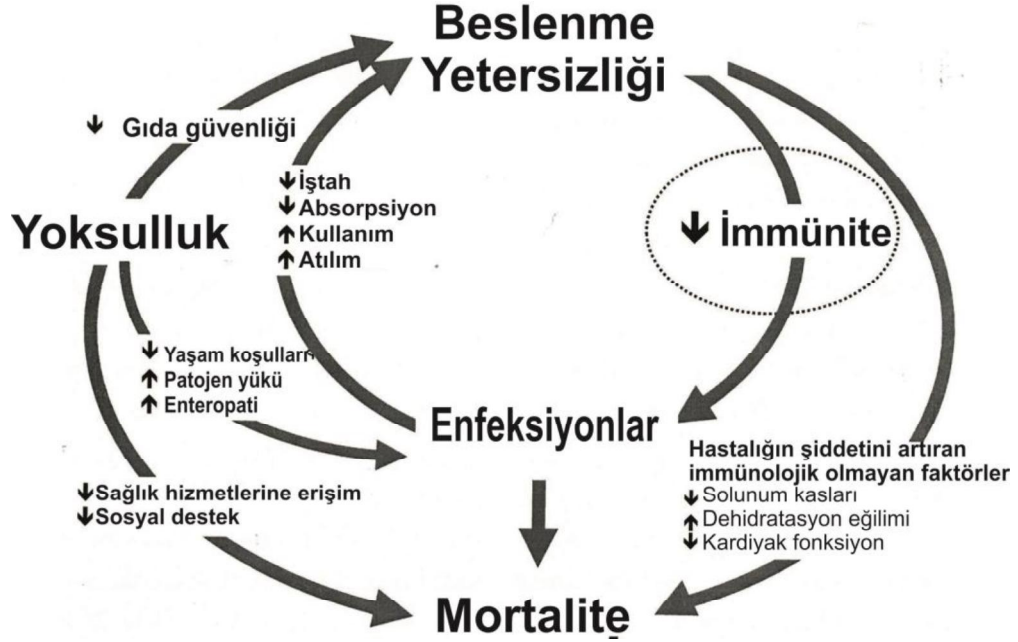
2.1.1. Tanım

Yeterli bir beslenme için gerekli olan temel besin öğeleri protein, karbonhidrat ve yağdan oluşan makrobesinler ile elektrolit, mineral ve vitaminlerden oluşan mikrobesinlerden ibarettir (Thomas ve Bishop, 1988; Castillo-Duran ve Cassorla, 1999). DSÖ, sağlıklı bir büyüme için gerekli olan makrobesinlerin ve/veya mikrobesinlerin eksik ya da dengesiz alınmasına bağlı enerji/kalori yetersizliği ile karakterize hücrel değişiklikleri “malnütrisyon” olarak tanımlamaktadır (World Health Organization Joint FAO/WHO expert committee on nutrition, 1953; Black ve diğerleri, 2008; World Health Organization, United Nations Children’s Fund, 2009). Aslında, malnütrisyon yetersiz beslenme (undernutrition), aşırı beslenme (overnutrition) ya da özgül yetersizlik (specific deficiency) şeklinde olabilmekle birlikte, klinik olarak çoğu kez vücut ağırlığında azalma ile boy uzunluğunda duraklama bulguları ile karşımıza çıkmaktadır (Vilter, 1975; Ozalp ve Coskun, 1991; Ortiz ve diğerleri, 1996; Scherbaum ve Fürst, 2000; Ozen, 2005; Ortiz ve diğerleri, 2009; Fávaro-Moreira ve diğerleri, 2016).

2.1.2 Etyoloji

Ülkemizin de önemli sağlık sorunlarından biri olan malnütrisyonun etyolojisi multifaktöryel olup, yoksulluk ve/veya eğitimsizlik neticesinde özellikle gebelik, emzirme ve büyüme dönemlerinde artan makrobesin ve mikrobesin öğelerinin yetersiz veya hatalı alınması gibi primer nedenler ya da hijyen koşullarının yetersizliği ve eşlik eden enfeksiyon hastalıkları veya konjenital anomaliler gibi sekonder nedenler söz konusu olabilmektedir (Şekil 2.1) (Klahr ve Alleyne, 1973; Koksall, 1977; Koksall ve Hulya, 2000; Borelli ve diğerleri, 2004; Müller ve Krawinkel, 2005; Ozen, 2005; Bosi Bagci ve Durmus Ipekci,

2006; Borelli ve diğerleri, 2007; Schaible ve Kaufmann, 2007; Ortiz ve diğerleri, 2009; Lykke ve diğerleri, 2013; Mello ve diğerleri, 2014; Rytter ve diğerleri, 2014; Santos ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.1. Malnütrisyon etyolojisini ve sonuçlarını özetleyen bu şekil, (Rytter ve diğerleri, 2014)'den değiştirilerek alınmıştır

2.1.3 Risk Grupları

Beslenme bozuklukları, özellikle sosyoekonomik ve eğitim düzeyleri oldukça düşük olan gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere, tüm dünya ülkelerinde milyonlarca insanı ilgilendiren oldukça önemli bir sağlık sorunudur (Mello ve diğerleri, 2014). Günümüzde, hala önemli bir sağlık sorunu olmaya devam eden malnütrisyon, başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere, tüm dünya ülkelerinde yaşayan yeni doğanlar ve çocuklar ile kronik hastalığı olan ve çeşitli nedenlerle hastanede yatmakta olan yaşlı bireylerden oluşan özel risk gruplarını daha fazla etkilemektedir (Klahr ve Alleyne, 1973; Vilter, 1975; Bistran ve diğerleri, 1976; Ozalp ve Coskun, 1991; Sullivan ve diğerleri, 1995; Rice ve diğerleri, 2000; Scherbaum ve Fürst, 2000; Schneider ve diğerleri, 2004; Kagansky ve diğerleri, 2005; Ozen, 2005; Bosi Bagci ve Durmus Ipekci, 2006; Borelli ve diğerleri, 2007; Schaible ve Kaufmann, 2007; Black ve diğerleri, 2008; Fock ve diğerleri, 2008; Weisstaub ve Araya,

2008; Ortiz ve diğerleri, 2009; Lykke ve diğerleri, 2013; Fávaro-Moreira ve diğerleri, 2016).

2.1.4 Protein-Kalori Malnütrisiyonu

DSÖ, farklı beslenme bozukluklarını tanımlamak için “PKM” teriminin kullanılmasını önermiştir (World Health Organization Joint FAO/WHO expert committee on nutrition, 1953; World Health Organization, United Nations Children’s Fund, 2009). Günümüzde, “protein-enerji malnütrisiyonu” olarak da bilinen PKM, protein, karbonhidrat ve yağ gibi makrobesin öğelerinden bir ya da birçoğundan yetersiz bir diyetle beslenme sonucu ortaya çıkan enerji ve kalori yetersizliğini tanımlamaktadır (Ozalp ve Coskun, 1991; Chandra, 1997; Ozalp, 1999; Brown, 2003; Müller ve Krawinkel, 2005; Ozen, 2005; Bosi Bagci ve Durmus Ipekci, 2006; Fock ve diğerleri, 2008; Akinola ve diğerleri, 2010; Matsusaka ve diğerleri, 2018; Leandro-Merhi ve diğerleri, 2019). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaşayan çocuklar olmak üzere, tüm dünyada oldukça sık görülen bir sağlık sorunudur (Klahr ve Alleyne, 1973; Ozalp ve Coskun, 1991; Ozalp, 1999; Borelli ve diğerleri, 2004; Ozen, 2005; Bosi Bagci ve Durmus Ipekci, 2006; Black ve diğerleri, 2008; Fock ve diğerleri, 2008; Ortiz ve diğerleri, 2009; Santos ve diğerleri, 2020). Hindistan’da yaşayan okul öncesi çocukların % 85’inde hafif ya da orta derecede PKM mevcut olduğu, ağır PKM üzerine çok sayıda çalışma yapıldığı halde, daha hafif PKM şekilleri hakkında çok az şey bilindiği rapor edilmiştir (Rana S ve diğerleri, 1995; Rana SV ve diğerleri, 1995). Diğer yandan, PKM’de yeterli besin desteği sağlandığı takdirde, mevcut klinik tabloda kısmi ya da tam bir düzelme sağlamanın mümkün olduğu ileri sürülmüştür (Allison, 2000).

2.1.5 Protein-Kalori Malnütrisiyonu Şekilleri

Klinik olarak, PKM’in ağırlığına göre yapılan ve en yaygın kullanılan sınıflandırmaya göre; (a) Hafif PKM, (b) Orta PKM ve (c) Ağır PKM olmak üzere 3 farklı PKM şekli mevcuttur (Gueri ve diğerleri, 1980; Coskun, 1996; Koksall ve Hulya, 2000). Günümüzde, en sık görülen malnütrisyon tipleri hafif ve orta dereceli PKM olup, klinik olarak, bireyin büyüme hızında göreceli bir azalma söz konusu iken, enerji ve besin alımı yetersizliğinin

uzun süre devam etmesi sonucu ortaya çıkan ağır PKM’de ise, “marasmus” (kalori/enerji eksikliğinin daha fazla olması), “kwashiorkor” (protein eksikliğinin fazla olması) ya da “marasmik-kwashiorkor” (diyetteki kalori ve protein alımı arasındaki dengenin bozulması ya da katabolik kayıpların artması) klinik tabloları ile karşılaşılmaktadır (Ozalp, 1999; Koksall ve Hulya, 2000; Ozen, 2005; Akinola ve diğerleri, 2010, Lykke ve diğerleri, 2013).

2.1.5.1 Marasmus

Marasmus, enerji alımında bir yetersizliğin daha ön planda olmasına karşın, protein alımındaki eksikliğin daha geri planda olduğu ve “ödemli olmayan PKM” olarak bilinen malnütrisyon şeklidir (Koksall ve Hulya, 2000; World Health Organization, United Nations Children’s Fund, 2009; Rytter ve diğerleri, 2014). Özellikle, yağ ve karbonhidrat gibi enerji sağlayan besinlerin yetersiz alınması ya da bunlara olan gereksinimin artması sözkonusudur. Öte yandan, protein alınmasında hafif düzeyde bir yetersizlik söz konusu olabilmekle birlikte, protein alınması çoğu kez yeterlidir. Sonuçta, vücuttaki kas ve yağ dokusu enerji tüketimi için kullanılmakta olup, önce vücut ağırlığında bir duraksama olmakta ve daha sonraki aşamalarda ise vücut ağırlığında bir azalma ortaya çıkmaktadır (Koksall ve Hulya, 2000). Marasmuslu bireylerde, tipik olarak ödem mevcut olmayıp, gerek iskelet kaslarının ve gerekse immün sistemin tüm işlevleri bozuktur (Koksall ve Hulya, 2000; Scherbaum ve Fürst, 2000; Akinola ve diğerleri, 2010).

2.1.5.2 Kwashiorkor

Tipik olarak, uzun süre proteinden fakir bir diyetle beslenme sonucu ortaya çıkan kwashiorkor, diğer bazı hastalıkların bir komplikasyonu olarak da karşımıza çıkan ve “ödemli PKM” olarak bilinen durumdur (Pond ve diğerleri, 1992; Williams ve diğerleri, 2003; World Health Organization, United Nations Children’s Fund, 2009). Bu bireylerde, protein alınmasında bir eksiklik daha ön planda olmasına karşın, enerji alınmasındaki eksiklik mevcut olsa bile daha geri plandadır (Pond ve diğerleri, 1992; Coskun, 1996). Klinik olarak, serum albumin düzeyinde düşüklük, kortizon düzeyindeki artış ve antidiüretik hormon yetersizliği nedeniyle belirgin bir ödem hali sözkonusudur. Aslında, kas ve

subkutanöz yağ dokusu kaybı ile birlikte vücut ağırlığında bir azalma mevcut olmakla birlikte, ödem nedeniyle maskelenmiş durumdadır (Pond ve diğerleri, 1992; Williams ve diğerleri, 2003; Lykke ve diğerleri, 2013). Marasmustan farklı olarak, hipoalbüminemiye bağlı olarak yüzde, gövdede, kollarda, bacaklarda ve ayaklarda ödem mevcuttur (Pond ve diğerleri, 1992; Scherbaum ve Fürst, 2000). Kwashiorkorda, bireylerde boyu yaşa göre normal sınırlarda olmakla birlikte, günlük protein tüketimi kısıtlanmış olduğu için büyüme ve gelişme duraksamıştır.

Marasmus ile kwashiorkor ayırıcı tanısında klinik belirti ve bulgular ile laboratuvar sonuçları karşılaştırmalı olarak Tablo 2.1’de verilmiştir (Pond ve diğerleri, 1992; Koksall ve Hulya, 2000).

Tablo 2.1. Marasmus ve Kwashiorkor klinik belirti ve bulguları ile laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması

Klinik belirti/bulgular ile laboratuvar sonuçları	Marasmus	Kwashiorkor
Vücut ağırlığı	↓↓↓	↓↓
Depigmentasyon	- - -	↑↑↑
Saç değişiklikleri	+/-	++
Ödem	- - -	+++
Anemi	+	+++
Diyare	↓↓	↓↓↓
Mental retardasyon	+ -	+/-
Plazma protein düzeyi	↓	↓↓↓
Pankreatik enzimler	↓	↓
Laktaz/sukroz/maltaz	↓↓	↓↓↓
Vitamin düzeyleri	↓↓↓	↓↓↓
Karaciğer yağlanması	+	+
İnce bağırsak villus atrofi	++	+++

Kaynak: Tablodaki veriler (Pond ve diğerleri, 1992; Koksall ve Hulya, 2000)’den değiştirilerek alınmıştır

2.1.5.3 Marasmik Kwashiorkor

Marasmuslu bir bireydeki bulgulara ilaveten, kwashiorkorun ödem bulgusu da klinik tabloya eşlik ettiği ve en sık görülen ağır PKM şekli olan marasmik kwashiorkorda, marasmus ve kwashiorkorun bulguları bir arada görülmektedir (Pond ve diğerleri, 1992; Coskun, 1996; Koksall ve Hulya, 2000; World Health Organization, United Nations Children's Fund, 2009; Lykke ve diğerleri, 2013). Bu bireylerde, vücuttaki tüm yağ ve protein depoları boşalmış durumdadır. Klinik olarak, marasmuslu bir bireyde enerji alımındaki eksikliğe ilaveten protein alımının da yetersiz olması sonucu gelişmektedir. Bu bireylerin prognozu oldukça ağır olup, yaşamı tehdit eden komplikasyonlar ve çeşitli enfeksiyonlar gelişme riski yüksektir (Pond ve diğerleri, 1992; Coskun, 1996; Koksall ve Hulya, 2000; Scherbaum ve Fürst, 2000; Schaible ve Kaufmann, 2007; Akinola ve diğerleri, 2010; Mello ve diğerleri, 2014).

2.1.6 Protein-Kalori Malnütrisyonu Ayırıcı Tanısı

Klinikte, hem klinik belirti ve bulgular hem de serum total protein ve albumin düzeyleri dahil bazı laboratuvar bulguları esas alınarak hazırlanmış olan puanlama sistemi kullanılarak, PKM ayırıcı tanısı yapılabilmektedir (Tablo 2.2) (McLaren ve diğerleri, 1967).

Tablo 2.2 Protein-kalori malnütrisyonu (PKM) ağırlığının puanlandırılması

Klinik belirti/bulgular ile laboratuvar sonuçları		Puan
Ödem		3 puan
Dermatit		2 puan
Ödem ve dermatit		6 puan
Saç değişiklikleri		1 puan
Hepatomegali		1 puan
Total protein düzeyi (g/dl)	Serum albumin düzeyi (g/dl)	
<3.2	<1.0	7 puan
3.24-3.99	1.0-1.45	6 puan
4.0-4.74	1.50-1.99	5 puan

Tablo 2.2 Protein-kalori malnütrisiyonu (PKM) ağırlığının puanlandırılması (devamı)

Klinik belirti/bulgular ile laboratuvar sonuçları		Puan
4.75-5.49	2.0-2.99	4 puan
5.50-6.24	2.50-2.99	3 puan
6.25-6.99	3.0-3.49	2 puan
7.0-7.74	3.50-3.99	1 puan
>7.75	>4.0	0 puan
Toplam PKM puan değeri		0–3: Marasmus 4–8: Marasmik kwashiorkor 9–15: Kwashiorkor

Kaynak: Tablodaki veriler (McLaren ve diğerleri, 1967)’den değiştirilerek alınmıştır

2.1.7 Deneysel Malnütrisyon Modelleri

Hayvan modelleri, sadece çeşitli patofizyolojik durumların olası etkilerinin anlaşılmasında değil, aynı zamanda ve potansiyel terapötik ilaçların belirlenmesinde başvurulmakta olan araçlardır. Literatürde tanımlanmış olan deneysel PKM modellerin çoğu, malnütrisiyonun immün yetmezlik ve enfeksiyon hastalıkları patofizyolojisindeki olası rolünü ortaya koymak amacıyla kullanılmıştır (Anstead ve diğerleri, 2001; Oliveira ve ark, 2016). Başta kemik dokusu olmak üzere, deneysel PKM’nin farklı dokular üzerine olan olası etkileri gerek yeni doğan ve gerekse erişkin denekler üzerinde değerlendirilmiştir (Ortiz ve diğerleri, 1996; Brito ve diğerleri, 2016).

Özellikle, potansiyel terapötik ilaçların etkinliğin ve güvenliğin sistematik olarak değerlendirildiği bu tür çalışmalarda, deneysel küçük hayvan PKM modelleri gerek ekonomik maliyetlerinin düşüklüğü ve gerekse tekrarlanabilirliği açısından en çok tercih edilen modeller olmaktadır (Hickman ve diğerleri, 2017; da Silva Morais ve diğerleri, 2018). Bu nedenle, civciv ve zebra balığı (Shahzad ve diğerleri, 2025) dahil olmak üzere, köpek (Kamalu, 1993), domuz (Rana SV ve diğerleri, 1995; Wykes ve diğerleri, 1996; Jacobi ve diğerleri, 2013; Lykke ve diğerleri, 2013) ve maymun (Rana S ve diğerleri, 1995; Rana SV ve diğerleri, 1995; Rana SV ve diğerleri, 2001) gibi çok farklı hayvan türlerinin kullanılmış olduğu deneysel PKM çalışmaları mevcut olmakla birlikte, çalışmaların çoğunda fare (Mello ve diğerleri, 2014; Preidis ve diğerleri, 2014; Santoso ve diğerleri, 2019; D'Souza ve diğerleri, 2023; R ve diğerleri, 2023; Shahzad ve diğerleri, 2025) ve sıçan

(Etukudo ve diğerleri, 1999; Fock ve diğerleri, 2008; Shahzad ve diğerleri, 2025) gibi küçük hayvanlar kullanılmıştır. Farklı hayvan modelleri arasında, gerek anatomik yapıları ve gerekse metabolizmaları ile yaşam süreleri insandan oldukça farklı olmasına karşın, çoğunlukla Wistar ve Sprague Dawley sıçanları ile C57BL/6 ve BALB/c farelerinin tercih edilmekte olduğu görülmektedir (Shahzad ve diğerleri, 2025). Ancak, başta kemik doku olmak üzere farklı dokularda PKM ile ilişkili olarak ortaya çıkan morfolojik değişiklikler hala yeterince tanımlanabilmiş değildir.

Deneyisel çalışmalarda, kontrol grubundaki deneklere standart diyet (pellet yem) verilmekte olup, Ulusal Araştırma Kurulu (NRC) tarafından laboratuvar hayvanları için belirlenen günlük kalori gereksinimleri sıçan için 25-35 kcal/kg olarak hesaplanmıştır (National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition, 1995). Laboratuvar koşullarında, sıçan ya da fare gibi küçük hayvanlara verilecek malnütrisyon diyeti olarak ise; “düşük proteinli diyet” (kontrol grubuna verilen normal standart diyetin % 18 oranında protein içermesine karşın, deneklere % 10 oranında protein içeren bir diyet verilmesi) (Badanthadka ve diğerleri, 2021; D'Souza ve diğerleri, 2023; R ve diğerleri, 2023), “% 50 kısıtlanmış PKM diyeti” (standart diyete beslenen kontrol grubuna kıyasla, hem protein ve hem kalori içereğinin % 50 oranında azaltılmış olduğu bir diyet verilmesi) (Leite ve diğerleri, 2011) ya da “çoğaltılmış yavru modeli” PKM diyeti (emzirme döneminde standart diyet verilen annelerden beslenen yavru sayılarının belli bir oranda artırılmış olduğu diyet şekli) (Celedon ve diğerleri, 1979).

Öte yandan, deney hayvanı olarak çoğu kez farenin kullanıldığı deneySEL PKM çalışmalarının çoğunda, “kısa süreli malnütrisyon” etkileri değerlendirilmiştir. Ancak, kısa süreli ve uzun süreli PKM dinamiklerinin birbirinde oldukça farklı olduğu gözönüne alındığında, mevcut kısa süreli prelinik çalışmaların sonuçlarına dayanarak, “uzun süreli malnütrisyon”un olası sonuçları hakkında doğru bir öngöründe bulunulması mümkün olmayacaktır (D'Souza ve diğerleri, 2023; R ve diğerleri, 2023). Bu durum, uzun süreli malnütrisyonla ilişkili deneySEL küçük hayvan hayvan modellerinin kullanılmasının gerekliliğini açıkça ortaya koymaktadır.

2.1.8 Malnütrisyonunda Organ ve Vücut Ağırlığı ile Yaşam Süresi

Gerek daha önce yapılmış klinik araştırmalarda ve gerekse deneysel çalışmalarda, PKM’de hem iç organ ağırlıklarında ve toplam vücut ağırlığında ve hem de yaşam süresinde normal bireylere kıyasla bir miktar azalma ortaya çıkmasına karşın, eksik alındığı bilinen besinöğelerinin yerine konulması halinde, hem toplam vücut ağırlığında artış olmakta hem de diğer klinik bulgularda gerileme olduğu saptanmıştır (Ortiz ve diğerleri, 2009; Leite ve diğerleri, 2011; Lykke ve diğerleri, 2013; Mello ve diğerleri, 2014; Santoso ve diğerleri, 2019).

2.1.9 Malnütrisyonunda İnflamasyon ve Sitokinlerin Rolü

Makrofajlar tarafından üretilen tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-10 (IL-6) gibi pro-inflamatuar sitokinlerin inflamasyon üzerine stimüle edici bir etkiye sahip olmasına karşın, interlökin-10 (IL-10) gibi anti-inflamatuar sitokinlerin makrofajlardaki sitokin yapımı üzerine inhibe edici bir etkiye sahip oldukları kabul edilmektedir (Borelli ve diğerleri, 2004; Zyga ve diğerleri, 2011). Böylece, bir inflamatuvar yanıtın net etkisinin proinflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler arasındaki hassas dengeye bağlı olduğu, proinflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler arasındaki bir dengesizliğin ortaya çıkması halinde ise, “inflamasyon” ortaya çıkmaktadır (Borelli ve diğerleri, 2004; Zyga ve diğerleri, 2011). PKM’de, makrofajlar tarafından proinflamatuar sitokinlerin yapımında ve reaktif oksijen türleri (ROS) yapımında artış ortaya çıkmakta olup, oksidatif strese yol açan bu durum hem de morbidite ve mortalite ile çok yakından ilişkilidir (Avignon ve diğerleri, 2012; Santoso ve diğerleri, 2019).

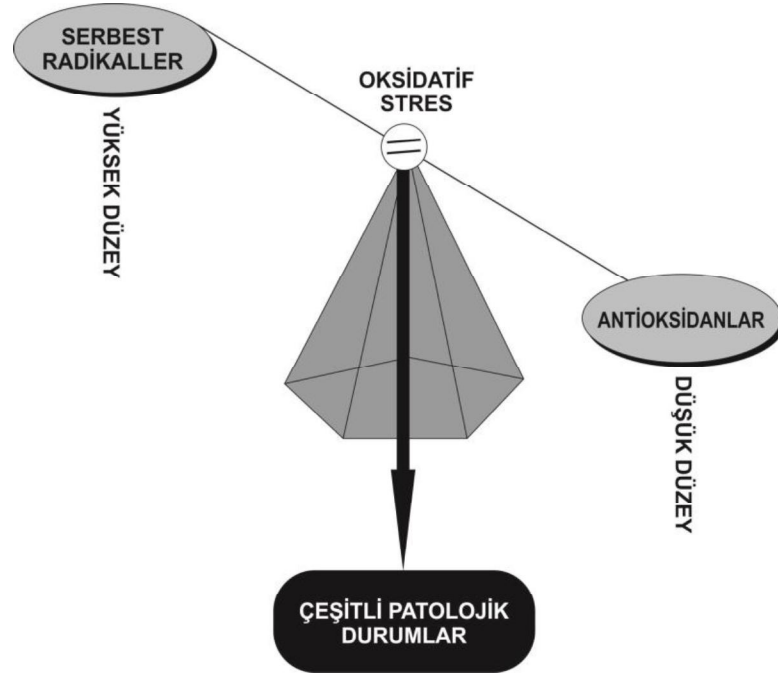
2.1.10 Malnütrisyonunda Oksidatif Stres

Ekzojen ya da endojen serbest radikaller ile hidrojen peroksit, süperoksit, singlet oksijen ve hidroksil radikali gibi serbest radikal olmayan oksijen molekülleri ROS olarak bilinmektedir (Kohen ve Nyska, 2002; Ighodaro ve Akinloye, 2018). Normal sağlıklı hücrelerde sürekli bir şekilde üretilen “ROS” ile onların yok edilmesini sağlayan

antioksidan enzimler ve enzimatik olmayan intrasellüler antioksidanlardan oluşan “antioksidan savunma sistemi” arasında bir denge hali sözkonusudur (Halliwell, 2000; Vertuani ve diğerleri, 2004). Buna karşın, PKM gibi durumlarda hücredeki serbest radikal oluşumunda önemli bir artışın ortaya çıktığı ya da endojen savunma sisteminin yetersiz kaldığı durumlar “oksidatif stres” olarak adlandırılmaktadır (Halliwell, 2000; Vertuani ve diğerleri, 2004; Lobo ve diğerleri, 2010; Pisoschi ve Pop, 2015). Oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu oluşan kısa ömürlü ve güçlü oksidan özelliğe sahip oksijen metabolitleri olan “serbest radikaller” diğer moleküller ile etkileşime girerek kararlı bir hale dönüşebilen kararsız yapılardır (Poljsak ve diğerleri, 2011). Organizmada devam eden metabolik süreçler ya da oksidanların etkisiyle sürekli bir şekilde üretilen endojen ya da eksojen serbest radikaller “lipit peroksidasyonu” adı verilen süreç neticesinde oksijen ile reaksiyona girmek suretiyle lipid peroksit radikalleri oluşmaktadır (Halliwell, 2000; Vertuani ve diğerleri, 2004; Poljsak ve diğerleri, 2011). Lipid peroksidasyonu sürecinde, bazı aktif yıkım ürünleri açığa çıkması neticesinde, hücrelerin yapısında yer alan DNA türü nükleik asitler, proteinler ve lipidler hasara uğrayarak hücre hasarı ve hatta programlı hücre ölümü olarak bilinen “apoptoz” ve/veya “hücre nekrozu” sonucu hücre ölümü ortaya çıkmaktadır (Ortiz ve diğerleri, 2009; López-Alarcón ve Denicola, 2013).

2.1.11 Malnütrisyonunda Antioksidan Savunma Sistemi

Biyokimyasal olarak, hücre bileşenlerinin (lipit, protein ve DNA) serbest radikaller tarafından oksidasyonunu engelleyen maddelere “antioksidan” madde adı verilmektedir (Vertuani ve diğerleri, 2004). Normal koşullarda, vücutta sürekli bir şekilde üretilen serbest radikaller “antioksidan savunma sistemi”nde yer alan antioksidan maddeler tarafından farklı mekanizmalar kullanılarak yok edilmekte ve hücre hasarı önlenmektedir (Vertuani ve diğerleri, 2004; Lobo ve diğerleri, 2010). Antioksidan maddeler, serbest radikallere karşı vücuttaki enzimler tarafından hücresel düzeyde endojen olarak sürekli üretilbildiği gibi, eksojen olarak diyetle alınan vitaminler ile besinler (enzimatik olmayan) ile sağlanabilmektedir (Lobo ve diğerleri, 2010). Klinik olarak, hücrelerde aşırı serbest radikal oluşumu ve ROS üretimiyle karakterize PKM’de, diyetle alınan besinlerin yetersizliği nedeniyle antioksidan savunma sistemi bozulmakta ve oksidatif stres hali ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.2) (Ighodaro ve Akinloye, 2018).



Şekil 2.2. Serbest radikaller antioksidanlar arasındaki dengesizlik neticesinde ortaya çıkan oksidatif stres hali [Bu şekil, (Ighodaro ve Akinloye, 2018)’den değiştirilerek alınmıştır]

2.2 Kemik Dokusu

Mekanik olarak dayanıklı bir materyal olan kemik doku, metabolik olarak aktif ve dinamik bir biyomateryaldir (Fonseca ve diğerleri, 2014). Üzerine yüklenen fizyolojik streslere (yüklerle) ve mekanik gereksinimlere uygun olarak kemiğin yapısı, boyutu ve gücü sürekli değişim göstermektedir (Turner, 2007; Korhonen ve ark diğerleri, 2012; Hart ve diğerleri, 2017). Kemik doku, mekanik bir yükün varlığına veya yokluğuna bağlı olarak, “modeling” (yeni kemik yapımı) ve “remodeling” (hasar görmüş kemiğin geri dönüştürülmesi) süreçleri sonucunda kendini sürekli olarak yenilemektedir (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Clarke, 2008; Raggatt ve Partridge, 2010; Crockett ve diğerleri, 2011; Nordin ve Frankel, 2012). Sözü edilen biyolojik süreçler sonucu kemik kütlesi, eğer bir yapım söz konusu ise artmakta, eğer bir yıkım (rezorpsiyon) söz konusu ise azalmakta; ancak sonuçta mevcut kemik kütlesi hep korunmaktadır (homeostaz) (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Clarke, 2008; Raggatt ve Partridge, 2010; Crockett ve diğerleri, 2011; Nordin ve Frankel, 2012). Sözü edilen süreçlerde, kemik matriksi birikiminden sorumlu osteoblastlar ve kemik matriks rezorpsiyonundan sorumlu osteoklastlar tarafından yönetilen karmaşık bir

hücrel regülasyon sözkonusudur (Seeman, 2009; Raggatt ve Partridge, 2010; Crockett ve diğerleri, 2011; Feng ve McDonald, 2011; Bhuiyan ve diğerleri, 2018). Düzenleyici bir rol üstelenen bu hücreler arasındaki en küçük bir dengesizlik halinde, kemiğin remodeling süreci bozulmakta ve “osteopeni” veya “osteoporoz” ile sonuçlanmaktadır (Martin ve Correa, 2010; Giusti ve Bianchi, 2014).

Dışarıdan uygulanan mekanik yüklere kemiğin dayanma gücü, uygulanan yükün şekline, büyüklüğüne, yönüne ve sıklığına bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir (Robling ve diğerleri, 2006; Kohrt ve diğerleri, 2009; Hart ve diğerleri, 2017). Biyomekanik olarak, anizotropik özellik gösteren kemik doku farklı hareket düzlemleri için farklı yük tolerans eşik değerlerine sahiptir (Nordin ve Frankel, 2012). Aslında, yürüme ve koşma gibi düşük dereceli döngüsel kuvvetlerden, atlama ve zıplama gibi yüksek dereceli ani kuvvetlere kadar değişen farklı günlük rutin aktiviteler esnasında iselelet sistemini oluşturan kemikler çok farklı yüklenmelere maruz kalmaktadır (Hart ve diğerleri, 2020).

Kural olarak, kemiğin gücü ve sertliği mekanik yükün en belirgin olarak uygulandığı yönde en fazla olmaktadır (Nguyen ve diğerleri, 2013; Lambert ve diğerleri, 2020). Kemik dokuda, dışarıdan uygulanan yüklenme gereksinimlerine uyum sağlamak üzere, mekanik iletim yoluyla osteositler tarafından hücrel düzeyde başlatılarak yönetilen bir koordinasyon sözkonusudur (Reis ve diğerleri, 2011). Mekanik bir uyarı sonrasında osteosit, osteoblast ve osteoklast gibi kemik hücrelerinin aktiviteleri koordine edilmek suretiyle, osteogenez süreci düzenlenmekte ve sonuçta kemik doku mevcut duruma morfolojik bir adaptasyona göstermektedir (Humphrey ve diğerleri, 2014). Öyle ki, eski osteoblastların kemik matriksine gömülü osteositler haline dönüşmesi neticesinde yeni osteoblastlar için yol açılmaktadır (Hart ve diğerleri, 2020). Osteositler, kemik matriks yapısının % 95'ini oluşturduğu için, osteosit konsantrasyonunda ortaya çıkan böyle bir artış sonucunda kemik kütleinde bir artış olmakta ve kemik homeostazı sağlanmaktadır (Bonewald, 2007; Raggatt ve Partridge, 2010; Bonewald, 2011; Crockett ve diğerleri, 2011).

Aşağıda ayrıntılı bir şekilde açıklandığı üzere, kemik dokudaki hücrel ve fizyolojik süreçlerin daha fazla açıklığa kavuşturulması sayesinde klinik tanı ve uygun farmakolojik tedavi daha kolay bir hale gelecektir. Bu bölümde, gerek araştırmacılar ve gerekse klinisyenler tarafından kemik dokuyla alakalı olarak bilinmesi gereken temel hücrel ve fizyolojik mekanizmaların gözden geçirilmesi amaçlanmaktadır.

2.2.1 Kemik Dokunun Fonksiyonları

Tablo 2.3 Kemik dokunun fonksiyonları

Vücut postürün korunmasına destek olmak
Eklemlerde mekanik kaldıraç hareketini sağlamak
Beyin ve iç organların korunmasını sağlamak
Kemik iliğinde kırmızı kan hücresi yapılmasını (hematopoez) sağlamak
Kemik dokuda minerallerin (Ca ve P gibi) ve yağın depolanmasını sağlamak

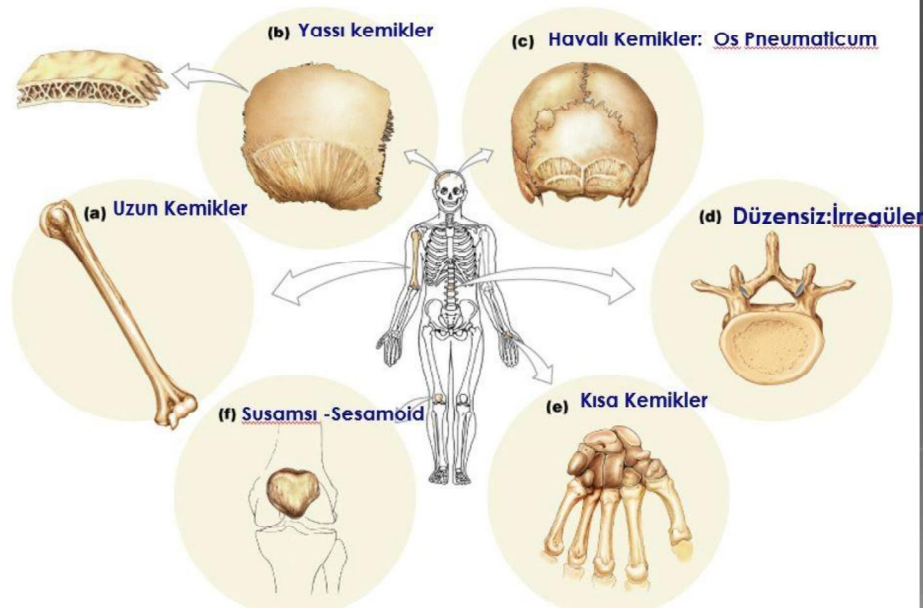
Kaynak: Tablodaki veriler (Hart ve diğerleri, 2020)’den uyarlanmıştır

İskelet sistemi, kasların da yardımıyla çeşitli vücut hareketlerinin gerçekleştirilmesi yanında, kalsiyum ve fosfor gibi bazı minerallerin depolanması ile hematopoezde rol oynamaktadır (Tablo 2.3) (Frost, 2003; Järvinen ve diğerleri, 2005; Clarke, 2008; Feng ve McDonald, 2011; Nordin ve Frankel, 2012; Hart ve diğerleri, 2020). Kemik doku, dinamik ve aktif özellikleri sayesinde çevreye kolayca uyum sağlayabilmekte, temel mekanik işlevlerini yerine getirebilmektedir (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Raggatt ve Partridge, 2010). Oldukça vasküler özelliğe sahip kemik doku, hem çeşitli metabolitlerin vücuttan uzaklaştırılmasında, hem de “modeling” ve “remodeling” süreçlerinde gereksinim duyulan besinlerin temini kan perfüzyonunun regüle edilmesinde rol oynamaktadır (Frost, 2003; Crockett ve diğerleri, 2011; Nordin ve Frankel, 2012).

2.2.2 Kemğin Anatomik Özellikleri

İnsan vücudunda, doğum sırasında 270 adet kemik mevcut iken, 14 yaşına gelindiğinde bu rakam 256’ye düşmekte ve nihayet yetişkin yaş grubunda yaklaşık 200 adet kemik ayırt edilebilir. Yetişkin bir insanın iskeletinde bulunan bu kemiklerin, 74’ü “eksenel iskelet sistemi”ne ve geri kalan diğer 126’sı ise “apendiküler iskelet sistemi”ne dahildir (Clarke, 2008; Marieb ve Hoehn, 2013). Anatomik açıdan, kemik tipleri şunlardır: (1) Os longum (femur, humerus, radius, ulna, tibia, klavikula ve falankslar gibi uzun kemikler); (2) Os breve (karpal ve tarsal kemikler gibi kısa kemikler); (3) Os planum (kosta, ileum, sternum, skapula ve parietal kemik gibi yassı kemikler); (4) Os irregulare (vertebra, pelvis kemiği, kafatası ve yüz kemikleri gibi düzensiz kemikler); (5) Os sesamoidea (patella gibi

sesamoit kemik); ve (6) Os pneumaticum (maksilla ve frontal kemik gibi havalı kemikler) (Şekil 2.3) (<https://www.besyohaber.net/hareket-sistemi-ve-kemik-cesitleri-kemik-tipleri/>).



Şekil 2.3. Anatomik olarak kemik tipleri [Bu şekil, (<https://www.besyohaber.net/hareket-sistemi-ve-kemik-cesitleri-kemik-tipleri/>)’den alınmıştır]

Uzun kemikler, gövdenin yükünü taşıyan anatomik yapılardır. Uzun kemikler, “diyafiz” olarak bilinen içi boş silindirik bir shaft ile koni şeklindeki bir proksimal ve distal “metafiz” ile yuvarlatılmış proksimal ve distal “epifiz”den oluşmakta olup, günlük yaşamla ilişkili aktiviteler sırasında farklı fiziksel yüklere dayanabilecek farklı mimari özelliklere sahiptir (Sikavitsas ve diğerleri, 2001; Clarke, 2008).

2.2.3 Kemğin Makroskobik Özellikleri

Kemik, dışarıdan uygulanan mekanik kuvvetleri karşılayabilmek için oldukça sert bir yapıya ve uygulanan enerjiyi absorbe edebilmek için de oldukça elastik bir özelliğe sahip olan, oldukça karmaşık bir biyomateriyaldir (Martin ve Correa, 2010; Fonseca ve diğerleri, 2014). Öyle ki; kemik doku, sıkıştırma uygulandığında kısalıp genişleyebilme, gerilim uygulandığında ise daralıp uzayabilme özelliğine sahiptir (Hart ve diğerleri, 2020). İskelet sistemi, bu şekildeki paradoksal gereksinimleri karşılayabilmek için, makroskobik olarak

birbirinden oldukça farklı olan 2 çeşit kemik dokudan oluşmaktadır: trabeküler kemik ve kortikal kemik (Rho ve diğerleri, 1998; Mosekilde ve diğerleri, 2000; Martin ve Correa, 2010). İskelet sistemini oluşturan kemiklerin % 20'sini trabeküler kemik ve geri kalan % 80'ini ise kortikal oluşturmakla birlikte, iskelet sistemindeki kemiklerin her bir bölgesel fonksiyonel gereksinimlerine uygun bir şekilde farklı oranlarda birarada bulunmaktadır (Clarke, 2008; Nordin ve Frankel, 2012). Sözü edilen iki kemik dokusu arasındaki yapısal farklılıklar mevcut olup, uzun kemiklerde hareket yeteneğinin kolaylaştırılması amacıyla kemik dokunun daha hafif ve daha dayanıklı özelliklere sahip olduğu ileri sürülmüştür (Seeman, 2008a; Seeman, 2008b).

Makroskobik olarak, kemikler basitçe 2 farklı şekle ayrılmaktadır: (1) Trabeküler kemik; ve (2) Kortikal (kompakt) kemik.

2.2.3.1 Trabeküler Kemik

İskeletin % 20'sini oluşturan trabeküler (spongiyöz, süngerimsi, kansellöz) kemik kortikal kemiğin hemen altında yer almaktadır. Özellikle uzun kemiklerin epifiz ve metafiz olarak bilinen proksimal ve distal uçlarında, üst ekstremitelerin karpal kemiklerinde, alt ekstremitelerin tarsal kemiklerinde ve spinal kolunu oluşturan vertebralarda daha fazla oranda trabeküler kemik bulunmaktadır (Rho ve diğerleri, 1998; Huiskes ve diğerleri, 2000; Clarke, 2008). Trabeküler kemik, içinde çok sayıda kırmızı kemik iliğinin bulunduğu birbirine bağlı boşluklardan oluşan bir kemik ağı şeklindedir (Szulc ve diğerleri, 2006; Travlos, 2006). Trabeküler kemiğin üç boyutlu kafes benzeri yapısı, en yaygın mekanik yüklenme yönlerine uygun bir şekilde düzenlenmiş mükemmel bir tasarıma sahiptir (Huiskes ve diğerleri, 2000; Frost, 2003). Trabeküler kemiğin süngerimsi ve gözenekli yapısı sayesinde büyük miktarlarda enerjinin depolanması da olanaklı bir hale gelmektedir (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Nordin ve Frankel, 2012).

2.2.3.2 Kortikal (Kompakt) Kemik

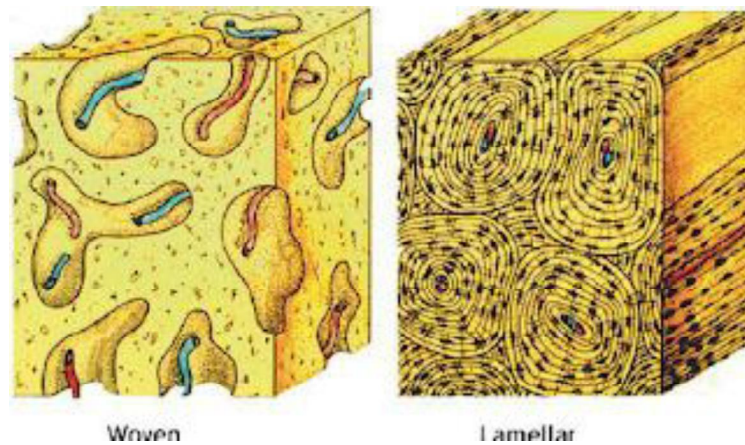
İskeletin % 80'ini oluşturan kortikal kemik, vücuttaki kemiklerin çoğunda ince yüzeyel bir tabaka oluşturmaktadır (Clarke, 2008; Marieb ve Hoehn, 2013). Uzun

kemiklerde modeling ve remodeling süreçlerinden sorumlu olan hücrelerin (osteoklastlar, osteoblastlar ve osteositler) yer aldığı kortikal kemik doku dışarıda periosteum ve içeride ise endosteum adı verilen bölümler tarafından çevrelenmektedir (Robling ve diğerleri, 2006; Bhuiyan ve diğerleri, 2018). Yapısal olarak, kortikal kemik sert ve pürüzsüz bir yapıya sahiptir (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Szulc ve diğerleri, 2006; Nordin ve Frankel, 2012). Kortikal kemiğin, trabeküler kemiğe kıyasla yaklaşık % 25 daha güçlü olduğu kabul edilmektedir (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Nordin ve Frankel, 2012; Fonseca ve diğerleri, 2014).

2.2.4. Kemiğin Mikroskopik Özellikleri

Mikroskopik olarak, doku düzeyinde kemik doku immatür ve matür şekillerde incelenmektedir (Rho ve diğerleri, 1998; Sikavitsas ve diğerleri, 2001; Liu ve diğerleri, 2010). Buna karşılık, içerdiği materyal açısından incelendiğinde ise, kemik doku organik ve inorganik bileşenlerden oluşmaktadır (Martin ve Correa, 2010; Feng ve McDonald, 2011; Reis ve diğerleri, 2011; Bala ve diğerleri, 2013).

2.2.4.1. Doku Düzeyinde Kemik Dokusu



Şekil 2.4. Doku düzeyinde kemik doku mikroskopisi: immatür ve matür kemik dokusu [Bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den aynen alınmıştır]

Mikroskobik olarak, kemik dokusu hem modeling ve hem de remodeling süreçlerinde immatür ve matür kemik dokusu şeklinde karşımıza çıkmaktadır (Şekil 2.4) (Clarke, 2008; Liu ve diğerleri, 2010).

2.2.4.1.1. İmmatür Kemik

İmmatür (primer, örgümsü, woven) kemik, embriyoda bulunan ve kollajen liflerinin düzensiz dağılım gösterdiği olgunlaşmamış kemik şeklidir. Kemik dokunun iyileşmesi sürecinde de immatür kemik yapısı ile karşılaşılır. Hacim başına düşen osteosit sayısı matür kemiğe kıyasla daha fazla olup, daha narin ve daha esnek bir yapıya sahiptir. İmmatür kemik, rastgele düzenlenmiş kollajen, hücre hacminin büyüklüğü ve doku yoğunluğunun düşüklüğü ile karakterize olan kemik dokusu şekli olup, hızlı bir şekilde oluşan düzensiz ve gözenekli bir kemik şeklidir (Clarke, 2008; Liu ve diğerleri, 2010). İmmatür kemik, doğumda tüm iskeleti oluşturmakta iken, büyüme ve fiziksel olgunlaşma sırasında kademeli bir şekilde olgun kemiğe dönüşüm göstermektedir (Sikavitsas ve diğerleri, 2001; Clarke, 2008). Yaşamın herhangi bir döneminde, aşırı fiziksel yüklenmede olduğu gibi, kemik dokuda herhangi bir hasarın ortaya çıktığı durumlara hızlı ve onarıcı bir organizma yanıtı olarak immatür kemik dokusuna rastlanabilmektedir (Liu ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, immatür kemik dokusu erken ve geçici bir kemik şekli olup, nihayetinde trabeküler veya kortikal kemiklerden oluşan olgun bir kemik doku şeklinde dönüşmektedir.

Özetle, immatür kemik intrauterin hayatta şekillenmekte olup, her zaman ilk oluşan kemik dokusu primer kemiktir. İmmatür kemik, geçici bir kemik yapısıdır ve sekonder kemik dokusuna dönüşmektedir. İmmatür kemik, genellikle süngerimsi bir görünümde ve mineralizasyonu yetersizdir. İmmatür kemikte yer alan kollajen lifler gelişigüzel dağılmakta ve ağısı (örgümsü) bir yapı oluşturmaktadır. Hücreden oldukça zengin olup immatür kemiğe ait lakunalar daha yuvarlakçadır.

2.2.4.1.2. Matür Kemik

Matür (sekonder, olgun, lamellar) kemik, remodeling süreci sonucunda immatür kemikten gelişen ikincil olgun kemik şeklidir. Trabeküler ve kompakt kemiğin yapısı

mikroskobik düzeyde matür tipte olup, immatür kemikten farklı olarak düzenli, yoğun ve daha güçlüdür (Clarke, 2008).

Özetle, matür kemik genellikle yetişkinlerde bulunmakta olup, kollajen lifler birbirine paralel düzenlenmiş düzenli demetler halindedir. Matür kemik, kompakt ya da spongiöz yapıda olabilmekte, matriks mineralizasyonu tam ve hücreler daha az yer tutmaktadır.

2.2.4.2. Materyal Düzeyinde Kemik Dokusu

2.2.4.2.1. Ekstrasellüler Amorf Ara Madde

Vücudun en sert dokularından biri olan kemik doku, bağ dokusunun kemik dokuya dönüşmesi sonucunda oluşmaktadır. Kemik doku, mineralize inorganik materyal ile ekstrasellüler organik maddeden oluşan iki fazlı bir bağ dokusudur (Martin ve Correa, 2010; Nordin ve Frankel, 2012; Bala ve diğerleri, 2013; Fonseca ve diğerleri, 2014). Kemik dokuda ekstrasellüler amorf ara madde kalsifiye bir halde bulunmakta ve “osein” adıyla bilinmektedir. Kemik dokudaki ekstrasellüler amorf ara madde ise, organik ve inorganik olmak üzere, iki farklı kısımdan oluşmaktadır.

2.2.4.2.1.1. Organik Maddeler

Kemik dokunun organik kısmı, kemik kuru ağırlığının 1/3’ünü ve kemik hacminin ise 2/3’ünü oluşturmaktadır (Davison ve diğerleri, 2006; Reis ve diğerleri, 2011). Ekstrasellüler organik maddenin % 90-95’i tip 1 kollajen liflerinden oluşmakta olup, gerilme, bükülme ve torsiyon hallerinde katılaşarak kemiğe esneklik ve direnç de kazandırmaktadır (Yamashita ve diğerleri, 2002; Viguet-Carrin ve diğerleri, 2006). Ekstrasellüler organik madde içeriğinde yer alan kollajen lifleri birbirine paralel bir şekilde dizilmiş olup, bu liflerin aralarında dokuya sertlik veren hidroksiapatit kristalleri yer almaktadır. Ekstrasellüler organik maddenin % 5-10’u protein yapısında olan şu biyokimyasal maddelerden oluşmaktadır: hiyaluronik asit, proteoglikan (kondroitin-4 sülfat [ChSO₄] ve keratan sülfat [KHSO₄] gibi “glikozaminoglikanlar” ile osteonektin (ON), osteokalsin (OCN), osteopontin

(OPN veya OSP), kemik sialoproteini (BSP) ve alkalen fosfataz (ALP) gibi “glikoproteinler”.

2.2.4.2.1.2 İnorganik Maddeler

Kemik dokunun inorganik kısmı, kemik kuru ağırlığının 2/3’ünü ve kemik hacminin ise 1/3’ünü oluşturmaktadır (Davison ve diğerleri, 2006; Reis ve diğerleri, 2011). inorganik maddelerin % 85’i kalsiyum fosfat $[Ca_3(PO_4)_2]$, % 10’u kalsiyum karbonat $[CaCO_3]$ ve geri kalan % 5’i ise şu maddelerden oluşmaktadır: kalsiyum florid $[CaF_2]$, magnezyum florid $[MgF_2]$, magnezyum hidroksit $[Mg(OH)_2]$, magnezyum sülfat $[MgSO_4]$ ile kalsiyum ve fosfor hidroksiapatit kristalleri $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$.

Kalsiyum ve fosfor, “hidroksiapatit” kristallerini oluşturmaktadır. Mineralize inorganik maddeler arasında yer alan “hidroksiapatit” kompresyon uygulandığında kemiğe sertliğini veren çözünmez bir tuz şeklindeki olup, yapısında kalsiyum ve fosfat bulunmaktadır (Tablo 2.4) (Boivin ve diğerleri, 2008; Bala ve diğerleri, 2013; Hart ve diğerleri, 2020).

Özetle, kemiğin gücü, ekstrasellüler amorf ara maddeyi oluşturan organik ve inorganik maddelerin ortak katkısıyla sağlanmaktadır (Boivin ve diğerleri, 2008; Fonseca ve diğerleri, 2014). Öyle ki, ekstrasellüler amorf ara madde içinde yer alan inorganik mineral yoğunluğundaki değişiklikler, kemiğin sertliğini ve esnekliğinin belirlenmesinde önemlidir (Bala ve diğerleri, 2013). Yüksek oranda mineralleşmiş bir kemiğin kırılğan (örneğin; atipik femur kırıkları) ve daha az oranda mineralleşmiş bir kemiğin ise daha sert olduğu (örneğin; yeşil çubuk kırığı) bilinmektedir (Hart ve diğerleri, 2020). Ancak, mineral yoğunluğunu belirleyen çeşitli inorganik maddeler arasındaki optimal dengenin ne olduğu hususu ise tam olarak bilinmemektedir. Teorik olarak, kemiğin mineralize (inorganik madde açısından zengin) kısmında tutulan elementlerin X-ışınlarına karşı direnç sağlaması, çift enerjili X-ışını absorpsiyometrisi (DEXA veya DXA) gibi kemik yoğunluğu cihazlarının kullanımının temel mantığını oluşturmaktadır.

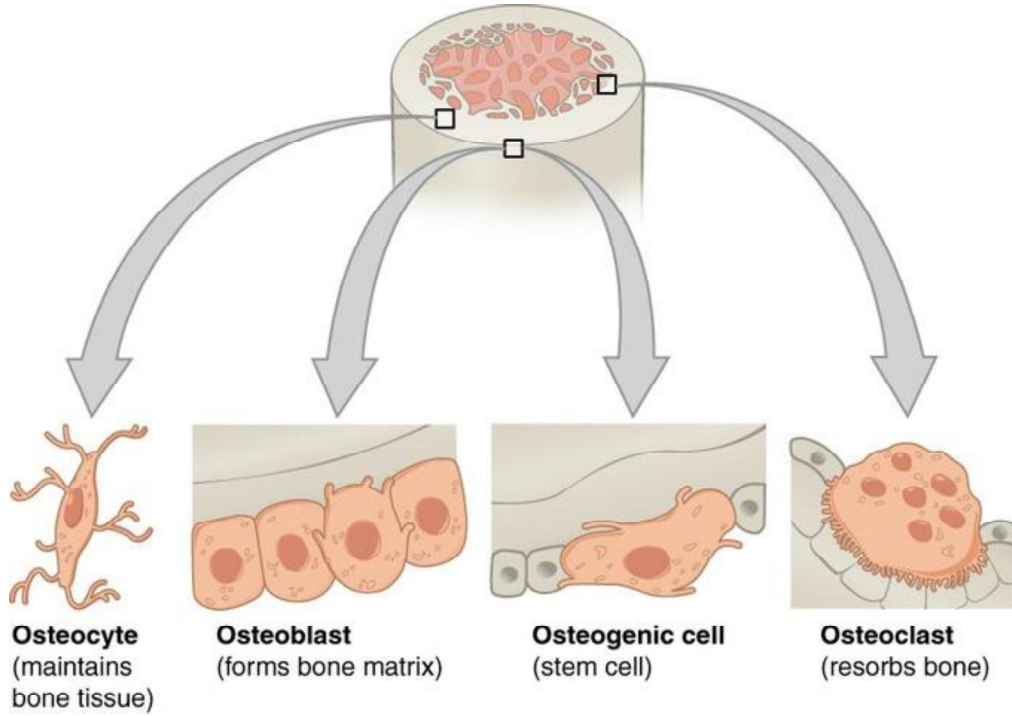
Tablo 2.4 Kemik dokunun temel ögeleri

Ekstrasellüler amorf ara madde
Organik madde
İnorganik maddeler
Kollajen lifleri
Tip 1 kollajen
Kemik hücreleri
Osteoprogenitor hücre
Osteoblast
Osteosit
Osteoklast

Kaynak: Tablodaki veriler (Hart ve diğerleri, 2020)’den uyarlanmıştır

2.2.4.2.2 Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri 4 tanedir. Bu hücreler: (1) Osteoprogenitor hücreler; (2) Osteoblast; (3) Osteosit; ve (4) Osteoklast’dır (Tablo 2.4) (Şekil. 2.5) (Hart ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.5. Kemik doku hücreleri: osteosit, osteoblast, osteoklast ve osteojenik kök hücreler

[Bu şekil, (<http://adliantropoloji101.blogspot.com/2017/07/kemik-doku-histolojisine-giris-2.html>)’den alınmıştır]

2.2.4.2.2.1. Osteoprogenitor Hücre

Osteoprogenitor hücreler, MKH'den köken alan, indifferansiyel ve mitozla bölünen osteojenik hücrelerdir. Bu hücreler, osteoblast, kondroblast, yağ hücreleri ve fibroblasta dönüşebilirler. Kemik yapımı sırasında çok aktif olup, sekonder kemiklerin periosteum ve endosteum kısımları ile havers ve volkmann kanallarında inaktif olarak bulunurlar. Morfolojik olarak, bu hücreler iğ biçimli olup, oval şekilli nükleusları soluk olarak boyanma göstermekte ve sitoplazmalarında bol miktarda serbest ribozom, az miktarda granüllü endoplazmik retikulum (ER) ve küçük bir Golgi kompleksi mevcuttur.

2.2.4.2.2.2. Osteoblast

Kemiğin yüzeyinde tek sıra tabaka oluşturacak şekilde dizilmişlerdir. Prizmatik/kübik/silindirik hücreler olup, metabolik aktiviteleri oldukça yüksektir. Kemik matriksin organik bölümünü sentezleyip salgırlar. “Osteoid” olarak bilinen kireçlenmemiş dokuyu oluşturur. Eozin ile daha yoğun boyanırlar. Osteoid, kalsifiye olunca osteosit'lere dönüşürler. ALP'den zengin olup, mitozla bölünemezler. Membranlarında parathormon reseptörü taşırlar. Paratiroid hormonu (PTH, parathormon) ile uyarılınca kemik kalsiyum salınımı hızlanmakta, osteoblastlar azalmakta ve osteoklast-stimulan faktör salgılayarak osteoklastlar çoğalmaktadır. Osteoblastlar kalsifikasyon sürecinden sorumlu hücreler olup, matriks vezikülleri (50-250 nm çaplı membranla çevrili ve ALP'den zengin) ile sitoplazmada belirgin bazofili (granüllü ER ve ribozom) söz konusudur. Elektron mikroskopik düzeyde ise, sitoplazmik uzantılar, osteositlerle bağlantılı (gap junction) yapılarıdır.

Kemiğin yüzeyinde yer alan hareketsiz ve yassılaşmış osteoblastlardan ibaret hücrelere “astar hücreleri” adı da verilmektedir. Bu hücreler, kemiğin yüzeylerini kapladıkları için kemiğin yüzey kaplama hücreleri olarak da bilinirler. Daha önceleri “preosteoblast” oldukları da iddia edilen astar hücrelerinin sitoplazmik uzantıları kemik kanalcıklarına kadar uzanmaktadır (Bilezikian ve diğerleri, 2002). Günümüzde ise, apoptoza uğramak suretiyle osteositlere farklılaşmayan osteoblastların astar hücrelerine dönüşmekte olduğu görüşü kabul edilmektedir (Matsuo ve Irie, 2008). Astar hücrelerinin, kalsiyum

homeostazında, kemik rezorpsiyonunu kemik oluşumuna bağlamada ve osteoklastlar ile kemik matriksi arasında bariyer oluşturmada görevli oldukları görüşü kabul edilmektedir.

2.2.4.2.2.3. Osteosit

Osteoblastlardan farklılanan, kalsifiye matriks arasındaki “laküna”lar içinde yerleşik, matür hücreler olup, bölünme gücünü kaybetmişlerdir. Kemik dokunun canlı kalmasını sağlarlar. Sitoplazmik uzantıları kanaliküller içinde seyredip komşu hücrelerle gap junction kurarlar. Besin maddeleri ve hormonlar sitoplazmik uzantılarla hücreden hücreye difüzyonla geçmekte olup, kireçlenmiş matriks içinde bulunur ve metabolik aktivitesi azdır.

2.2.4.2.2.4. Osteoklast

Osteoklastlar, kan monositleri ile aynı kök hücreden köken alırlar. Bu hücreler kemiklerin iç yüzeyine yerleşmiş olup yıkım gerçekleştiren hücrelerdir. İri, çok çekirdekli, asidofilik sitoplazmaya sahip hücrelerdir. Osteoklastların sitoplazmaları Golgi kompleksi, mitokondriyon, polizom ve lizozomal enzimlerden zengin, ancak granüllü ER’den fakirdir. Osteoklastların kemik yüzeyine oturdukları çukurlara “Howship lakünaları” denir. Kemik dokunun rezorbsiyonundan sorumludur.

2.2.5. Kemik Doku Oluşumu

Kemik oluşumu, 2 farklı kemikleşme ile sağlanmaktadır: (1) Bağ doku tarafından gerçekleştirilen “intramembranöz kemikleşme”; ve (2) Hyalin kıkırdak hücreleri tarafından oluşturulan “endokondral kemikleşme”.

2.2.6. Matür Kemiğin Morfolojik Yapısı

Morfolojik olarak, matür (olgun, sekonder, lamellar) kemiğin 3 farklı bölümü mevcuttur:

2.2.6.1. Substantia Compacta

Kompakt (kortikal) kemik, “sekonder kemik” yapısında olup, 3-7 µm kalınlığında birbirine paralel ya da bir vasküler kanal etrafında dairesel olarak dizilmiş lameller halinde düzenlenmiş kollajen liflerinden oluşmaktadır. “Osteon” ya da “Havers sistemi” adı verilen yapı, kan damarlarını içeren ve “Havers kanalı” adı verilen bir kanalı saran konsantrik dairesel lamellerden oluşmaktadır. Osteosit hücreleri lameller arasında yer alan lakünalar içinde yer almaktadır. Havers kanalları kemiğin uzun eksenine paralel seyreden, endosteum ile örtülü, kan damarları, sinirler ve gevşek bağ dokusu içeren silindirik yapılardır. Havers kanallarının çevresinde “osteon “ adı verilen konsantrik lamellar sistem mevcuttur. Enine kemik kesitlerinde yuvarlak boşluklar, boyuna kesitler de ise ince uzun tüpler şeklinde görülmektedirler. Kompakt kemikte bulunan diğer bir kanal “Volkmann kanalı” olup, kemiğin uzun eksenine dik (transvers) ya da oblik seyreden, periosteum, meduller kavite ve Havers kanalları arasında bağlantı kuran ve kan damarlarını dağıtan, endosteum ile örtülü silindirik yapılardır. Volkmann kanalının çevresinde dairesel lamelleri mevcut olmayıp, enine kesitlerde oblik seyirli silindirik, boyuna kesitlerde oblik/dik tüpler ya da yuvarlak boşluklar şeklinde görülmektedir. Havers kanalı etrafında yer alan osteon ya da Havers sisteminden ibaret “Havers lamelleri” yer almaktadır. Osteonların aralarında ise, “interstisyel (ara) lameller” yer almaktadır. Kemiğin yüzeylerinde ise, sirkumferensiyal lameller (iç ve dış dairesel lameller) yer almaktadır.

2.2.6.2. Substantia Spongiosa

Kansellöz (spongioz, süngerimsi, trabeküler) kemik dokusu anastomozlaşan kemik trabeküllerinden oluşmaktadır. Trabeküllerdeki lameller paralel seyir göstermekte olup, aralarında kemik iliği ile dolu olan boşluklar yer almaktadır. Sekonder kemik yapısında olan süngerimsi kemik dokuda Havers kanalları ve Volkmann kanalları mevcut değildir. Kemik

iliği boşluğunda besin ve oksijen yer almaktadır.

2.2.6.3. Medulla Ossium

Medulla ossium (kemik iliği), uzun kemiklerin ve bazı yassı kemiklerin iç yüzünde “canalis ossium medulla” bulunmaktadır. Bu kanalda “medulla ossium rubra”, yani kırmızı kemik iliği, yer almakta olup, kan dolaşımına atılmak üzere eritrosit üretmektedir.

2.2.7. Uzun Kemiklerin Anatomik Yapısı

Uzun kemiklerin gövdelerine “diyafiz” (diaphysis) her iki uç kısmına ise “epifiz” (epiphysis) denir (Bhuiyan ve diğerleri, 2018; Hart ve diğerleri, 2020). Diyafiz ile epifiz arasındaki kıkırdak yapılı kısım “metafiz” (metaphysis) (Bhuiyan ve ark, 2018; Hart ve diğerleri, 2020). Metafiz kemik metabolizmasının en yoğun olduğu kısımdır. Epifiz çizgisi, epifiz plağı, büyüme çizgisi ve büyüme plağı olarak da bilinen bu yapı kemik dokusunda büyümenin hala devam ettiğini kanıtlayan hyalin kıkırdaktan ibaret bir dokudur. Nihayet, büyüme tamamlandığında ise, bu bölge tamamen kemikleşmek suretiyle ortadan kaybolmaktadır. Metafizde bulunan hücreler kemiklerin uzunlamasına büyümesinde önemli rol oynamaktadır. Kemiklerin enine büyümesi ise, kemiğin periostu altındaki tabakada yer alan osteoblastların etkileriyle, yeni kemik tabakasının eklenmesi ile olmaktadır.

2.2.8. Kemiğin Zarfları

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan 2 farklı tabaka ile çevrelenmiştir. Bunlar; dışarıda “periosteum” ve içeride “endosteum”dur. Kemiğin endosteum (iç yüzeyi) ve periosteum (dış yüzeyi) kısımları, kemiği oluşturan temel hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Kemik dokunun beslenmesi, büyümesi ve onarımı için bağ doku gereklidir. Bağ doku, kemik dokusu için osteoblast kaynağıdır. Periosteum ve endosteumun temel özellikleri Tablo 2.5’de özetlenmiştir (Hart ve diğerleri, 2020).

Tablo 2.5 Kemiğin mikroskobik yapısı

Periosteum - Kemiği dıştan saran kalın bir tabakadır. İki katmandan oluşur: (a) Dış fibröz tabakası; kollajen lifler ve fibroblastları ve (b) İç sellüler tabaka; osteoprogenitor hücreleri içermektedir. Kollajen lifleri kemik yüzeyine paralel bir düzenlenim göstermektedir - Periosteumdan çıkan ve çoğunlukla tip I kollajen liflerinden ibaret olan “Sharpey lifleri” bir açı ile kemik dokusu içine uzanarak dokunun ESM lifleri ile devam etmektedir - Periostun görevleri; kemiği korur, kemiğin beslenmesini, büyümesini ve onarılmasını sağlar. Ayrıca, ligament ve tendonların kemiklere tutunmasını sağlamaktadır
Endosteum - Kemiğin içindeki bütün boşlukları (kemiğin iç yüzünü ve kemik kanallarını) örtmektedir - Tek katlı yassı ve kübik osteoprogenitor hücreler ile az miktarda bağ dokusundan oluşmaktadır - Periost gibi, kemik dokunun beslenmesi, büyümesi ve onarılmasından sorumludur

Kaynak: Tablodaki veriler (Hart ve diğerleri, 2020)’den uyarlanmıştır.

Kısaltmalar: ESM, ekstrasellüler matriks

2.2.9. Kemik Doku Fizyolojisi

Kemik yapısı, serum elektrolit (kalsiyum ve fosfor gibi) seviyeleri de dahil olmak üzere, çeşitli parakrin ve endokrin faktörlerden etkilenmektedir. Bu yeniden şekillenmede, osteoklast, osteoblast ve osteosit gibi çeşitli hücreler rol oynamaktadır (Bhuiyan ve diğerleri, 2018, Hart ve diğerleri, 2020). Bu sürekli yeniden şekillenmede, bu hücrelerin sayısı ve aktivitesi, mekanik uyarıların etkisi altında hormonlar, sitokinler ve yerel olarak üretilen TNF- α gibi çok sayıda sinyal molekülleri tarafından belirlenmektedir (Klein-Nulend ve diğerleri, 2012).

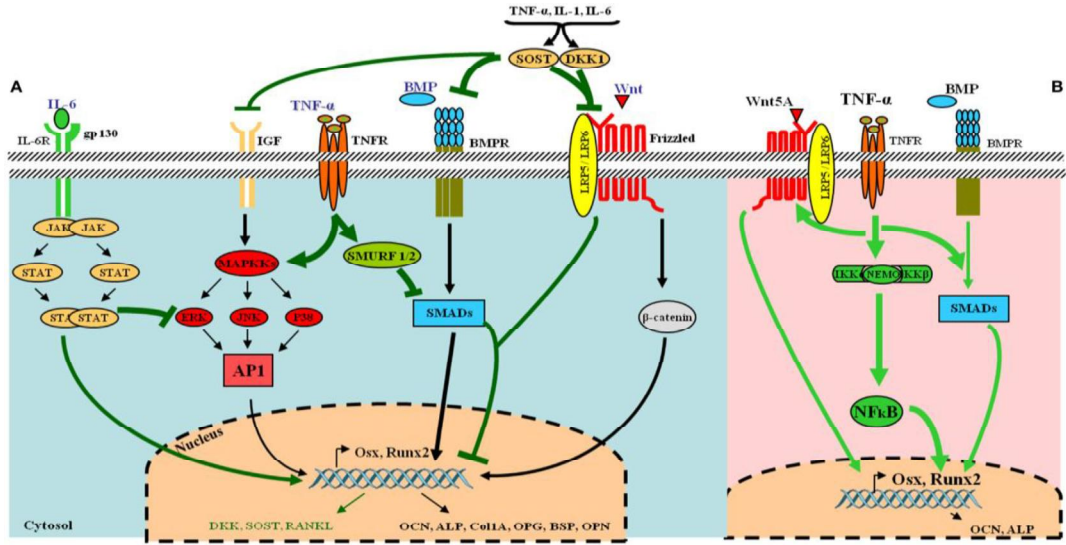
2.2.9.1. Hücresel Mekanizmalar

Kemik dokuda yer alan, osteoblast, osteoklast, osteosit ve osteojenik kök hücreler (ekstrasellüler astar hücreleri) olarak bilinen 4 farklı anahtar hücre arasındaki sürekli bir etkileşim sayesinde kemiğin mevcut şekli korunmaktadır (Seeman, 2009; Crockett ve diğerleri, 2011; Feng ve McDonald, 2011; Nguyen ve diğerleri, 2013).

2.2.9.1.1. Osteoblastların Biyolojisi

Uyarılabilir ve anabolik özellikleri olan osteoblastlar hem kollajen sentezi ve hem de kalsifikasyonda rol oynamak suretiyle, yeni kemik materyali yapımına katkıda bulunmaktadır (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Raggatt ve Partridge, 2010). Osteoblastlar, adipositlere, kondrositlere, fibroblastlara, iskelet kası hücrelerine ve tendon hücrelerine farklılaşabilen MKH'leri adı verilen pluripotent kök hücrelerinden türetilmektedir (Osta ve diğerleri, 2014). Bir dizi faktör, osteoblastik yöne doğru farklılaşmayı uyarabilmektedir. İlk adım, histonlar, fibronektin ve tip I kollajen gibi proteinlerin üretimine yol açan osteoprogenitörlerin proliferasyonunu içermekte olup, ALP, BSP ve tip I kollajen üretiminden sorumlu genlerin ekspresyonu yoluyla osteojenik matris oluşmaktadır (Osta ve diğerleri, 2014). Son olarak, OCN, OPN ve kollajenaz salınımında rol alan genlerin aktivasyonu ile hücre dışı matris mineralize edilmektedir (Osta ve diğerleri, 2014). Bu karmaşık gen ekspresyonu ve hücrel farklılaşma basamağı, runt-ilişkili transkripsiyon faktörü-2 (Runx2) ve RANKL'nin yüzey ekspresyonu dahil olmak üzere çeşitli transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenmektedir (Şekil 2.6) (Osta ve diğerleri, 2014).

Osteojenik süreçte osteoblastlar ekstrasellüler kemik astar hücrelerine ve kemik matriksine gömülü halde bulunan osteositlere dönüşmektedir (Franz-Odenaal ve diğerleri, 2006; Karsenty ve diğerleri, 2009; Bhuiyan ve diğerleri, 2018). Osteoblastlar, modelling ve homeostaz süreçlerinde birbirinlerinde faaliyet göstermektedir.

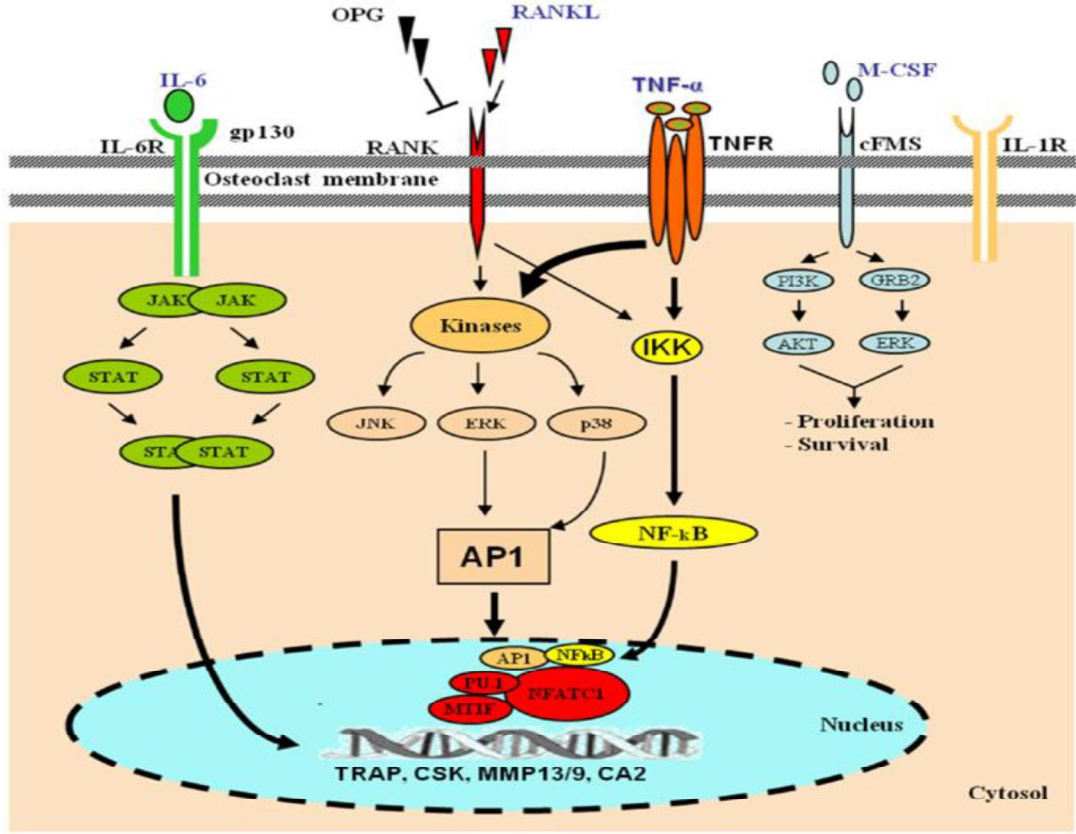


Şekil 2.6. Osteoblastogenez ve pro-inflamatuar sitokinlerin rolü. (A) Normal koşullar altında, osteoblastlarda çeşitli reseptörler ve aşağı akış sinyal yolları aktive edilebilmekte olup, en yaygın ligandlar, reseptörler ve sinyal iletimleri (siyah renkli) gösterilmiştir. Buna karşın, PKM gibi bir enflamasyon hali mevcudiyetinde ise, pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-6, IL-1 ve TNF- α) salınımı sonucu çeşitli mekanizmalar yoluyla osteojenik farklılaşmanın inhibe olması (yeşil renkli) gösterilmiştir. (B) Pro-inflamatuar sitokinler, BMP-2, Osx, Runx2, OCN ve Wnt yolunun ekspresyonunda artışa sebep olmak suretiyle, NF- κ B aracılığıyla osteojenik farklılaşmayı sağlamaktadır. Kısaltmalar: AP-1, aktivatör protein 1; BMPR, BMP reseptörü; ERK, hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz; FGF, fibroblast büyüme faktörü; gp130, glikoprotein 130; IL-6R, IL-6 reseptörü; JAK, Janus kinaz; JNK, JUN N-terminal kinaz; LRP5-6, düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne bağlı protein 5 veya 6; Osx, osterix (Sp7); OPG, osteoprotegerin; ALP, alkalın fosfataz; BSP, kemik sialoproteini; OPN, osteopontin; OCN, osteokalsin; p38, p38 MAPK [Bu şekil, (Osta ve diğerleri, 2014)'den alınmıştır]

2.2.9.1.2. Osteoklastların Biyolojisi

Osteoklastlar, monosit soyundan türetilen hematopoetik hücreler olup, olgun kemik emici hücreler haline gelmek için bir dizi farklılaşma aşamasından geçerler (Osta ve diğerleri, 2014). Osteoklasta özgü genlerin transkripsiyonel düzenlemesinin hücre içi sinyal

kaskadı, makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) ve nükleer faktör kappa-B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL) tarafından aktive edilmektedir (Şekil 2.7) (Asagiri ve Takayanagi, 2007; Osta ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.7. Osteoklastogenez ve pro-inflamatuar sitokinlerin rolü. Hematopoetik kök hücreler farklılaştıktan sonra, RANKL'nin etkisi altında osteoklast fenotipine doğru ilerleyerek, RANKL, transkripsiyon faktörleri AP-1 ve NF-κB aracılığıyla sinyal vermektedir. RANKL varlığında, pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-6, IL-1 ve TNF-α), osteoklast oluşumunu artırmak için işbirliği içinde çalışmaktadır. Kısaltmalar: AKT, protein kinaz B; CA2, karbonik anhidraz 2; CSK, katepsin K; ERK, hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz; IKK, IκB kinaz; JAK, Janus kinaz; gp130, glikoprotein 130; GRB2, büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2; M-CSF, makrofaj koloni uyarıcı faktör; MITF, mikroftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörü; MMP, matriks metalloproteinaz; NFATc1, aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü, sitoplazmik 1; PI3K, fosfoinositid 3-kinaz; SPI1, dalak odak oluşturan virüs (SFFV) proviral entegrasyon onkogeni spi1; STAT, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü; TRAP, tartrata dirençli asit fosfataz [Bu şekil, (Osta ve diğerleri, 2014)'den alınmıştır]

Osteoklastlar, kemik materyalinin yıkımında rol oynamakta ve katabolik bir özellik göstermektedir (Raggatt ve Partridge, 2010; Osta ve diğerleri, 2014). Osteoklastlar, osteoklastogenez sonrasında 2 ila 4 hafta içinde apoptozise uğramakta olup, oldukça kısıtlı bir yaşam süresine sahiptirler (Yavropoulou ve Yovos, 2008; Osta ve diğerleri, 2014; Bhuiyan ve diğerleri, 2018). Osteoklastlar, modelling ve homeostaz süreçlerinde osteoblastlar ile bir arada ya da birbirinlerinde bağımsız olarak faaliyet göstermektedir.

2.2.9.1.3. Osteositlerin Biyolojisi

Osteositler, osteoblast farklılaşması yoluyla MKH'lerinden türetilmektedir. Kemik matriksinde bulunurlar ve yetişkinlerdeki tüm kemik hücrelerinin % 90-95'ini temsil etmektedir (Franz-Odenaal ve diğerleri, 2006; Bonewald, 2011; Osta ve diğerleri, 2014). Osteositler, mineralize ortamlarında on yıllara kadar uzanan, kemik hücreleri arasında en uzun ömre sahip olan hücrelerdir (Osta ve diğerleri, 2014). Osteositler, osteoblasttan osteosite ontogenez sırasında salınan farklı belirteçlerin ekspresyonu yoluyla kemik yapısının dinamiklerinde rol oynamaktadır. Ayrıca, osteositler böbrekteki fosfat taşınması gibi diğer organların işlevini de etkilemektedir (Osta ve diğerleri, 2014). Diğer yandan, osteositlerin artık kemiğin mekanik yüklenmesi için ana sensörler olduğu bilinmektedir. Kemik yüklenmesinden kaynaklanan kanaliküler akışı, osteoklastları ve osteoblastları harekete geçiren sinyallere dönüştürürler (Osta ve diğerleri, 2014). Osteositler tarafından RANKL'nin yüksek ekspresyonu nedeniyle, osteoblastlara ve kemik MKH'lerine kıyasla osteoklastogeneze daha önemli bir katkı sağlamaktadırlar (Nakashima ve diğerleri, 2011; Nakashima ve diğerleri, 2012; Osta ve diğerleri, 2014).

Osteositler hem kemik yapımında ve hem de kemik yenilenmesinde anahtar rol oynamaktadır (Franz-Odenaal ve diğerleri, 2006; Bonewald, 2011; Osta ve diğerleri, 2014). Osteositler, osteogenez sürecinde üretilen ve daha sonra mineralize kollajen matriksi içine gömülen osteoblastların soyundan gelen kemik hücreleridir (Huiskes ve diğerleri, 2000; Franz-Odenaal ve diğerleri, 2006; Bhuiyan ve diğerleri, 2018). Bu hücreler, hem çevresel değişikliklerin saptamasında ve hem de ortaya çıkan tepkilerin de duyu kanalları ağı aracılığı ile diğer osteositlere, osteoblastlara ve kemik astar hücrelerine iletilmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Aarden ve diğerleri, 1994; Bonewald, 2007; Nguyen ve diğerleri, 2013). Sözü edilen duyu kanalları ağı, mekanik yükün yada ortaya çıkan bir mikro

hasarın saptanmasında rol oynayan yapılar olup, her bir osteosit başına yaklaşık 60 ila 80 adet dendritik bağlantıdan oluşmaktadır (Bonewald, 2007; Bonewald, 2011; Nguyen ve diğerleri, 2013). “Mekanotransdüksiyon” olarak adlandırılan ve oldukça hassas olan bilinen bu işlev sayesinde, kemiğin büyüme ve onarım süreçlerinde mekanik enerji kolayca algılanabilmekte ve daha sonra da çeşitli biyokimyasal sinyallere dönüştürülmektedir (Aarden ve diğerleri, 1994; Reis ve diğerleri, 2011). Kemiklerin mekanik değişiklikleri nasıl algıladığı hususu da dahil olmak üzere, sözü edilen mekanik iletim süreci ile ilişkili tüm olaylar aşağıda kemik adaptasyonu bölümünde ayrıntılı bir şekilde ele alınacaktır.

2.2.9.2. Hormonal Mekanizmalar

Hormonal regülasyon, kemik dokunun büyümesi ve korunmasında önemli bir rol oynamakta olup, mekanik yüklerden bağımsız bir şekilde yaşam boyu iskelet homeostazını kontrol etmektedir (Rizzoli ve diğerleri, 2001; Martin ve Correa, 2010). Endokrin sistem, kemik yapımı ve rejenerasyonu ile kemikte mineral birikimi ve homeostatik hücresel dengenin korunmasında görev yapmaktadır (Fukumoto ve Martin, 2009). Hormonal bir düzensizliğin söz konusu olduğu durumlarda, kemik doku ile ilişkili çeşitli olumsuzluklar ortaya çıkabilmektedir (Rizzoli ve diğerleri, 2001; Ducy, 2011). Endokrin aktivite, dinamik fizyolojik gereksinimlere uygun olarak, kalsiyum-fosfat dengesi, enerji metabolizması ve kemik mineralizasyonu ile ilişkili oldukça karmaşık bir biyolojik sistem üzerine etki göstermektedir (Ducy, 2011). Endokrin sistemin kemik sağlığı ve metabolizması üzerine olan etkileri özellikle erişkinlerde ve yaşlılarda daha fazla önem taşımaktadır (Agas ve diğerleri, 2013).

Kemik metabolizmasının endokrinolojik regülasyonu; büyüme hormonu, gonadal hormonlar ve kalsitropik düzenleyici hormonlar tarafından sağlanmaktadır (Tablo 2.6) (Fukushima ve diğerleri, 2005; Quarles, 2008; Agas ve diğerleri, 2013; Hart ve diğerleri, 2020). Spesifik olarak, büyüme hormonları biçimlendirici, gonadal hormonlar biçimlendirici ve anti-resorptif özellik gösterirken, kalsitropik hormonlar homeostatik etkileri sayesinde büyüme ve olgunlaşma döneminde kemik kütlesinin artmasını sağlamak üzere birlikte hareket etmektedir (Yakar ve diğerleri, 2002; Ducy, 2011; Legiran ve Brandi, 2012). İnsan yaşamının ilk yıllarında sürekli kemik yapımı sonucu kemik kütlesi maksimum düzeyine ulaştıktan sonra, yetişkinlik çağında hormonal aktivitenin de azalmaya başlaması sonucunda kemik yapımı ve kemik rezorpsiyonu arasında bir denge hali ortaya çıkmakta ve

nihayet ileri yaşlarda, kemik rezorpsiyonu tabloya hakim olmaktadır (Rizzoli ve diğerleri, 2001). Kemik metabolizmasındaki sözkonusu değişikliklerin sebebi endokrin aktivitedeki farklılıklardır (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Raggatt ve Partridge, 2010; Agas ve diğerleri, 2013). Endokrinolojik fonksiyonlardaki bozukluklara yol açan çeşitli hormonal dengesizlikler kemik koruma stratejilerinin farmakolojik temelini oluşturmaktadır (Palacios, 2006). Osteoporoz mevcudiyetinde kan kalsiyum değerinde ve kemik turnover sürecinde bir artış sözkonusu olup, tedavisinde kalsitonin ve östrojen kullanılmaktadır.

Tablo 2.6 Kemik metabolizmasının endokrin düzenlenmesi

Hormonlar	Kemik metabolizması
hGH (somatotropin)	Kemik yapımı uyarır
IGF-1	Kemik yapımı uyarır
Glukokortikoidler	Kemik yapımı engeller ve rezorpsiyonu uyarır
Ghrelin	Kemik yapımı uyarır ve rezorpsiyonu engeller
Leptin	Kemik yapımı engeller ve rezorpsiyonu uyarır
Tiroksin (T3 ve T4)	Kemik yapımı ve rezorpsiyonu uyarır. Net etki: “homeostatik” (kemik turnover uyarıcı)
ACTH	Kemik yapımı ve rezorpsiyonu uyarır. Net etki: “homeostatik” (kemik turnover uyarıcı)
Oksitosin	Kemik yapımı ve rezorpsiyonu uyarır. Net etki: “homeostatik” (kemik turnover uyarıcı)
Prolaktin	Kemik rezorpsiyonu uyarır
Androjenler	Kemik yapımı uyarır
Östrojen	Kemik yapıma izin verir ve rezorpsiyonu engeller
PTH	Kemik yapımı ve rezorpsiyonu uyarır. Net etki: “homeostatik” (kemik turnover uyarıcı)
Kalsitonin	Kemik yapımı uyarır ve rezorpsiyonu engeller
D3 vitamini	Kemik yapımına izin verir ve rezorpsiyonu uyarır

Kaynak: Tablodaki veriler (Hart ve diğerleri, 2020)’den uyarlanmıştır.

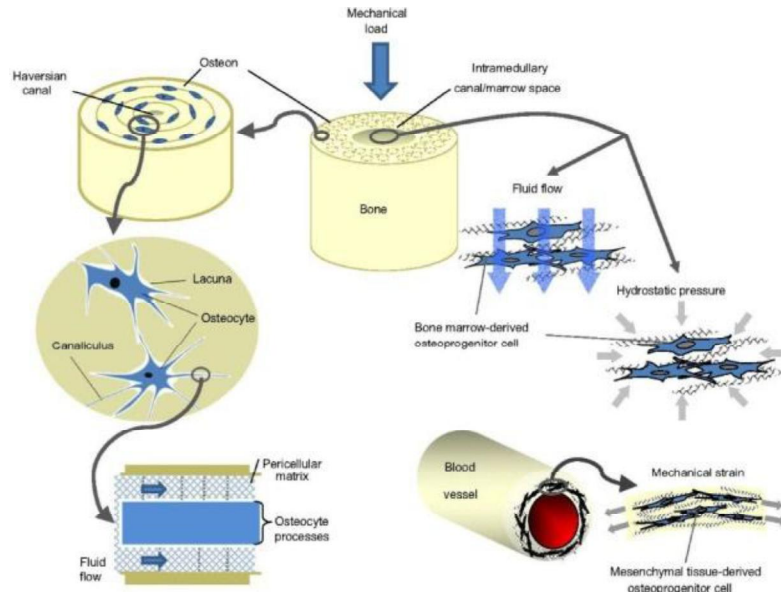
Androjenler: Testosteron, androstenedion, dehidroepiandrosteron (DHEA) ve dihidrotestosteron (DHT) gibi erkek cinsiyet hormonlarını içeren hormon topluluğu.

Kısaltmalar: IGF, insülin benzeri büyüme faktörü; ACTH, adrenokortikotropik hormon; PTH, paratiroid hormon

2.2.10. Kemik Adaptasyonu

2.2.10.1 Mekanik İletim

Julius Wolff'un öncülüğünü yaptığı ve daha sonra Wilhelm Roux'un geliştirmiş olduğu "Wolff Yasası" ve nihayet Harold Frost'un ileri sürmüş olduğu "Mechanostat Teorisi" ile daha detaylı bir hale gelen kemik modeling ve remodeling paradigmaları hala güncelliğini korumaktadır (Wolff, 1986; Frost, 2003). Sözü edilen teoriler, günlük aktiviteler ile ilişkili mekanik yüklere yanıt olarak kemik dokunun kütlesini ve yapısını değiştirebilme yeteneğini tanımlamaktadır (Hammer, 2015). Aslında, bu mekanobiyolojik ilişkinin temeli henüz tam olarak anlaşılamamış olup, hala belirsizliğini korumaktadır (Chen ve ark, 2010). Özellikle, hücresel mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamış olup, günümüzde yapılan araştırmalarının esasını bunlar oluşturmaktadır (Bonewald, 2007; Chen ve diğerleri, 2010; Reis ve diğerleri, 2011).



Şekil 2.8. Mekanotransdüksiyon: Kemik dokusunun hiyerarşik yapısı ve osteositlerin özellikleri (solda), hidrostatik basınçtan ve içinden geçen sıvı akışı ve biyokimyasal sinyaller tarafından indüklenen osteoprogenitor hücreler (sağda) görülmektedir [(Chen ve diğerleri, 2010)'dan uyarlanarak hazırlanmış olan bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den alınmıştır]

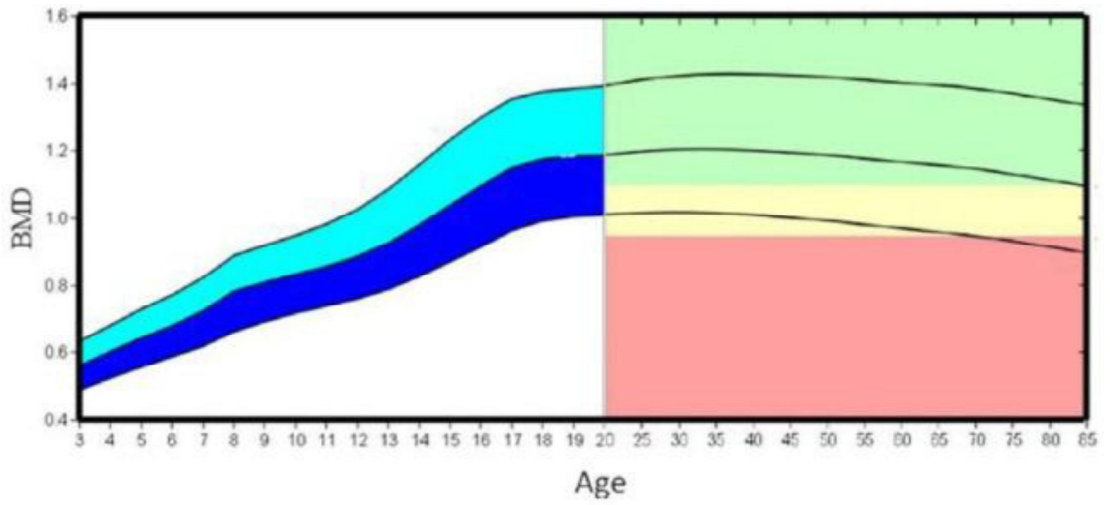
Mekanotransdüksiyon, mekanik bir yükün doku düzeyinde çeşitli morfolojik değişikliklere yol açan hücrel tepkilere dönüştürülmesini ifade etmektedir (Şekil 2.8) (Chen ve diğerleri, 2010; Nguyen ve diğerleri, 2013; Humphrey ve diğerleri, 2014; Hart ve diğerleri, 2020). Mekanik bir kuvvete karşı verilen hücrel tepkiler, esas olarak, 4 aşamadan ibaret bir süreçtir: (1) Mekanik birleştirme; (2) Biyokimyasal eşleme; (3) Sinyal iletimi; ve (4) Efektör hücre tepkisi (Sikavitsas ve diğerleri, 2001; Humphrey ve diğerleri, 2014). Kemik deformasyonuna yol açan fiziksel kuvvetler, önce kanaliküller içinde interstisyel sıvı hareketi yaratmakta ve daha sonra da burada mevcut mekanik duyu hücreler aracılığıyla biyokimyasal bir aktiviteye yol açmaktadır (Knothe ve diğerleri, 2004). Böyle bir süreç sonucunda oluşan piezoelektrik sinyaller osteositler, astar hücreleri ve osteoblast hücrelerinden oluşan lakuno-kanaliküler ağlar aracılığıyla iletilmektedir (Sikavitsas ve diğerleri, 2001; Reis ve diğerleri, 2011). Mekanik yük ile kemik adaptasyonu arasında bir doz-yanıt ilişkisi söz konusu olup, bu ilişki kemik doku modeling ve remodeling teorilerinin temelini oluşturmaktadır (Humphrey ve diğerleri, 2014; Wu ve diğerleri, 2016).

2.2.10.2 Kemik Dokuda “Modeling” Süreci

“Modeling” süreci, çeşitli fizyolojik ve mekanik etkilere bir yanıt olarak, kemiğin büyüklüğünü, şeklini ve gücünü düzenleyen dinamik hücrel aktivite dizisinden ibaret karmaşık bir süreçtir (Szulc ve diğerleri, 2006; Clarke, 2008). Hücrel düzeyde, osteoblastlar, osteoklastlardan bağımsız bir şekilde faaliyet göstermektedir (Szulc ve diğerleri, 2006; Clarke, 2008; Chen ve diğerleri, 2010; Martin ve Correa, 2010). Doku düzeyinde ise, periosteal apozisyon ve eşzamanlı endokortikal rezorpsiyon sonucunda, eski kemik materyali kısmen korunmakta ve yeni kemik oluşumu sayesinde kemik kütlelerinde bir artış sağlanmaktadır (Szulc ve diğerleri, 2006; Clarke, 2008; Seeman, 2008a; Seeman, 2008b; Chen ve diğerleri, 2010).

Kemik dokuda hem boyuna ve hem de enine (radyal) bir büyüme sağlamak amacıyla, kollajen sentezlenerek ekstrasellüler matriks üzerinde biriktirmek suretiyle, bir yandan periost uzatılmakta, kalınlaştırılmakta ve genişletilmekte, diğer yandan da eş zamanlı olarak endokortikal rezorpsiyon ile kemik iliği boşluğu genişletilmektedir (Clarke, 2008; Seeman, 2008a; Seeman, 2008b). Sözü edilen morfolojik değişiklikler sayesinde, kemiğin enine kesit alanı artırılmakta ve kemik materyali kemiğin merkezinden daha uzağa yerleştirilip

momenti arttırılmak suretiyle kemiğin gücünde bir artış sağlanmaktadır (Clarke, 2008; Seeman, 2008a; Seeman, 2008b; Fonseca ve diğerleri, 2014). Kemik materyalinin miktarını arttırılması, sıkıştırma ve gerginlik hallerinde kemiğin gücü üzerinde olumlu bir etki yaratırken, kemiğin materyalinin kemiğin merkezinden daha uzağa dağıtılması ise bükülme ve burulma hallerinde kemiğin gücünde bir artış sağlamaktadır (Seeman, 2008a; Seeman, 2008b). Sözü edilen bu morfolojik değişiklikler sonucunda, basınç kuvvetleri daha geniş bir alana dağıtılmakta ve bükülme kuvvetlerine direnerek uygulanan mekanik yüklerin gerilmeleri istenen belli bir aralıkta tutulmaktadır (Seeman, 2008a; Seeman, 2008b).



Şekil 2.9. Kemik kütlesi değişikliklerinin göstergesi olan kemik mineral dansitesinin kazanılması, yaşam süresi boyunca sürdürülmesi ve kaybedilmesi. Ergenlik yıllarında toplam yetişkin kemik kütlesinin yaklaşık % 50-60'ının yaklaşık 30 yaşından önce kazanılmış olduğuna ve en yüksek kemik kütlesi değerine ulaşıldıktan sonra, normal (yeşil renkli olarak gösterilmiş olan), osteopenik (sarı renkli olarak gösterilmiş olan) veya osteoporotik (kırmızı renkli olarak gösterilmiş olan) kemiğin dansitesi aralıklarının her biri için, ileri yaşlara doğru kademeli olarak kemik kütle değerinin bir azalma gösterdiğine dikkat ediniz. Kısaltmalar: BMD, kemik mineral yoğunluğu [Bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)'den alınmıştır]

Kemik yapımı insan yaşamının özellikle ilk 30 yılında aktif bir süreç olup, bu dönem sonunda maksimal kemik kütlesi elde edilmektedir (Hart ve diğerleri, 2020). Büyüme sırasında kemiğin ve iskelet sisteminin gelişimini belirleyen faktörler şunlardır: (1) Cinsiyet,

etnik köken ve genetik gibi “değiştirilemez” faktörler; ve (2) Beslenme, hormonlar, yaşam tarzı ve fiziksel aktivite gibi “değiştirilebilir” faktörler (Seeman, 2008a; Seeman, 2008b; Santos ve diğerleri, 2020). Kemik gelişimi, yaşam boyu devam eden doğrusal bir süreç olmayıp, ergenlik yıllarında maksimal hıza ulaşmakta ve bu dönem sonunda toplam erişkin kemik kütlelerinin yaklaşık % 50 ila % 60’ı elde edilmektedir (Pitukcheewanont ve Safani, 2006). İnsan yaşamının erken evrelerinde, kemik dokunun duyarlılığı ve tepkiselliği oldukça artmış olup, aslında bu dönem kemik dokunun direncinin artırılması için önemli bir fırsat (adaptasyon penceresi) sunmaktadır (Pettersson ve diğerleri, 2010). Aynı şekilde, “remodeling” olarak adlandırılan düzenleyici süreç sayesinde de kemik doku gücünün artırılması mümkün hale gelmektedir (Şekil 2.9) (Martin ve Correa, 2010; Hart ve diğerleri, 2020).

2.2.10.3. Kemik Dokuda “Remodeling” Süreci

“Remodeling” sürecinde, eski kemiğin rezorpsiyonu ile yeni kemik oluşumu arasında “kemik turnover”ı olarak adlandırılan oldukça dinamik ve süreklilik gösteren bir denge söz konusudur. Kemik doku sert olmasına rağmen, dışarıdan fiziksel bir kuvvet uygulandığında iç yapısını değiştirebilmektedir. Kemiğe etkileyen fiziksel bir bası ya da itme kuvveti sonucu kemik rezorpsiyonu, kemiğe etkileyen germe kuvveti sonucu ise, yeni kemik oluşumu söz konusudur. Kemiğin rezorpsiyonu olayında osteoklast hücrelerinin kemik dokuyu parçalaması sonucu; tip 1 kollajen fragmanları telopeptit şeklinde idrarla atılmakta ya da telopeptidler karaciğer ve böbrekte parçalanarak amino asitler (piridinolin ve deoksipiridinolin)’e dönüşmektedir.

“Remodeling” süreci, kemiğin yapısal bütünlüğünün korunması ve mekanik yeterliliğin sürdürülmesi için senil bir süreç olmakla birlikte, hasarlı kemiğin yeni ve sağlıklı materyalle değiştirildiği homeostatik ve restoratif bir süreç olarak da bilinmektedir (Şekil 2.9 ve Şekil 2.10) (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Seeman, 2008a; Seeman, 2008b; Raggatt ve Partridge, 2010; Crockett ve diğerleri, 2011; Feng ve McDonald, 2011; Hart ve diğerleri, 2020). Söz konusu sürecin düzenleyici rolü, kemik dokusunun feedback mekanizmasıyla modülasyonunu sağlayan entegre duyuşal sinyallere dayanmaktadır (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Szulc ve diğerleri, 2006; Clarke, 2008; Raggatt ve Partridge, 2010). Aslında, oldukça karmaşık olan bu süreç, kemik gücünü optimize edilmesi

Remodeling sürecinde, hasarlı kemiğin rezorbe edilmesi ve sağlıklı kemiğin büyütülmesi için osteoklastlar ve osteoblastlar arasında koordineli ve ardışık bir hücresel etkileşim söz konusudur (Szulc ve diğerleri, 2006; Martin ve Correa, 2010; Crockett ve diğerleri, 2011). Böyle bir etkileşim, osteosit-osteoklast-osteoblast'dan oluşan çok hücreli birimlerden oluşan yapılar aracılığı ile kan dolaşımı ve bağ dokusu varlığında gerçekleşmektedir (Seeman, 2008a; Raggatt ve Partridge, 2010; Feng ve McDonald, 2011). Remodelling sürecinde; kortikal kemik dokusu, tünel benzeri bir rezorbe edici boşluk (2000 µm uzunluk; 200 µm genişlik) kullanarak, düşük bir yüzey-hacim oranı ve yavaş bir turnover sayesinde oluşmakta iken, trabeküler kemik dokusu ise yüzeysel bir hendek benzeri rezorbe edici boşluk (60 µm derinlik) kullanarak, yüksek yüzey-hacim oranı ve daha hızlı turnover sonucu oluşmaktadır (Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Robling ve diğerleri, 2006). Sonuçta, her yıl kortikal kemiğin % 3-5'i ve trabeküler kemiğin ise % 25-30'u remodelling süreciyle yenilenmekte olup, yetişkin bir insan iskeleti yaklaşık her 10 yılda bir tamamen kendini yenilemektedir (Tablo 2.7) (Huiskes ve diğerleri, 2000; Hadjidakis ve Androulakis, 2006; Hart ve diğerleri, 2020).

Tablo 2.7 Yetişkinde kemik remodeling süreci

BMU'nun ömrü: 6-9 ay
Remodeling süresi: 4-6 ay
Remodeling hızı: 25 µm / gün
Tek bir BMU ile değiştirilen kemik hacmi: 0,025 mm ³
Osteoklastların ömrü: 2 hafta
Osteoblastların ömrü (aktif): 3 ay
Aynı yerde birbirini izleyen remodeling olayları arasındaki aralık: 2-5 yıl
Tüm iskeletin turnover oranı: % 10 / yıl*

Kaynak: Tablodaki veriler (Huiskes ve diğerleri, 2000; Hart ve diğerleri, 2020)'den uyarlanmıştır.

*Yılda % 10 yaklaşık olarak kortikal kemik için yıllık % 4 (iskeletin % 75'i) ve yıllık % 28 trabeküler kemik (iskeletin % 25'i) turnover varsayılır: $[0,75 \times 4] + [0,25 \times 28] = \% 10$.

Kısaltmalar: BMU, osteosit-osteoklast-osteoblast'dan oluşan birim

2.2.10.4. Kemik Dokusu Degradasyonu

Degradasyon (yıkım, bozulma), kemik materyalinin katabolik hücresel aktivite sonucu rezorpsiyona uğrayarak azalması ve sonuçta kemiğin mekanik gücünün tehlikeli bir düzeyde azalma gösterdiği bir yıkım sürecidir (Robling ve diğerleri, 2006). Basitçe ifade edilirse, 2 çeşit degradasyon mevcuttur: (1) Mekanik degradasyon, hareketsizliğe ve mikro yerçekimi etkilerine bağlı “kullanmama durumları”nda veya tekrarlanan mekanik yükleme sonucunda ortaya çıkan “aşırı kullanım durumları”nda karşımıza çıkan önlenabilir ve geri döndürülebilir bir kemik yıkım şeklidir (Ehrlich ve Lanyon, 2002; Robling ve diğerleri, 2006; Landrigan ve diğerleri, 2011); (2) Mekanik olmayan degradasyon, ileri yaşlanmada karşımıza çıkan ve fizyolojik kemik kaybı ile karakterize osteopeni, osteoporoz ve diğer bazı kemik yıkım durumlarını tanımlamaktadır (Martin ve Correa, 2010; Feng ve McDonald, 2011; Lau ve Guo, 2011; Sandhu ve Hampson, 2011; Khosla, 2013). Kemik yapımının ve kemik onarımının hücresel yönetimi esas olarak mekanik yüke duyarlı bir süreç olduğundan, yükün yokluğu veya aşırı yük uyarısının sözkonusu olduğu durumlar rezorptif bir aktivite ya da kemik degradasyon ile sonuçlanabilmektedir (Robling ve diğerleri, 2006; Feng ve McDonald, 2011; Lau ve Guo, 2011; Ellman ve diğerleri, 2013).

Uzay yolculuğunda olduğu gibi “mikro yerçekimi” koşullarının varlığında ya da kısmi veya tam felce sebep olmuş omurilik yaralanmasında olduğu gibi hareketsiz kalma nedeniyle kullanılmama hallerinde mekanik yüklerin tamamen ortadan kaldırılması sonucunda kemik kütlesinde hızlı bir kayıp ortaya çıkmaktadır (Rittweger ve Felsenberg, 2009; Klein-Nulend ve diğerleri, 2012). Kemik dansitesi, mikro yerçekimi koşullarının varlığında veya kısmi bir felç ya da yaralanma olmaksızın bir hareketsizlik halinin sözkonusu olduğu durumlarda her ay yaklaşık % 2 oranında azalırken, kas-iskelet sistemi yaralanmasının söz konusu olduğu ya da tam bir felç nedeniyle immobilizasyon halinin söz konusu olduğu durumlarda ise, her ay yaklaşık % 7 oranında azalmaktadır (Lang ve diğerleri, 2004; Robling ve diğerleri, 2006; Feng ve McDonald, 2011; Bettis ve diğerleri, 2018). Bununla birlikte, kemik doku kesit alanı ve mineral içeriğindeki azalmalarda kemik dansitesi ölçümleri normal sonuçlar verebilmekle birlikte, kemik gücü üzerinde dramatik sonuçlara yol açmaktadır (Järvinen ve diğerleri, 2005; Davison ve diğerleri, 2006; Fonseca ve diğerleri, 2014; Mosekilde ve diğerleri, 2000). Progressif bir seyir gösteren kemik kaybı trabeküler kemik dokusunda kortikal kemiğe kıyasla daha hızlı olmaktadır (Robling ve diğerleri, 2006; Feng ve McDonald, 2011; Mosekilde ve diğerleri, 2000).

Yaşlı kişilerde veya spinal kord hasarı geçiren kişilerde kemik kesit alanında materyal kaybı olmaktadır (Demontiero ve diğerleri, 2012). Örneğin; büyümenin durmasından önce travma nedeniyle felçli kalan bireylerde, felçli olmayan kişilere kıyasla, kemiğin periostal çevresinin daha küçük olduğu, ancak büyümenin durmasından sonra felçli kalan olan bireylerin ise, felçli olmayan kişilere benzer bir periostal çevreye sahip oldukları saptanmıştır (Jiang ve diğerleri, 2006; Dionyssiotis ve diğerleri, 2011). Öte yandan, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan endosteal kemik rezorpsiyonunun mekanik bir yük uygulanması halinde azalma gösterip göstermeyeceği hususu ise henüz belirsizdir (Hart ve diğerleri, 2020). Kemiğe dışarıdan mekanik yükleme uygulamasının sebep olduğu bölgesel etkilerin aksine, antirezorptif ilaçlar etkilerini vücuttaki tüm kemikler üzerinde asistematik bir şekilde göstermektedir (Lespessailles ve diğerleri, 2016). Kemiğin enine kesit alanları ve tüm kemik uzunluğu boyunca kemik yapımı ve kemik kaybı arasında karmaşık bir etkileşim söz konusudur.

İlginç bir şekilde, dışarıdan aşırı mekanik yük uygulanması durumunda kemik dokuda rezorpsiyon ve degradasyon ortaya çıkabilmektedir (Popp ve diğerleri, 2014). Herhangi bir iyileşmenin yokluğu ve kemik yorgunluğu sonucunda mikro çatlaklar giderek birleşmek suretiyle büyüme eğilimi göstermektedir (Warden ve diğerleri, 2006). Kemik onarımı ve hasarlı kemik dokunun temizlenmesinin yaklaşık 1 aylık bir süre aldığı ve daha sonra bu dokunun değiştirilmesinin ise, yaklaşık 3 aylık bir süreyi gerektirdiği bilinmektedir (Warden ve diğerleri, 2006; Popp ve diğerleri, 2014). Yorgun kemik dokusu, mekanik yük ile kemik hasarı arasında progresif ve pozitif bir feedback döngüsü söz konusudur (Tommasini ve diğerleri, 2008; Ellman ve diğerleri, 2013). Kemik dokusu gücünün artırılması alışılmış günlük mekanik yüklenmelere karşı kemik yorgunluğunu azaltmakta ve egzersizlerin sebep olduğu dejenerasyona karşı daha fazla koruma sağlamaktadır (Davison ve diğerleri, 2006; Robling ve diğerleri, 2006; Fonseca ve diğerleri, 2014).

2.2.11. Kemik Dokusu Gücünün Değerlendirilmesi

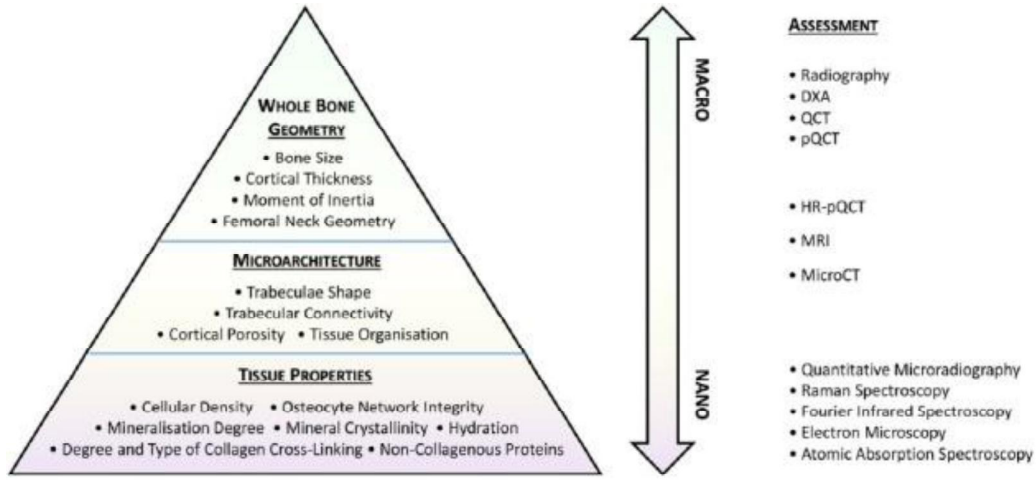
Kemiğin sağlamlığını sağlayan tip 1 kollajen lifleri iken, kemiğin sertliğini sağlayan ise hidroksiapatit kristalleri $[3Ca_3(PO_4)_2 \cdot Ca(OH)_2]$ 'dir. Kemik dokunun gücü, kemiğe dışarıdan uygulanan mekanik yüklere karşı onun direncini ve dayanma yeteneğini ifade etmektedir (Tommasini ve diğerleri, 2008; Fonseca ve diğerleri, 2014; Popp ve diğerleri,

2014). Bir kemik dokunun gücü onun makroskopik ve mikroskopik düzeydeki yapısal özellikleriyle belirlenmektedir (Rho ve diğerleri, 1998; Davison ve diğerleri, 2006; Seeman, 2008a; Fonseca ve diğerleri, 2014). Kemiğin kollajenöz ekstrasellüler matriks bölümü gerilme kuvvetlerine karşı bir direnç sağlarken, minerallerden ibaret olan inorganik kısmı ise onun kompresyona karşı olan direncinden sorumludur. Osteogenezis imperfecta adı verilen hastalıkta olduğu gibi kemiğin kollajen kısmıyla alakalı olan durumlar ya da anti-rezorptif ilaç kullanımında olduğu gibi kemiğin mineralizasyonda değişikliğe sebep olan durumlar kemik dokunun zayıflamasıyla veya güçlenmesiyle sonuçlanmaktadır. Mikroskopik olarak, kemiğin yapısında trabeküllerin mevcut olup olmaması da kemiğin dayanabileceği bükülme ve burulma kuvvetinin derecesini etkileyecektir.

Bölgeye özgü spesifik kemik gücü adaptasyonları dışarıdan uygulanan mekanik yükler tarafından yönlendirilirken, tüm iskelet sistemini ilgilendiren genel sistemik kemik gücü adaptasyonları endokrinolojik hormonal değişiklikler tarafından yönlendirilmektedir (Martin ve Correa, 2010; Sandhu ve Hampson, 2011; Fonseca ve diğerleri, 2014). Bir kemiğin gücünü, onun anatomik ve fizyolojik özellikleri belirlemektedir.

Teorik olarak, bir kemiğin kalitesinin kesitsel ve boylamsal olarak değerlendirebilmesi için onun yapısının ve gücünün ölçülebilir olması gerekmektedir (Järvinen ve diğerleri, 2005; Fonseca ve diğerleri, 2014). Bununla birlikte, bir kemiğin ancak *in vivo* erişilebilirliği böyle bir değerlendirme yapılabilmesine olanak sağlamamakla birlikte, kemikteki eski olayları araştırmak için çoğu kez kadavra kullanılmaktadır (Lai ve diğerleri, 2005; Tommasini ve diğerleri, 2008). Bu nedenle, canlı kemik dokusunun adaptasyonunu değerlendirmek hala güç olup, bugün sözkonusu sınırlamanın üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır (Şekil 2.9) (Fonseca ve diğerleri, 2014; Popp ve diğerleri, 2014; Hart ve diğerleri, 2020).

Son yıllarda, kemik mineral dansite ölçümü için bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tetkiklerinin de kullanımına ilişkin bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Günümüzde kemik dokusu gücünün değerlendirilmesinde sıklıkla başvuru kemik dansitometrisi teknikleri; DEXA ve periferik kantitatif bilgisayarlı tomografi olup, bu tetkikler sayesinde elde edilen sonuçlar serolojik ve urianalitik yöntemler kullanılarak bazı biyokimyasal belirteç ölçümleri yapılarak desteklenmektedir (Şekil 2.11) (Hart ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.11. Kemiğin özelliklerini değerlendirmek için gerekli teknolojiler (sağda) ile birlikte kemiğin gücünün veya kırılabilirliğinin materyal (malzeme) ve strüktürel (yapısal) belirleyicileri (solda); makroskopik, mikroskopik ve nanoskopik olarak (yukarıdan aşağıya) gösterilmiştir [(Fonseca ve diğerleri, 2014)’den uyarlanarak hazırlanmış olan bu şekil, (Hart ve diğerleri, 2020)’den alınmıştır]

DEXA, düşük çözünürlüklü, tek düzlemli ve iki boyutlu bir kemik yoğunluğu görüntüleme cihazı olup, X-ışını ve düşük seviyeli radyasyon kullanılarak kemik doku kütlesi miktarının ve kemik dansitesinin *in vivo* olarak ölçümünün yapılabildiği teknolojik bir yöntemdir (Fonseca ve diğerleri, 2014; Hart ve diğerleri, 2020). DEXA, dokudan geçen ışınlar yoluyla iki farklı foton enerjisi (140 KeV/70 KeV) yayılımını sağlamak suretiyle, sert dokunun yumuşak dokudan ve yağ dokusunun da yağdan yoksun diğer dokulardan ayırtedilmesini mümkün hale getirmektedir (Toombs ve diğerleri, 2012). DEXA, vücuttaki tüm kemiklerin kalitesinin değerlendirilmesi (Cummings ve diğerleri, 2002; Licata, 2009) ve bölgesel kemik mineral yoğunluğu (BMD) ölçümü için yaygın bir şekilde kullanılan güvenilir bir tarama yöntemidir (Toombs ve diğerleri, 2012; Hart ve diğerleri, 2015).

Kemik bozukluklarının klinik tanısı, DSÖ tarafından toplumdan elde edilmiş DEXA ölçümlerinden elde edilmiş bölgesel BMD T-skorlarının altın standart referans değerleri dikkate alınarak yapılmaktadır (Licata, 2009). Bununla birlikte, DEXA kullanılarak tanımlanmış olan skorlamada kemik doku materyalinin yapısı değerlendirilemediği için elde edilen sonucun yetersiz olduğu bir gerçektir (Hart ve diğerleri, 2020). Böylece, DEXA’dan elde edilmiş tek düzlemli ve düşük çözünürlüklü görüntüler kemik doku gücündeki farklılıkları ancak kısmen açıklayabilecektir (Hart ve diğerleri, 2020). Dolayısıyla, hem

osteoporoz tanısıyla alakalı tanı yanlışlıkları, hem de aynı bireyin vücudun farklı bölümlerinden elde edilen T-skorlarında bölgesel farklılıklar sözkonusu olabilmektedir (Boutroy ve diğerleri, 2005). Aslında, daha yoğun dansite değerli kemiğin her zaman daha güçlü olacağını ya da düşük yoğunluk değerine sahip bir kemiğin ise osteoporotik olduğunu söylemek doğru bir yaklaşım olmayacaktır (Boutroy ve diğerleri, 2005; Licata, 2009; Popp ve diğerleri, 2014). Aynı şekilde, daha düşük BMD değeri mevcudiyeti fraktür riskinin daha yüksek olacağını telkin etmekle birlikte, BMD değeri ile fraktür riski arasındaki ilişkinin sürekli değişkenlik gösterebildiği iddia edilmektedir (Licata, 2009; Popp ve diğerleri, 2014). Bu nedenle, daha doğru bir tanı için BMD ölçümü yanında kemik materyali yapısının da dikkate alındığı ayrıntılı analizlerin yapılmasına gereksinim olduğu aşıkardır (Cummings ve diğerleri, 2002; Stagi ve diğerleri, 2016).

2.2.12. Biyokimyasal Belirteçler

Kemik metabolizmasıyla ilgili biçimlendirici ve rezorptif aktivitelerin değerlendirilmesi amacıyla, kan ve idrar örneklerinde çeşitli biyokimyasal belirteçlerin analizlerinin yapılması klinisyenler için son derece yararlı bilgiler sağlamaktadır (Srivastava ve diğerleri, 2005). Bu ölçümler sayesinde, kemik dokunun endojen (hormonlar, sitokinler ve büyüme faktörleri) ya da eksojen (mekanik yüklenme) faktörlere verdiği yanıtın kemik yapımı ya da rezorpsiyon (kemik yıkımı) şeklinde mi olacağını tahmin edilmesi mümkün olabilecektir (Camoszi ve diğerleri, 2007).

Biyobelirteçler, kemik sağlığının değerlendirilmesinde oldukça yararlıdır (Tablo 2.8) (Srivastava ve diğerleri, 2005; Hart ve diğerleri, 2020). Çünkü; sözkonusu biyokimyasal örnekler kolaylıkla elde edilerek oldukça yüksek bir duyarlılıkla analiz edilebilmekle birlikte, tek başlarına tanı değerleri oldukça sınırlıdır (Risteli ve Risteli, 1993; Allen, 2003). Çünkü; bireyler arasında oldukça değişken olup, belli bir vücut bölümü hakkında bilgi sağlamaktan ziyade, tüm iskeletin küresel anabolik veya katabolik aktivitesini temsil etmektedirler (Risteli ve Risteli, 1993; Allen, 2003). Tüm bunlara rağmen, sözü edilen biyokimyasal belirteçler erken döneme ait başlangıç değişikliklerinin dinamik bir şekilde saptanabilmesi konusundaki duyarlılıkları nedeniyle, radyografik ve dansitometrik cihazlar tarafından sağlanan statik morfolojik ölçümler için tamamlayıcı bir nitelik taşımaktadır (Hart ve diğerleri, 2020).

Tablo 2.8 Serum ve idrar örneklerinde kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonu süreçleri değerlendirilmesi için kullanılan kemik metabolizmasına ait biyokimyasal belirteçler

Biyokimyasal Belirteç	Kısaltma	Örnek	Kemik Metabolizması
Kemik alkali fosfat	BAP / BALP	Serum	Yapım
Osteokalsin	OCN / BGP	Serum	Yapım
Karboksi terminal, tip I kollajen	PICP	Serum	Yapım
Aminoterminal, tip I kollajen	PINP	Serum	Yapım
Piridinolin	PYR	Serum ve idrar	Rezorpsiyon
Deoksipiridinolin	DPD / D-PYR	Serum ve idrar	Rezorpsiyon
Karboksi terminal çapraz bağ, prokollajen I	ITCP	Serum	Rezorpsiyon
Karboksi terminal çapraz bağ, prokollajen I	CTX	İdrar	Rezorpsiyon
Aminoterminal çapraz bağlantı, tip I kollajen	NTX	İdrar	Rezorpsiyon
Tartrata dayanıklı asit fosfat	TRAP5	Serum	Rezorpsiyon
Paratiroid hormonu	PTH	Serum	Turnover hızı

Kaynak: Tablodaki veriler (Hart ve diğerleri, 2020)'den uyarlanmıştır

Kemik doku, farklı makroskobik (trabeküler ve kortikal kemik), mikroskobik (immatür ve matür kemik) ve materyal (organik ve inorganik materyal) özelliklerine sahip canlı bir biyomateryal olup, mimarisi açısından oldukça etkileyicidir. İnsanın günlük aktivitelerini desteklemek üzere gerekli optimal mekanik desteğin sağlanması için uygun bir kemik kütlesinin (boyut, geometri ve yoğunluk) sürekli yapımı ve rejenerasyonu osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve kemik astar hücreleri arasındaki karmaşık ve oldukça dinamik ilişkiler önem taşımaktadır.

Dışarıdan uygulanan mekanik yükün varlığı veya yokluğuna ya da çeşitli metabolik sebepler sonucunda (örneğin, menopoza nedeniyle kadın üreme hormonlarının salgılanmasının azalması) ya da değişik patolojik durumlara bağlı olarak kemik yapımı ve kemik yıkımı arasında mevcut olan homeostatik denge kolayca bozulabilmektedir. Normal büyüme esnasında, kemik dokudaki yapım ve rezorpsiyon süreçleri kemiğin farklı bölgelerinde lokalize olabilmektedir. Aynı şekilde, kemik yıkımı kemik yapımından daha kısa bir süre içinde ve tipik olarak da kemik yapımından daha önce sözkonusu olmaktadır.

Kemik yapımı, önce kollajen ağ örgüsünün döşenmesi ve daha sonra bu örgünün mineralizasyonu olmak üzere, iki aşamalı bir süreç olup, mekanik yüklere karşı verilen yanıtlar ilgili vücut bölgelerine özgü olarak farklı olabilmektedir. Bu bölümde, klinisyenler ve araştırmacılar için oldukça karmaşık bir konu olan ve dinamik bir özellik gösteren kemik dokusunun morfolojik ve biyolojik temelleri üzerinde durulmuştur. Klinik uygulamada, DEXA gibi X-ışını kullanan kemik yoğunluğu ölçüm yöntemleri kullanılarak kemik yapımı sürecini anlamaya çalışmanın kemik mineralizasyonu açısından yetersiz olacağı, sözü edilen yoğunluk değişikliklerin *in vivo* ve invazif olmayan metodolojiler kullanılarak değerlendirilmesi için asgari 6-12 aylık bir zaman periyodunun gerekli olduğu, ancak daha doğru bir değerlendirme için serum veya idrar örneklerindeki sistemik biyobelirteçlerin analiz edilmesine ve hatta kemik biyopsisi işlemine gereksinim olabileceği hususu her zaman akılda tutulmalıdır.

2.2.13. Malnütrisyon, İnflamasyon ve Osteoporoz İlişkisi

Osteoporoz, yaşamın her yaşında ortaya çıkabilen heterojen bir durum olup, düşük kemik kütlesi ve artmış kemik kırılabilirliği ile karakterize bir durumdur. Osteoporozun etyolojisinde, PKM gibi çeşitli endokrin, metabolik ve mekanik faktörler (paratiroid hormonu ve kalsitonin salgılanmasındaki anormallikler, yetersiz D vitamini ve kalsiyum alımı, menopoz sonrası hormonal durum, gebelik, beslenme bozuklukları, hareketsizlik ve kortizon gibi ilaçların kullanımı dahil olmak üzere) yer almaktadır (Ginaldi ve diğerleri, 2005). Son zamanlarda yapılmış olan klinik ve deneysel çalışmalar, özellikle inflamasyonun kemik döngüsü ve kemik yeniden şekillenme süreci üzerinde çok önemli bir etkiye sahip olduğunu ve osteoporoz ile sonuçlandığını göstermektedir (Ginaldi ve diğerleri, 2005). Bu süreçte, osteoblast ve osteoklastların düzenlenmesinde etkili olan pro-inflamatuar sitokinlerin önemli rol oynadığı varsayılmaktadır.

Deneysel ve klinik gözlemler, sistemik osteoporozun sistemik inflamasyon dönemiyle örtüştüğünü ve bölgesel osteoporozun bölgesel inflamasyon alanlarıyla birlikte lokalize olduğunu ortaya koymaktadır (Ginaldi ve diğerleri, 2005). Bu çalışmalar, yaşlanma, menopoz ve PKM gibi inflamasyon ile karakterize durumlarda osteoporoz gelişme riskinde artış olduğunu bildirmektedir (Ginaldi ve diğerleri, 2005). Nitekim, epidemiyolojik çalışmalar da kronik inflamatuvar eklem hastalıklarında, osteoporoz insidansında artış

olduğunu gösterilmiştir. Bu durum, bu hastalarda gözlemlenen yüksek sistemik inflamatuvar ortam ve kemik yeniden şekillenmesini etkileyebilen glukokortikoid tedavisinin kullanımından kaynaklanabilir (Murariu ve diğerleri, 2013). Bu gibi durumlarda, IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi pro-osteoklastik sitokin düzeylerinde artış olduğu ve sitokinlerin osteoklast aktivitesi üzerine de stimüle edici olduğu iddia edilmektedir (Ginaldi ve diğerleri, 2005). Diğer sitokinler arasında, özellikle TNF- α 'nın TNFR1 yoluyla osteoporozda rol oynayan önemli bir oyuncu olduğu görülmektedir (Ginaldi ve diğerleri, 2005).

2.3. Epifiz Bezi ve Melatonin

Epifiz bezi, insan beyninin geometrik merkezinde lokalize olup, ortalama 150 mg ağırlığındadır (Tan ve diğerleri, 2018). Bu anatomik yapı, tüm omurgalılarda sağlıklı bir yaşam sürdürülmesi için oldukça önemli olan bir organdır. Aynı canlı türü için yerkürede güneyden kuzeye ya da ekvatorдан kutuplara doğru gidildikçe epifiz bezi ağırlığında artış olmakta ve yine aynı canlı türleri arasında zor yaşam koşullarında yaşayanların epifiz bezi ağırlığının diğerlerine kıyasla daha fazla olduğu bildirilmiştir (Tan ve diğerleri, 2018).

Epifiz bezinin büyüklüğü, insanlarda 2 yaşına doğru maksimum değerine ulaşmakta, daha sonraki dönemde ise, büyüklüğü aynı kalmaktadır (Tapp ve Huxley, 1972). Diğer yandan, obezite ve insomni gibi durumlarda ise, epifiz bezi büyüklüğünde azalma olmaktadır (Tan ve diğerleri, 2018).

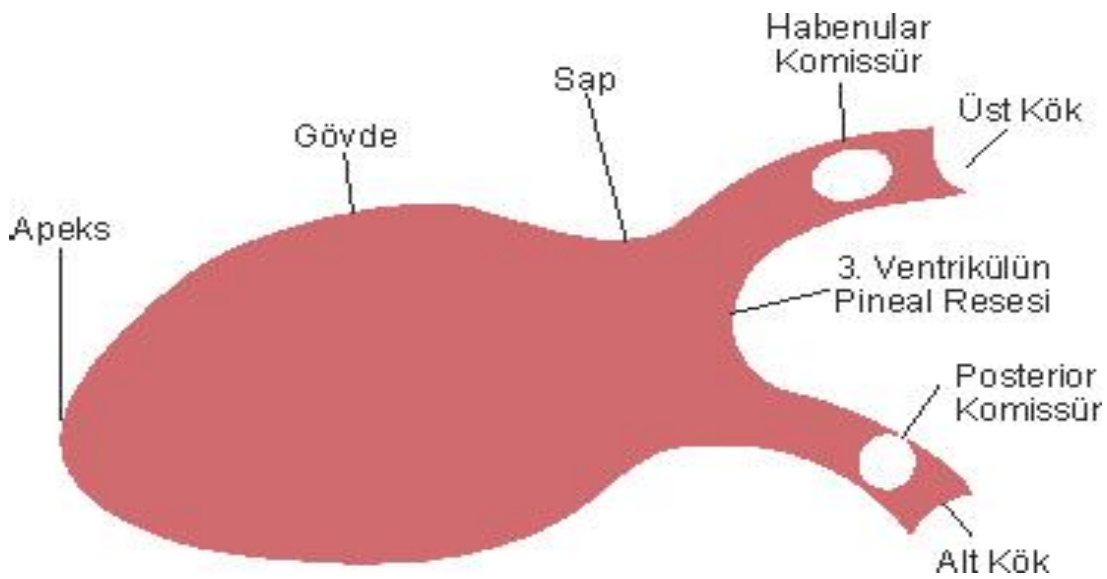
2.3.1. Terminoloji

Terminolojik olarak, epifiz bezi “pineal cisim (pineal body)”, “pineal bez (pineal gland)” ve “epifizis serebri” olarak da bilinen bir anatomik yapıdır. Latince, “glandula superior” ve “glandula pinealis” olarak adlandırılırken; grekçede, “conarium” ve “konarion” olarak bilinmektedir (Tapp ve Huxley, 1972). Epifiz bezi, dış görünüm olarak, fıstık çamı (pinus pinea) kozalağı, soya fasülyesi ya da armut benzeri bir anatomik oluşumdur.

2.3.2. Felsefe

Batı felsefesinde “hafızanın kapağı” (Herophilus), “ruhun merkezi” (Rene Descartes 1596-1650), “tanrı organı”, “epifiz gözü” ve “üçüncü göz” olarak adlandırılan ufacık bir yapı olan epifiz bezi, doğu felsefesinde “Shiva’nın gözü” ve “Dangma’nın gözü” (Tibet) olarak adlandırılmaktadır (Tapp ve Huxley, 1972).

2.3.3. Anatomi



Şekil 2.12. Epifiz bezinin anatomik yapısı [Bu şekil, (Tapp ve Huxley, 1972)'den alınmıştır]

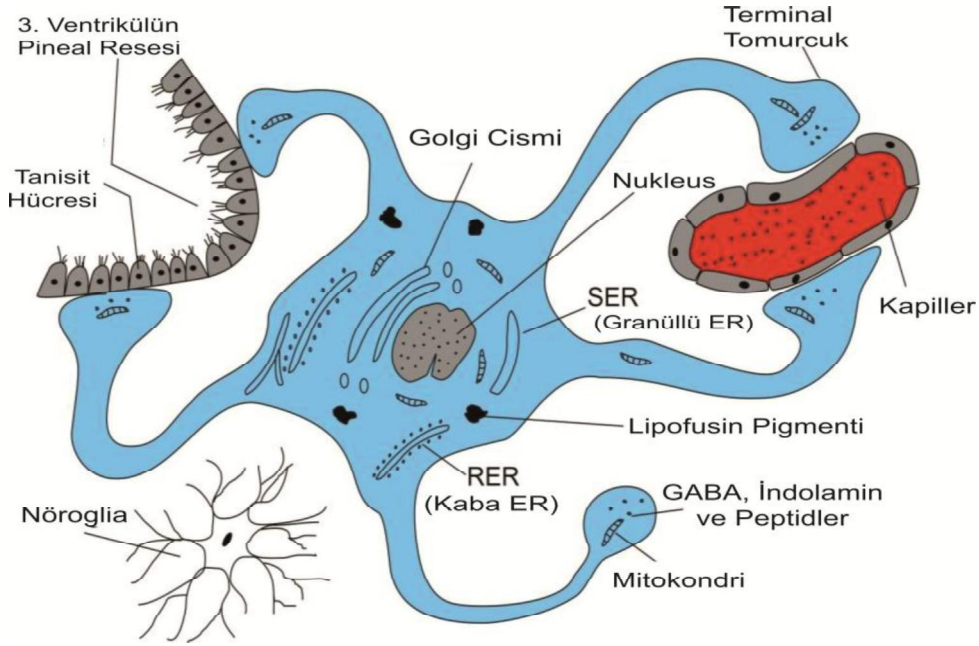
Epifiz bezi, anatomik olarak, basitçe 4 kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.12): (1) Apeks; (2) Gövde; (3) Sap; ve (4) Uzantılar (kökler) (Tapp ve Huxley, 1972).

2.3.4. Histoloji

Histolojik olarak, epifiz bezi 3 kısımdan oluşmaktadır: (1) Kapsül; (2) Trabekül; ve (3) Parenkim. Epifiz bezi parenkim dokusunda yer alan oluşumlar şunlardır: pinealosit (ana hücre), mikrogliya, astrosit, peptiderjik nöron-benzeri hücreler, perivasküler fagositler, interstisyel hücreler, kan damarları (kan sinüsleri), sinir sonlanmaları (sempatik, parasempatik ve duyuşal), laminar halka konkresyonları ve kalsit mikrokristaller (Tapp ve

Huxley, 1972). Epifiz bezi böbrek ve koroid pleksus gibi oldukça zengin vaskülariteye sahip bir oluşumdur. Histolojik olarak, pinealosit, astrosit, mikrogliya, peptiderjik nöron-benzeri hücreler ile sinir sonlanmalarından oluşmaktadır.

2.3.4.1. Pinealosit



Şekil 2.13. Pinealosit hücre yapısı şematik olarak gösterilmiştir [Bu şekil, (Sahai ve Sahai, 2013)'den alınmıştır]

Epifiz bezindeki tüm hücre popülasyonunun % 95'i pinealositlerden oluşmakta olup, Pax6-nöroepitelyal hücrelerinden gelişmektedir (Tan ve diğerleri, 2018). Pinealositler ileri derecede modifiye nöronlar olup, kordon ya da küme şeklinde düzenlenmişlerdir. Pinealositlerin hücre gövdesi çok yüzlü bir özellik göstermekte olup, 4-6 adet hücre uzantısına sahiptir (Şekil 2.13) (Tan ve diğerleri, 2018).

Morfolojik olarak, pinealositlerde şu yapılar yer almaktadır: nukleus, golgi cisimciği, ER (kaba ve granüllü), mitokondri, mikrotübüller, lipofusin pigmenti, terminal tomurcuklar ve membranöz keseler (Tapp ve Huxley, 1972; Tan ve diğerleri, 2018). Diğer nöronal hücrelere kıyasla, pinealositdeki mitokondri sayısı çok fazladır ve mitokondri MT'nin hücre için ana sentez yeri olduğu ileri sürülmüştür (Tan ve diğerleri, 2018).

Pinealositler dinamik bir morfolojiye sahip olup, karanlıkta MT sentezi artmakta ve

füzyon olmaktadır. Buna karşın, aydınlıkta ise, MT sentezi azalmakta ve bölünme olmaktadır. MT, mitokondrial morfolojiyi de regüle etmekte olup, füzyon artma gösterirken, bölünme azalma göstermektedir (Tapp ve Huxley, 1972; Tan ve diğerleri, 2018). Pinealositlerde bulunan terminal tomurcuklar kan kapiller damarlarında ya da 3. ventrikül duvarında sonlanmakta olup, bazı moleküllerin kan dolaşımı ya da beyin omurilik sıvısı (BOS) içine transfer edilmesini sağlamaktadır (Tan ve diğerleri, 2018). Membranöz keseler retinanın koni hücrelerine benzer yapılardır (Tan ve diğerleri, 2018).

Pinealosit tipleri: (1) Aydınlık tipi (hücre gövdesi yuvarlak ya da oval, yuvarlak nükleuslu, vezikül ve ribbonlardan zengin); (2) Karanlık tipi (farklı şekillerde, çok sayıda nükleer katlanma oluşturan nükleer tanecikler, sitoplazması pigmentli); ve (3) Üçüncü tip (çok küçük hücre tipi, aşırı derecede ince, hücre gövdeleri elonge ve nükleusları elonge) (Koshy ve Vittevel, 2001).

Pinealositlerde sentezlenen ve epifiz bezinden salınan maddeler şunlardır: (1) Testosteron, pregnenolon ve östradiol gibi nörosteroid hormonlar, kolesterolden sentez edilen hormonlar (testosteron, pregnenolon ve östradiol); ve (2) MT, norepinefrin (noradrenalin) (NA), serotonin, triptofan, 5-hidroksitriptamin (5-HT) ve di-metiltriptamin (DMT) gibi indolaminler (Tan ve diğerleri, 2018).

2.3.4.2. Astrosit ve Mikroglia

Tıpkı pinealosit gibi, MT sentez yeteneğine sahip olan epifiz bezi hücreleri olup, oksidatif stres ve inflamasyon gibi MT gereksiniminin arttığı durumlarda faaliyet gösterirler (Tan ve diğerleri, 2018).

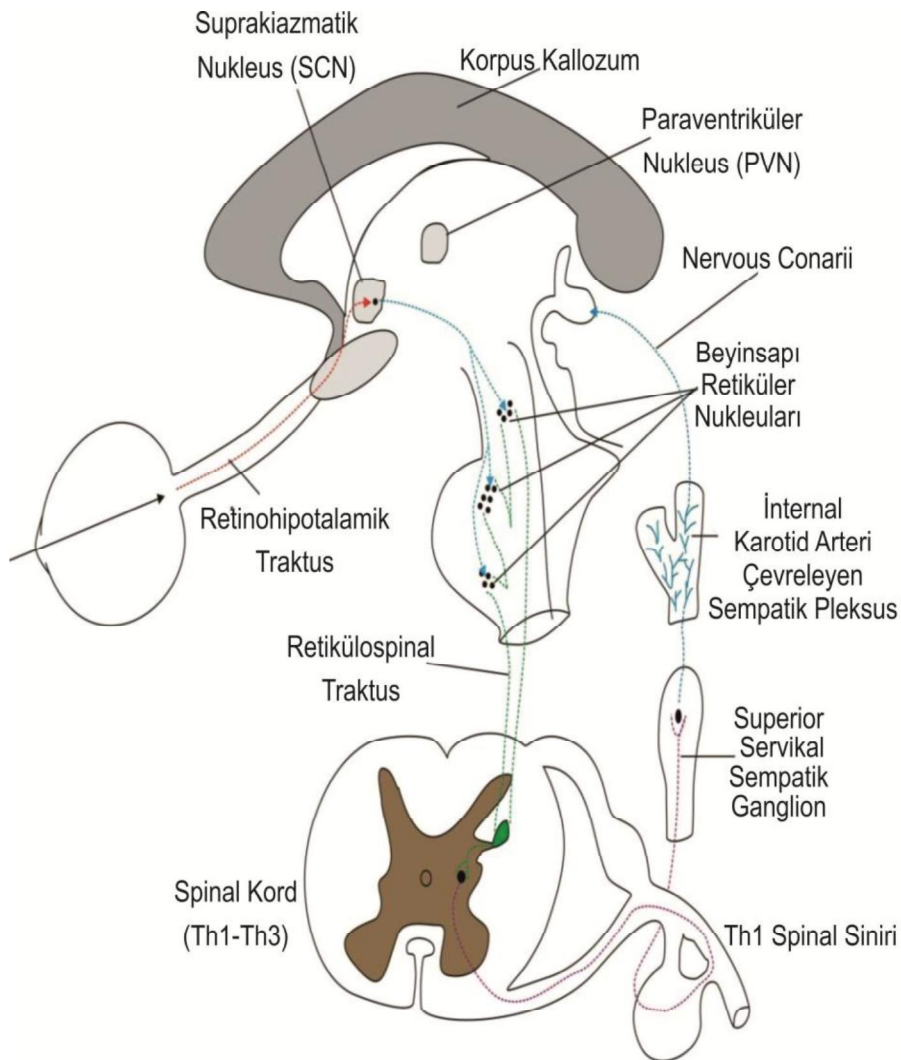
2.3.4.3. Peptiderjik Nöron-Benzeri Hücreler

Histokimyasal boyama ile bu hücrelerin epifiz bezi parenkimi içinde saptanmıştır. Sentez ettikleri ya da salgıladıkları hormonlara göre sınıflandırılmaktadırlar.

2.3.4.4. Sinir Sonlanmaları

Epifiz bezinde 3 tip sinir sonlanması mevcut olup, her biri farklı roller üstlenmiştir: (1) MT sekresyonundan sorumlu olan sempatik sinir sonlanmaları; (2) geri bildirim (feedback)’den sorumlu olan parasempatik sinir sonlanmaları; ile yine (3) geri bildirim’den sorumlu olan duyuşal sinir sonlanmaları (Tan ve diğerleri, 2018).

2.3.5. Göze Işık Sinyali Gelmesi Sonrası “Fototransdüksiyon” Aşamaları

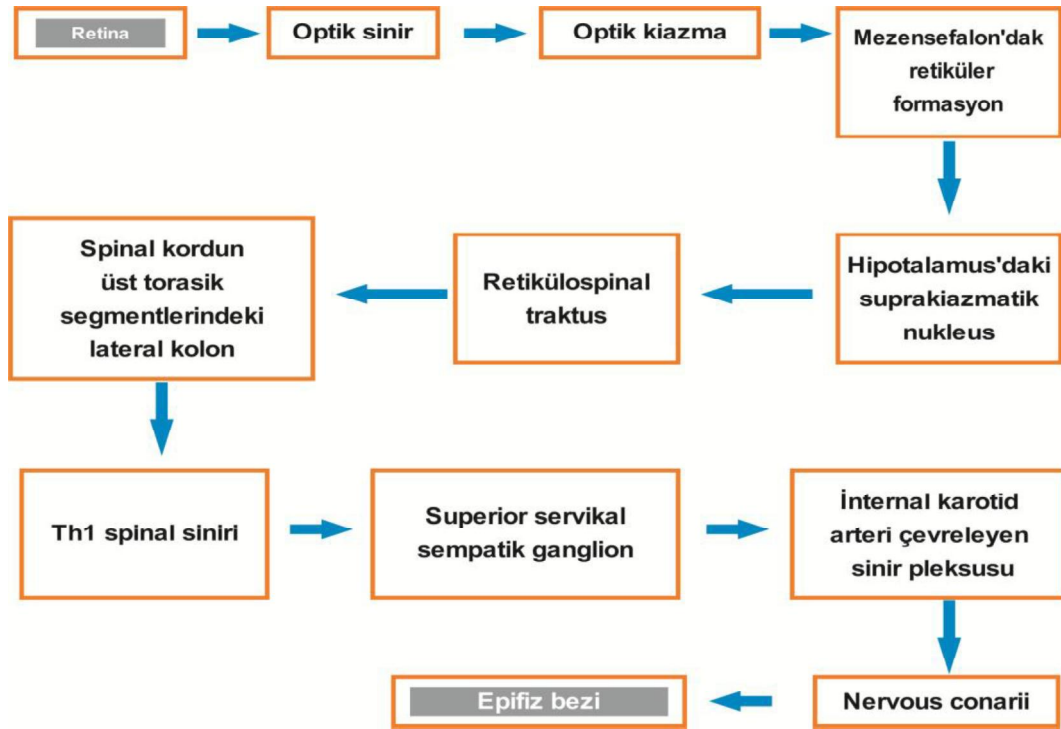


Şekil 2.14. Göze ışık sinyali gelmesi sonrası “fototransdüksiyon” aşamaları şematize edilerek gösterilmiştir [Bu şekil, (Standring, 2008)’den alınmıştır]

Şekil 2.14’de görüldüğü gibi, göze ışık sinyali gelmesi sonrası “fototransdüksiyon” işleminde retina, suprakiazmatik nukleus (SCN), mezensefalon, spinal kord (Th1), superior servikal sempatik ganglion, internal karotid arteri çevreleyen sinir pleksusu, nervous conarii ve epifiz bezinden oluşan toplam 5 -7 adet nöronal yol rol oynamaktadır (Standring, 2008; Bhuiyan ve diğerleri, 2018).

2.3.6. Retinadan Epifiz Bezine Işık Uyarını “Fotoreseptör” Aşamaları

Göze ışık sinyali gelmesi sonrası, ışık uyarınının retinadan epifiz bezine ulaştığı “fototransdüksiyon” aşamaları Şekil 2.15’de özetlenmiştir.



Şekil 2.15. Göze ışık sinyali gelmesi sonrası “fototransdüksiyon” aşamaları şematize edilerek gösterilmiştir [Bu şekil, (Sahai ve Sahai, 2013)'den alınmıştır]

2.3.7. Epifiz Bezinin Nöral Traktusları

Epifiz bezi ile pre-tektal alanı bağlayan miyelinli ve miyelinsiz liflerin varlığı gösterilmiştir. Epifiz bezinin anterior inferio-ventro-lateral bölümünde daha önce rapor edilmemiş olan ve fiziki olarak posterior kommissürden ayrı ve farklı bir çift lif traktusunun mevcut olduğu bildirilmiştir. Bu traktuslar epifiz çukurunun duvarına ait strüktürel bir komponent olup, elektron mikroskopta bu traktus çiftindeki lifler çapları 1-3 mm ve 5-8 mm olmak üzere iki farklı büyüklükte miyelinli lifler şeklindedir (Tan ve diğerleri, 2018). Bu traktustaki lifler epifiz bezine girmekte ve lateral pre-tektal alana doğru kısa bir mesafe izlenebilmektedir. Bu traktus çiftinin çıkış ve sonlanma noktası tam olarak bilinmemektedir.

2.3.8. Epifiz Bezinin Mineralleri

Epifiz bezinde mevcut olan “lamelli kalkerli cisimler”, epifiz bezinin içinde ya da çevresinde yerleşim gösterirler, epifiz bezinde şekil bozukluğuna (deformasyona) sebep olabilirler ve çoğu kez pinealosit’lerin sitoplazmik membranına tutunmuş halde bulunurlar.

Epifiz bezinin florür (F^-) içeriği 300-21000 ppm olup, vücutta bulunan toplam F^- miktarının % 99’u kalsifiye olmuş dokularda bulunmaktadır (Tan ve diğerleri, 2018). Epifiz bezinin, F^- birikiminden en çok etkilenen organ olması bu bezin çok önemli bir özelliğidir (Tan ve diğerleri, 2018). Ancak, epifiz bezinin F^- içeriğinin niçin yüksek olduğu hala açıklığa kavuşturulamamış bir durumdur. Bu konuda bilinen tek şey; manyetik kuvvetlerin florürü epifiz bezine doğru çekmekte olduğudur. Sonuçta, F^- , epifiz bezinde diğer organlara kıyasla, bariz bir şekilde daha fazla miktarda yer almaktadır. Önemli olarak, F^- içeriğinin, epifiz bezinin kalsifiye olmayan yumuşak kısmında yaklaşık 300 ppm iken, kalsifiye olan sert kısmında yaklaşık 21000 ppm olduğu saptanmıştır (Tan ve diğerleri, 2018).

2.3.9. Epifiz Bezinin Fonksiyonları

1917 yılına kadar, uzun bir süre, epifiz bezinin hiçbir fonksiyonel önemi olmayan ve sadece yaşlanma sonucu dejenere bir hale gelen vestigial (körelmiş) bir yapıdan ibaret

olduğu düşünülmüştür. Epifiz bezinin, görme duyusunun düzeltilmesi için evrimsel değişime uğramış bir organ olduğu kabul edilmektedir. Eskiden, epifiz bezinin makroskopik anatomik yapısı, çeşitli spiritual (manevi, ruhsal) fenomenler ile olan birlikteliği ve inek epifiz bezi özütünün kurbağa cildine temas ettirilmesi halinde, kurbağa cildinin renginde beyazlama olması dışında, epifiz bezi hakkında başkaca bilinen bir şey yoktu. Çünkü; bilim insanları epifiz bezinin çeşitli spiritual fenomenler ile olan ilişkisi nedeniyle, başlangıçta bu bezle ilgili herhangi bir çalışma ya da deney yapmaktan bilinçli bir şekilde kaçınmışlardır.

İlk kez 1958'de ABD'de Yale Üniversitesi'nden Aron B. Learner ve diğer araştırmacılar epifiz bezi özütünde MT varlığını saptamıştır (Tan ve diğerleri, 2018). Epifizden MT sekresyonu için sempatik uyaran gerekmede olup, epifiz bezinin fonksiyonları ortamın aydınlık ya da karanlık olmasına göre değişim göstermektedir. Şöyle ki; karanlıkta epifiz bezi fonksiyonu artış göstermekte iken, aydınlıkta epifiz bezi fonksiyonunda bir azalma olmaktadır. Epifiz bezinden hem kapiller kan dolaşımı içine, hem de BOS içine sürekli bir şekilde MT salınımı olmaktadır. MT, bir “kronobiyotik molekül” olup, SCN ile birlikte “sirkadiyen ritm”in düzenlemesinde rol oynamaktadır.

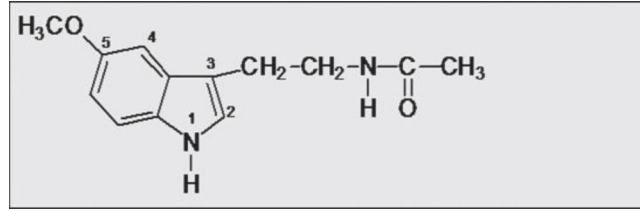
Peptid grubu hormonlar hipofiz, tiroid, paratiroid, adrenal korteks, adrenal medulla, ovaryum, testis ve pankreası inhibe etmektedir. Arjinin vazotosin-gonadotropin hormonu, epifiz bezi antigonadotropini, gonadotropin salgılatıcı hormonlar, prolaktin salgılatıcı ve inhibitör hormon, tiotropin salgılatıcı veya inhibitör hormon ile neurofiziz-önhormon peptid grubu hormonlar olarak bilinmektedir.

2.3.10. Epifiz Bezi ve Sirkadiyen Ritm

İnsanlarda epifiz bezinin “biyolojik saat”in kontrol kulesi olduğu klasik bir görüş olmakla birlikte, sözkonusu fonksiyonun SCN tarafından yerine getirilmekte olduğu hususu ise, hala tartışmalıdır. Retina, iris, cilt ve epifiz bezinde ışık algılama yetenekleri mevcut olup, hücre kültüründe bunların hepsi sirkadiyen ritmden bağımsız davranmaktadır. İnsanlarda, retina; jet lag sonrası “biyolojik saat” gibi ayarlanabilen ya da yeniden ayar edilebilen bir saate sahip olduğu düşünülmekle birlikte, sözü edilen saatin anatomik yeri henüz tam olarak belirlenememiştir (Şekil 2.16) (Tan ve diğerleri, 2018).

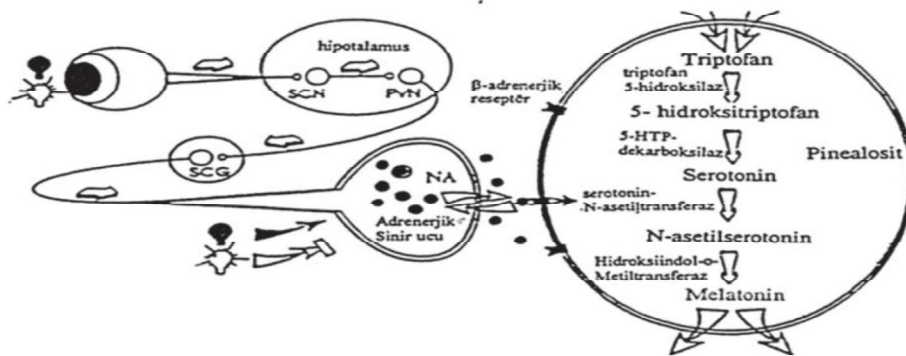
2.3.12. Melatonin

Kurbağa derisinde bulunan melanoforların beyazlamasına yol açan ve pinealosit içine alınan triptofanın N-asetiltransferaz (NAT) enzimiyle serotonine dönüştürülmesi ve hidroksiindol-o-metiltransferaz enzimi aracılığı ile sentez edilen madde MT'dir (Şekil 2.17 ve Şekil 2.18).



Şekil 2.17. MT nörohormonunun biyokimyasal yapısı [Bu şekil, (Sener, 2010)'den alınmıştır]

MT, başta epifiz bezi olmak üzere vücuttaki çeşitli doku ve hücrelerde sentez edilmektedir: (1) Pineal MT; ve (2) Ekstrapineal MT. Aşağıda ayrıntılı bir şekilde açıklanacağı gibi, öncelikle epifiz bezi tarafından sentezlenen ve salgılanan ("pineal MT"), ancak retina, testisler, Harderian bezi, kemik iliği ve gastrointestinal sistem dahil olmak üzere, diğer organlar tarafından da salgılanan ("ekstrapineal MT") bir hormondur (Reiter ve diğerleri, 2013).



Şekil 2.18. Triptofan'dan MT sentez basamaklarını özetleyen şematik çizim. Kısaltmalar: NA, noradrenalin (norepinefrin); SCN, suprakiazmatik nukleus; PVN, paraventriküler nukleus. [Bu şekil, (Sener, 2010)'dan alınmıştır]

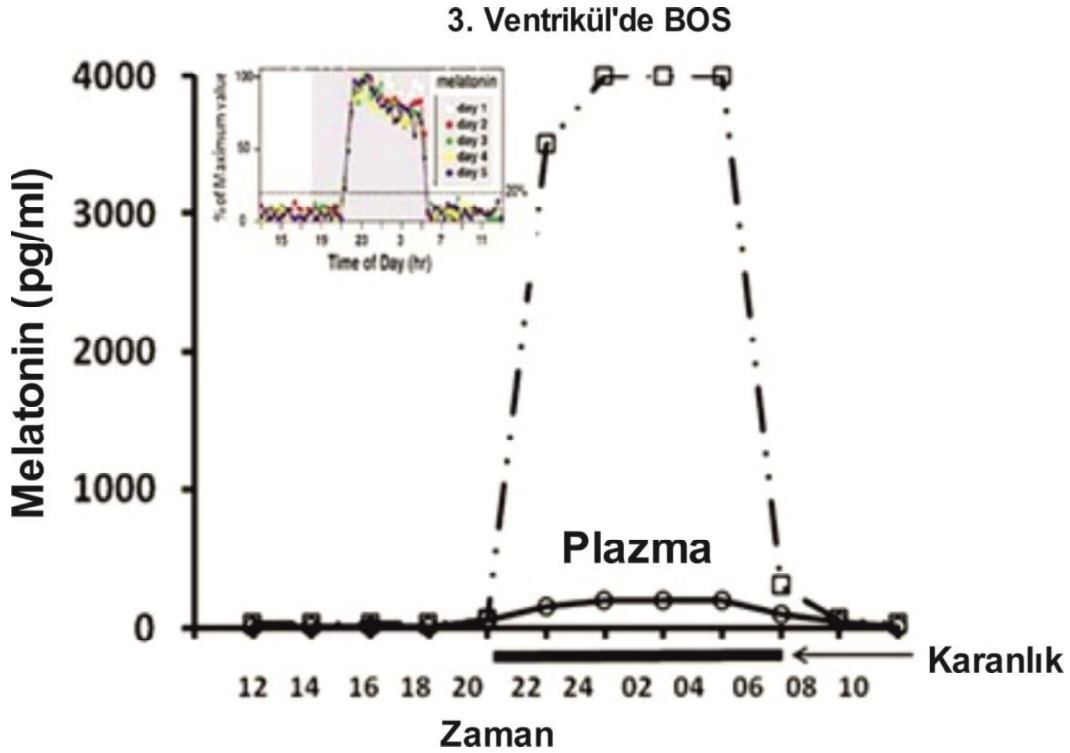
Epifiz bezinden gece yüksek ve gündüz düşük düzeyde olmak üzere, sirkadiyen ritm şeklinde salınan “pineal MT” önce kapiller arterler, daha sonra venler ve sinüslere dökülerek kan dolaşımına katılmaktadır. Daha önemli bir şekilde, memelilerde 3. ventriküle komşu olan epifiz bezinden salınan fazla miktarda MT doğrudan BOS içine karışarak, BOS’da oldukça yüksek bir MT düzeyine sebep olmakta ve canlının çeşitli günlük biyolojik aktivitelerini düzenlemektedir (Tan ve diğerleri, 2018).

Diğer yandan, retina, Harder bezi, deri, lens, silier cisim, bağırsak, testis, ovaryum, uterus, kemik iliği, plasenta, oosit, eritrosit, lenfosit, astrosit, glial hücreler ve nöronlar gibi farklı yapılarda sentez edilen “ekstrapineal MT” miktarının epifiz bezinde sentez edilen MT’den daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (Tan ve diğerleri, 2018). Ancak, ekstrapineal MT epifiz bezinden sentez edilerek, kan dolaşımına ya da BOS içine karışan MT’den farklı olarak; sirkadiyen ritm regülasyonunda rol oynamamaktadır (Tan ve diğerleri, 2018).

Epifiz bezinden MT sentezi; sirkadiyen bir şekilde, fotoperiyodik koşullara uygun olarak olmaktadır. Aydınlıkta, retinadan çıkan uyarılar hipotalamusta SCN ve paraventriküler nukleus (PVN)’ye ve oradan da SCG’a geçmektedir. Karanlıkta ise, postganglionik sempatik liflerden NA ve depolardan serotonin, 5-HT, DMT ve NAT salıverilmesine yol açmaktadır.

Kan dolaşımı (plazma) MT düzeyi, gece 23:00 ila 03:00 arası doruk değerine (20-200 pg/ml) ulaşmakta, gündüz ise en düşük düzeye (0-20 pg/ml) düşmektedir (ortalama 60-70 pg/ml) (Sener, 2010). Epifiz bezinden salınan (pineal) MT sirkadiyen ritmi ile BOS’daki MT sirkadiyen ritmi birbirine benzer olup, keskin bir yükselme ve düşme gösteren kare (square) şeklindedir (Şekil 2.19) (Tan ve diğerleri, 2016). Ekstrapineal olarak sentez edilen ya da diyetle eksojen olarak alınan MT plazma MT düzeyinde bir artışa yol açmakla birlikte, epifiz bezi ve BOS’da mevcut endojen MT sirkadiyen ritm özelliklerine sahip değildir (Tan ve diğerleri, 2018).

In situ epifiz bezinde sentezlenip 3. ventrikül’de BOS içine sirkadiyen bir ritm ile salınan MT organizmadaki tüm biyoritmlerin ana sinyali olup, beyni oksidatif hasara karşı da korumaktadır. Son yıllarda, meyva, sebze, yumurta, balık, et, kahve, şarap vb yiyecek ve içeceklerin içeriğinde bol miktarda MT bulunduğu ve bunların tüketilmesi sonucu kan dolaşımı MT düzeyinde artış olduğu, ancak BOS’daki gibi “square şeklinde” bir MT düzeyi değişikliğine sebep olmadığı ve SCN’yi ve PVN’yi etkilemediği ve dolayısıyla kronobiyolojik bir sonuç doğurmadığı iddia edilmiştir (Tan ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.19. Karanlıkta, kan dolaşımında ve 3. ventrikül içinde bulunan beyin omurilik sıvısında ölçülen MT düzeyleri karşılaştırmalı olarak görülmektedir [Bu şekil, (Tan ve diğerleri, 2016)'dan alınmıştır]

MT nörohormonu suda kısmen ve lipidlerde ise, yüksek oranda çözündüğü için hücrelere ve dokulara girişi kolaydır. Farklı farmakolojik özelliklere sahip olan membran bağımlı 2 tip membran reseptörü (MT1 ve MT2) tanımlanmıştır: MT1 ve MT2. Bu reseptörlerden MT1 reseptörleri serebellum, hipokampus, SCN, hipotalamus, talamus, serebral korteks ve retina gibi nöral yapılarda ya da ovaryum, böbrek ve ince bağırsak gibi nöral olmayan dokularda gösterilmiştir. MT1 reseptörlerinin MT1a, MT1b ve MT1c olmak üzere 3 alt tipi vardır. Buna karşın, MT2 reseptörlerinin memeli hücrelerinde spesifik dağılımı henüz tam olarak ortaya konulamamıştır (Reppert ve diğerleri, 1996). Fizyolojik olarak, MT işlevlerini genellikle membran reseptörleri ve nükleer reseptörler ile etkileşime girmek suretiyle yerine getirmektedir (Ren ve diğerleri, 2017; Tordjman ve diğerleri, 2017; Zarezadeh ve diğerleri, 2020). Ren ve diğerleri (2017) gelişme ve farklılaşma gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynayan T hücrelerinde MT ile ilişkili çeşitli membran ve nükleer reseptörlerin mevcut olduğunu göstermiştir (Ren ve diğerleri, 2017).

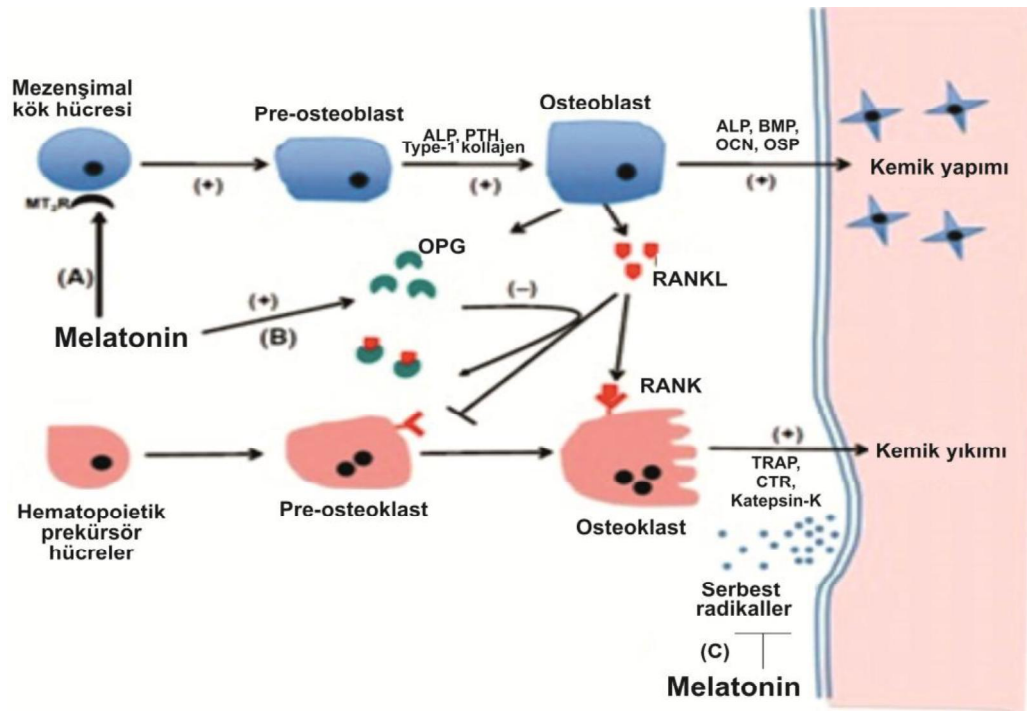
MT karaciğerde metabolize edilmekte ve 6-hirdoksimelatonin'e dönüşerek idrar ile atılmaktadır. Son yıllarda tükürük MT düzeyi de epifiz bezi fonksiyonunun bir göstergesi

olarak kabul edilmektedir. Bugüne kadar yapılmış çalışmalar sayesinde, MT nörohormonu sirkadiyen ritm düzenleyici (jet lag önleyici), anti-oksidatif, immünomodülatör, antitoksik, anti-inflamatuar, nöroprotektif, antimitotik, anti-apoptotik ve antikanserojen, yaşlanmayı geciktirici ya da gençleştirici (anti-aging), metabolizma düzenleyici, anti-dejeneratif, rejeneratif, hipnotik, antidepresif, antihipertansif ve analjezik özelliklere sahip olduğu ortaya konulmuştur (Reiter ve diğerleri, 2000; Reiter ve diğerleri, 2001; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2003a; Turgut ve diğerleri, 2003b; Uslu ve diğerleri, 2007; Reiter ve diğerleri, 2010; Reiter ve diğerleri, 2013). Özellikle, MT'nin immünomodülasyonda çok önemli bir işleve sahip olduğu görüşü oldukça yaygın bir şekilde kabul görmüştür (Ren ve diğerleri, 2017; Ghareghani ve diğerleri, 2018). Güçlü bir immünomodülatör olan MT'nin ayrıca hem proinflamatuar hem de anti-inflamatuar etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Reiter ve diğerleri, 2000; Hardeland, 2018). İzole edilmiş lökosit türevli prelinik çalışmalarda ve insanlarda yapılan klinik çalışmalarda, MT'nin göstermiş olduğu proinflamatuar etkiyle patojenlere karşı konağın savunma gücünü artırmış olduğu kanıtlanmıştır (Maestroni ve diğerleri, 2002).

Daha önceki bölümlerde anlatıldığı gibi, PKM'de antioksidan savunma sisteminde bozulma meydana geldiği için hücre zedelenmesinin ortaya çıkması kaçınılmaz olmasına karşın, geceleri epifiz bezi tarafından salınan ve immünomodülatör işlevi de olan MT'nin düşük konsantrasyonlarda bile lipid peroksidasyonu ve sitotoksiteyi azaltmak suretiyle antioksidan bir etki sağladığı ve nükleer DNA'nın oksidatif hasarını azalttığı gösterilmiştir. Epifiz bezinden salınan MT ile makrofajların fonksiyonları arasında yakın bir bağlantının mevcut olduğu, MT'nin IL-6 ve TNF- α gibi sitokin düzeylerini azaltmak suretiyle inflamasyon üzerinde inhibe edici özelliğe sahip olduğu ileri sürülmüştür (Lissoni ve diğerleri, 1994; Zarezadeh ve diğerleri, 2020). Aynı şekilde, epifiz hormonu MT'nin IL-2'nin sebep olduğu makrofaj aktivasyonunun modülasyonunda da rol oynadığı iddia edilmiştir (Lissoni ve diğerleri, 1991). Chen ve diğerleri (2016) tarafından gerçekleştirilen yeni bir deneysel çalışmada, MT'nin santral sinir sistemindeki IL-17 ekspresyonunu azalttığı, dalak dokusundaki dendritik hücrelerden IL-27 salgılanmasını artırmak suretiyle IL-10 ekspresyonu üzerine uyarıcı etki yaptığı saptanmıştır (Chen ve diğerleri, 2016).

2.3.13. Melatoninin Osteogenez Üzerine Olan Etkileri

MT nörohormonu: (1) PTH, tip 1 kollajen ve ALP düzeylerinde artışa sebep olmaktadır; (2) MKH'nin MT2 reseptörlerine bağlanmak suretiyle, onların (pre)osteoblast hücrelerine farklılaşmasını sağlamaktadır (Şekil 2.18) (Zhang ve diğerleri, 2013; Chu ve diğerleri, 2017); ve (3) OSP, kemik morfogenetik protein (BMP)-2 ve OCN gen ekspresyonlarını artırmak suretiyle, osteoblast proliferasyonu, osteosit oluşumu ve mineralizasyon ile kemik oluşumunu sağlamaktadır (Şekil 2.20) (Maria ve Witt-Enderby, 2014; Tan ve diğerleri, 2018).



Şekil 2.20. MT'nin kemik yapımı ve yıkımı üzerine olan etkileri şematik olarak gösterilmiştir. Kısaltmalar: ALP, alkale fosfat; PTH, paratiroid hormon; OSP, osteopontin; OCN, osteokalsin; OPG, osteoprotegerin; TRAP, tartarat dirençli asit fosfat; CTR, kalsitonin reseptörü; BMP, kemik morfogenetik protein [Bu şekil, (Maria ve Witt-Enderby, 2014)'den alınmıştır]

Son yıllarda gerçekleştirilen prelinik deneysel ve klinik çalışmalarda, MT hormonunun kemik dokudaki osteoklast aktivitesini ve apoptozu azalttığı, buna karşın osteoblastik osteoblastik aktiviteyi ise artırıcı bir etki göstermek suretiyle, “osteogenezis” süreci üzerine osteoindüktif etki gösterdiği saptanmıştır (Ladizesky ve diğerleri, 2003;

Turgut ve diğerleri, 2003a; Turgut ve diğerleri, 2003b; Turgut ve diğerleri, 2005; Uslu ve diğerleri, 2007; Turgut ve diğerleri, 2006b; Basaloglu ve diğerleri, 2022).

Epifiz bezi; inflamasyon, hipoksi ya da intrakranial basınç artışı gibi patolojik bir süreç veya yaşlanma gibi fizyolojik bir süreç sonucunda, kollajen lifleri, kalsiyum ve fosfor içeren mikroçevre mevcudiyetinde, MT'nin de etkisiyle, MKH'den kemik dokuya benzer "kalsifikasyon" oluşturma yeteneğine sahiptir (Tan ve diğerleri, 2018).

2.3.14 Sıçanlarda Pinealektomi İşlemi ve Sonuçları

Sıçanlarda, epifiz bezi, uzun bir epifiz sapı ile üçüncü ventriküle bağlı olan oldukça küçük bir yapı olup, serebral hemisferler ile serebellum arasındaki boşlukta, hemen kraniumun altında yer alır (Greene, 1963). Sıçanlarda Px işlemi, deneğin epifiz bezinin veya sapının bir bölümünün cerrahi olarak çıkarılması ("cerrahi Px"), deneğe kimyasal bir madde [6-hydroxydopamine (6-OHDA) veya parachlorophenylalanine (p-CPA)] verilmesi ("kimyasal Px") ya da deneğin sürekli aydınlık ortamda tutulmasından ibaret "fonksiyonel Px" farklı işlemler sonucunda epifiz bezinden endojen MT yapımının inhibe olması nedeniyle serum MT seviyelerinde dramatik bir düşme ortaya çıkmaktadır (Stockmeier ve diğerleri, 1985; John ve diğerleri, 1994; Beuerlein ve diğerleri, 2001; Turgut ve diğerleri, 2003b; Turgut ve diğerleri, 2006a).

Yukarıda ayrıntılı bir şekilde anlatıldığı gibi, epifiz bezi tarafından karanlık ortamda sentezlenen ve kan dolaşımına salınan sirkadiyen ritmin düzenleyicisi MT hormonunun başta antioksidan etki olmak üzere, çok sayıda farklı etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür. Epifiz bezinden döngüsel ve sirkadiyen olarak salınan pineal nörohormon olan MT opiateryjik bir mekanizma aracılığı ile immünomodülatör bir fonksiyona sahip olduğu iyi bilinmektedir (Maestroni ve diğerleri, 1986; Maestroni ve diğerleri, 1987; Maestroni ve diğerleri, 1988; Reiter ve diğerleri, 2000). Px işlemi sonucunda, endojen MT yapımının inhibe edilmesi durumunda canlıda immün yanıtın baskılandığı, eksojen MT verilmesi halinde ise, immün yanıtta düzelme olduğu ve antikor oluşumunda artış ortaya çıktığı gösterilmiştir (Maestroni ve diğerleri, 1987; Lissoni ve diğerleri, 1994; Reiter ve diğerleri, 2000; Zarezadeh ve diğerleri, 2020). Sonuçta, Px işlemi uygulanmış olan sıçanlarda oksidatif hasarın arttığını ve erken yaşlanma ortaya çıktığı saptanmıştır (Reiter ve diğerleri, 2013).

Şimdiye kadar yapılan deneysel çalışmalar, “fonksiyonel Px” olarak adlandırılan ve deneklerin 24 saat sürekli aydınlık ortamda tutulması şeklindeki deneysel uygulama neticesinde, tıpkı kimyasal ya da cerrahi Px prosedüründe olduğu gibi, epifiz bezinden endojen MT yapımının inhibe olduğunu açıkça ortaya koymuştur (John ve diğerleri, 1994; Ozkaya ve diğerleri, 2014; Basaloglu ve diğerleri, 2022). Px’in vertebral kemik doku üzerine olan olası etkilerinin, MT’nin doğrudan etkisinden ziyade, bozulmuş biyolojik döngülerin patofizyolojik sonuçlarından kaynaklanan dolaylı bir etki olması muhtemeldir. Ancak, yeni doğan civcivlerde gerçekleştirilen deneysel Px sonrasında epifiz bezinin transplante edilmesi sonucunda, normal serum MT düzeylerine ulaşılıp ulaşılamadığı ve önceden var olan kraniospinal yapılarıdaki değişikliklerin hafifleyip hafiflemediği konusu hala tartışmalıdır (Machida ve diğerleri, 1993; Turgut ve diğerleri, 2003b).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Ortam Koşulları

Bu deneysel çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun izni ile yapılmıştır. Bu çalışma için, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ve ağırlığı 250-300 gram olan *Wistar albino* cinsi erişkin (3'er aylık) ve sağlıklı olan 10 adet (n=10) dişi ve 5 adet (n=5) erkek sıçan kullanılmıştır. Deney süresince sıçanlar, oda sıcaklığı 24-27°C, bağıl nemi % 40-70 arasında, havalandırma şartları sağlanmış, aydınlatılması ise 12 saat aydınlık/12 saat karanlık olacak şekilde döngülü ortam koşullarında tutulmuş ve polikarbon şeffaf kafeslerde barındırılmıştır. Çalışmada, standart ticari sıçan laboratuvar diyeti kullanılmıştır; deney süresince tüm sıçanların standart yiyecek ve çeşme suyuna sınırsız erişimleri (*ad libitum*) sağlanmıştır. Deney başlangıcında bir hafta süreyle hayvanların ortam koşullarına adaptasyonu sağlanmıştır. Deney süresince, tüm sıçanlar veteriner hekim ve çalışma ekibi tarafından yakından takip edilmiştir.

3.2. Sıçan Neonatal Malnütrisyon Modeli ve Deney Grupları

Gebeliğin sağlanması için; iki erişkin dişi ve bir erişkin erkek sıçan (2:1) gece boyunca aynı kafeste bırakılmış ve ertesi sabah dişi sıçanlardan vajinal smear alınarak, sperm test edildikten sonra gebeliğin sıfıncı günü kabul edilmiş ve gebe sıçanların her biri ayrı kafeslere alınmış ve doğumları beklenmiştir. Sıçanlarda, doğum esnasında yavrunun cinsiyetini tespit etmek mümkün olmadığı için, her iki cinsiyetten yavru sıçanlar aşağıda belirtildiği şekilde çalışmaya dahil edilmiştir.

Gebe sıçanların doğum yaptıkları günler laktasyonun sıfıncı günü (0. gün) ile doğum sonrası yavruların süten kesildikleri üç haftalık süre sonu (21. gün) arasındaki dönem "laktasyon dönemi" olarak kabul edilerek, deneysel çalışmada doğum sonrası dünyaya gelen her iki cinsiyetten toplam 72 adet yavru sıçanı emzirmek üzere anne sıçanlardan 6 tanesi seçildikten sonra, daha önce Celedon ve diğerleri (1979) tarafından tanımlanan

“çoğaltılmış yavru malnütrisyon modeli” kullanılarak, denekler 4 gruba ayrılmıştır (Celedon ve diğerleri, 1979):

(1) Kontrol grubu- Her bir anne sıçan ile birlikte 6’şar yavru sıçan laktasyon dönemi boyunca bir arada tutulmak suretiyle maksimum emzirme zamanı/alınan besin miktarının sağlandığı ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngülü ortamda tutulduğu, 3 anne sıçan ve her iki cinsiyetten toplam 18 yavru sıçandan oluşan grup (n=18);

(2) PKM grubu- Her bir anne sıçan ile birlikte her iki cinsiyetten toplam 18 yavru sıçan laktasyon dönemi boyunca bir arada tutulmak suretiyle emzirme zamanı/alınan besin miktarının azaltıldığı ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngülü ortamda tutulduğu grup (n=18);

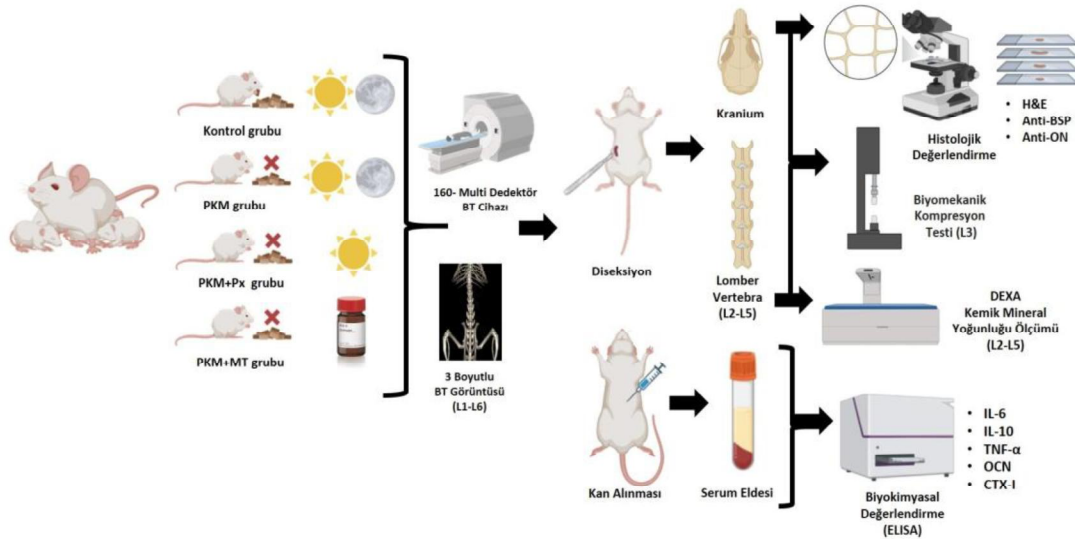
(3) PKM+Px grubu- Her bir anne sıçan ile birlikte her iki cinsiyetten toplam 18 yavru sıçan laktasyon dönemi boyunca bir arada tutulmak suretiyle emzirme zamanı/alınan besin miktarının azaltıldığı ve 24 saat aydınlık ortamda tutulduğu fonksiyonel Px grubu (n=18);

(4) PKM+MT grubu- Tek doz 40 mg/kg/gün eksojen MT intraperitoneal (i.p.) yolla uygulanan her bir anne sıçan ile birlikte her iki cinsiyetten toplam 18 yavru sıçan laktasyon dönemi boyunca bir arada tutulmak suretiyle emzirme zamanı/alınan besin miktarının azaltıldığı ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngülü ortamda tutulduğu grup (n=18).

PKM+Px grubundaki anne sıçanlarda “fonksiyonel Px işlemi”, epifiz bezinin cerrahi olarak çıkarılmasından ibaret Px işlemi şeklinde değil, daha önce literatürde tanımlandığı şekilde, deneklerin 24 saat süreyle aralıksız aydınlık ortamda tutulmasıyla gerçekleştirilmiştir (John ve diğerleri, 1994; Ozkaya ve diğerleri, 2014; Basaloglu ve diğerleri, 2022). PKM+MT grubunda yer alan anne sıçanlara eksojen olarak uygulanan MT dozu olarak, daha önce literatürde tanımlandığı şekilde, MT’nin kemik doku üzerine olan etkilerinin optimal olduğu 40 mg/kg/gün seçilmiştir (Ren ve diğerleri, 2023). Diğer gruplarda yer alan anne sıçanlara ise, eşit volümde serum fizyolojik i.p. olarak uygulanmıştır. Gebelik için kullanılmış olan aynı türdeki ihtiyaç fazlası erişkin erkek ve erişkin anne sıçanlar ile ihtiyaç fazlası olan her iki cinsiyetten yavru sıçanlar ise, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezine teslim edilmiştir.

Her bir deney grubunda yer alan yavru sıçanlar (kontrol grubunda 10 dişi ve 8 erkek; PKM grubunda 5 dişi ve 13 erkek; PKM+Px grubunda 9 dişi ve 9 erkek; ve PKM+MT grubunda ise 11 dişi ve 7 erkek) 3 haftalık laktasyon dönemi sonunda, sütten kesilir

kesilmez annelerinden ayrıldıktan sonra, cinsiyetleri dikkate alınarak, her bir kafeste en fazla 3 tane ve aynı cinsiyette yavru sıçan olacak şekilde farklı kafeslere alınmış ve erişkin yaşa (21 hafta süreyle) kadar standart ticari sıçan laboratuvar diyetiyle beslenmiştir (Tablo 3.1) (Şekil 3.1) (Resim 3.1 A).



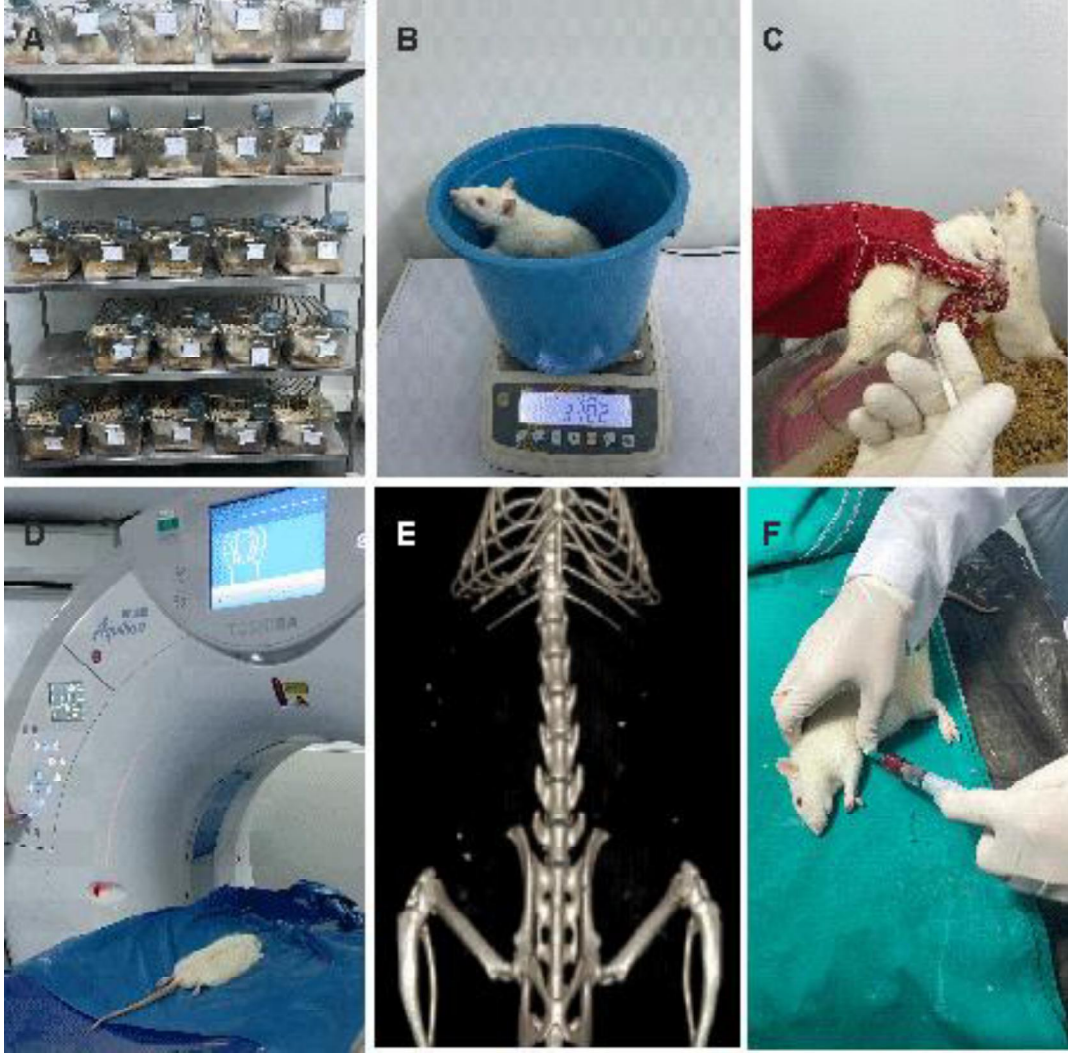
Şekil 3.1. Sıçan neonatal PKM modelinde fonksiyonel Px ve eksojen MT uygulamasının kemik doku (kranium ve vertebra) gelişimi ve morfolojisi üzerine olan uzun süreli etkilerinin değerlendirildiği deneysel çalışmadaki deney grupları ve uygulanan tedavi şeması

Tablo 3.1 Deney grupları

Gruplar	Cinsiyet dağılımı
Kontrol grubu (n=18)	Dişi (n=10) + Erkek (n=8)
PKM grubu (n=18)	Dişi (n=5) + Erkek (n=13)
PKM+Px grubu (n=18)	Dişi (n=9) + Erkek (n=9)
PKM+MT grubu (n=18)	Dişi (n=11) + Erkek (n=7)

Kısaltmalar: MT, melatonin, PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi

Deneklerin beslenme durumunu takip etmek amacıyla, her bir grupta yer alan her iki cinsiyetten yavru sıçanların tümünün vücut ağırlık ölçümleri doğumlarından sakrifiye edilmelerine kadar geçen 21 haftalık süre boyunca 3 haftada bir kez olmak üzere, düzenli bir şekilde kayıt altına alınmıştır (Resim 3.1 B).



Resim 3.1. (A) Laboratuvarında değişik deney gruplarındaki sıçanlar farklı kafeslerde tutulduğu görülmektedir. (B) Deneklerin vücut ağırlıklarının PND0'dan başlayarak sakrifikasyon aşamasına kadar üçer haftalık zaman periyotlarında düzenli bir şekilde ölçülüp kayıt altına alınması görülmektedir. (C) Sakrifikasyon işlemi öncesi her gruptan ve her iki cinsiyetten (dişi ve erkek) birer sıçanın rastgele seçilip, ketamin-HCl ve ksilazin enjeksiyonu yapılarak genel anestezi prosedürünün uygulanması görülmektedir. (D) Anestezi altındaki deneklerin 3-D lomber vertebra görüntüleri ile L3 vertebra korpusuna ait yoğunluk histogram profilleri elde olunmak üzere, 160 MDBT cihazına alınması görülmektedir. (E) Daha sonra makroskobik ve mikroskobik değerlendirmeler yapılacak olan lomber vertebra (LV2-LV5)'nın 3-D MDBT görüntüsü görülmektedir. (F) Daha sonra gerçekleştirilecek biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere deneklerinden birinden 5 cc'lik enjektör kullanılarak intrakardiyak yoldan kan örneği alınması görülmektedir. Kısaltmalar: PND0, doğum sonrası 0. gün; 3-D, 3 boyutlu; MDBT, multi dedektörlü bilgisayarlı tomografi.

3.3. Radyolojik Değerlendirme

Deney sonunda, hemen sakrifikasyon öncesi her gruptan ve her iki cinsiyetten (dişi ve erkek) birer sıçan rastgele seçilip, 100 mg/kg ketamin-HCl ve 5 mg/kg ksilazin ile i.p. enjeksiyonu ile genel anestezi uygulandıktan sonra (Resim 3.1 C), 160 multi dedektörlü (MD) BT cihazına (160 multi-slice Aquilion Prime CT Scanner) (Toshiba Otawara, Tochigi, Japan) alınmış, insanlarda kullanılan protokole benzer şekilde, önce 3-boyutlu (3-D) lomber vertebra görüntüleri elde olunmuş, daha sonra L3 vertebra (LV3)'nın korpusunun orta kısmından geçen tek bir 0,5 mm'lik MD BT protokolü kullanılarak, vertebra korpusuna ait kortikal ve spongiöz (trabeküler veya kansellöz) kemikten “yoğunluk histogram profilleri” elde olunmuş ve kaydedilmiştir (Resim 3.1 D). Yoğunluk histogram profilinde, BT görüntüsünde aynı gri ölçeğine sahip piksellerin toplamını temsil etmekte olup, beyaz pikseller kortikal kemik dokuyu, gri pikseller ise spongiöz kemiği ve siyah pikseller suyu veya havayı temsil etmektedir (Zagra ve diğerleri, 1990; Turgut ve diğerleri, 2005). Radyolojik olarak, beyaz (veya gri veya siyah) pikseller baskın ise, histogram profili “spike” (sivri uçlu) şeklinde olmaktadır (Zagra ve diğerleri, 1990; Turgut ve diğerleri, 2005). Buna karşın, beyaz, gri ve siyah pikseller dengeli ise, histogram profili “plato” şeklinde olmaktadır (Zagra ve diğerleri, 1990; Turgut ve diğerleri, 2005). Bu nedenle, normal vertebra korpusuna ilişkin yoğunluk histogramının şekli, ağırlıklı olarak homojen bir kemiği gösteren “spike” profiline sahip olmaktadır. Buna karşılık, “plato” profili, kemiğin spongiöz ve kortikal dokularının niceliksel olarak dengeli olduğu kemik için tipik olan bir bulgudur (Zagra ve diğerleri, 1990; Turgut ve diğerleri, 2005).

Anatomik olarak, sıçanlarda spinal kolunun lomber bölgesinde 6 adet vertebra mevcut olmakla birlikte, bu deneysel çalışmada yalnızca 13. torakal vertebra ile eklem yapan kostaların alt tarafında ve iliak çıkıntının ise üst tarafında yer alan vertebra korpusları, yani L1 vertebra (LV1) kaudalinde ve L6 vertebra (LV6) kranialinde yer alan lomber vertebra (LV2-LV5) korpusları aşağıda ayrıntılı bir şekilde açıklanmış olan makroskobik ve mikroskobik değerlendirmelere dahil edilmiştir (Resim 3.1 E).

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Tüm sıçanlardan, uygun anestezi altında, intrakardiyak ponksiyon yöntemi ile 5 cc'lik enjektör kullanılarak yaklaşık 2 mL kan örneği alınmış ve biyokimya tüplerine aktarılmıştır.

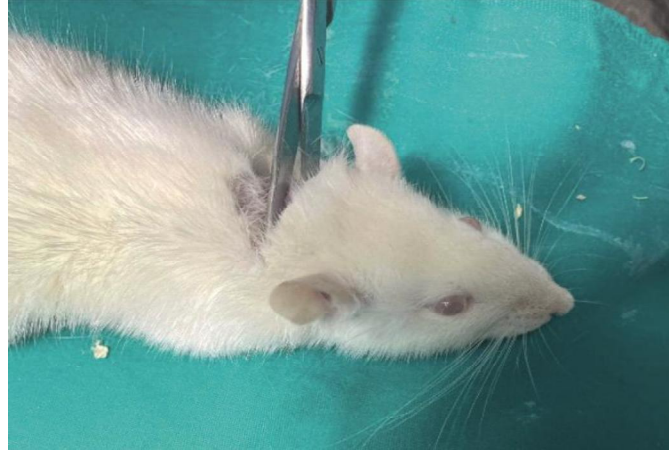
Kan örnekleri oda sıcaklığında 20 dakika süreyle pıhtılaşmaya bırakıldıktan sonra $3000 \times g$ 'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıştırılmıştır (Resim 3.1 F). Elde edilen serum örnekleri kapaklı Eppendorf tüplerine aktarılmış ve analiz zamanına kadar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan -80°C ultradüşük sıcaklık derin dondurucuda (Nuaire, -85°C Ultralow Freezer) saklanmıştır.

Analiz günü tüm serum örnekleri tek seferde oda sıcaklığında çözündürülmüş ve tekrar dondurulmamıştır. Serum IL-6, IL-10, TNF- α , OCN ve C-terminal telopeptid tip I kollajen (CTX-I) düzeyleri, üretici firma talimatları doğrultusunda enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Kullanılan ELISA kitleri, sırasıyla; IL-6 (Rat ELISA Kit, Katalog No: E-EL-R0015, BT-Lab, Çin), IL-10 (Rat ELISA Kit, Katalog No: 201-11-0138, BT-Lab, Çin), TNF- α (Rat ELISA Kit, Katalog No: 201-11-0765), OCN (Rat ELISA Kit, Katalog No: 201-11-0271) ve CTX-I (Rat ELISA Kit, Katalog No: 201-11-0010) şeklindedir. Tüm analizler aynı lot numarasına ait kitler kullanılarak çalışılmıştır.

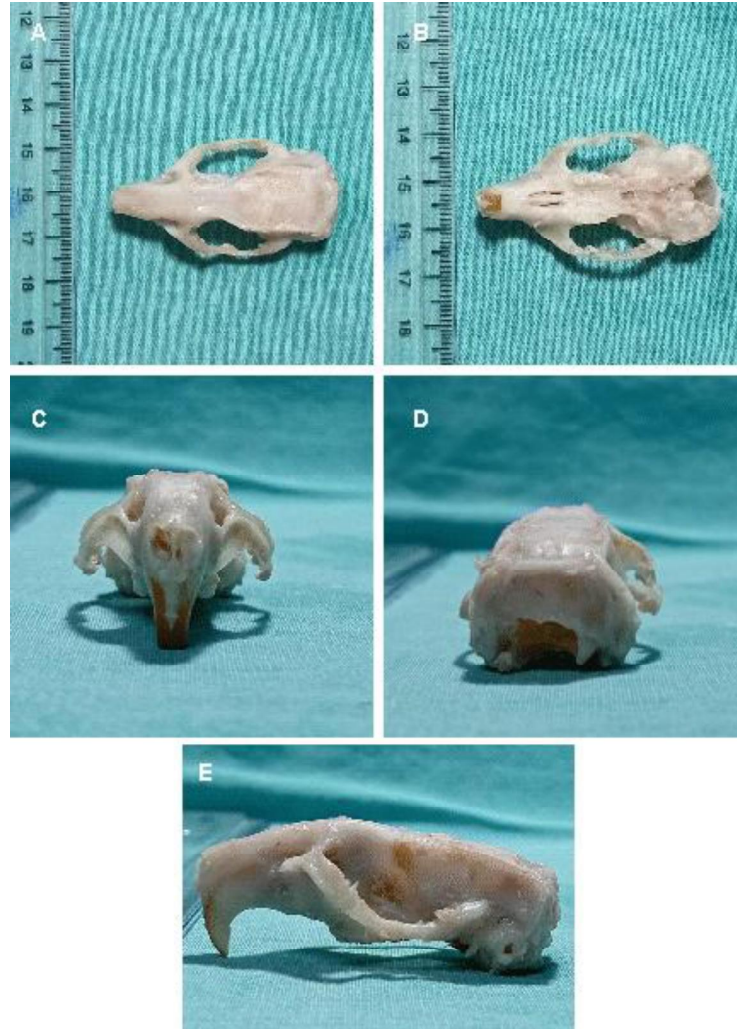
Optik dansite ölçümleri 450 nm dalga boyunda mikroparka okuyucu (EL800, BioTek Instruments, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Standart eğriler üretici tarafından sağlanan standartlar kullanılarak oluşturulmuş ve daha sonra örnek konsantrasyonları standart eğriye göre hesaplanmıştır. Ölçümlerin intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları üretici firma tarafından bildirilen sınırlar içinde bulunmuştur.

3.5. Kranium ve Lomber Vertebra Spesmenlerinin Hazırlanması

Deneyisel çalışma sonunda, tüm denekler keskin bir alet yardımıyla baş ile gövde kısımlarının birbirinden ayrılmasından ibaret cerrahi “dekapitasyon yöntemi” ile sakrifiye edildikten sonra (Resim 3.2), kranium (kafatası) ve lomber vertebra (LV2-LV5) cerrahi spesmenleri ayrı bloklar şeklinde eksize edilip, farklı plastik tepsilere konulmuştur (Resim 3.3 A-E ve Resim 3.4 A-D).



Resim 3.2. Deneysel işlem sonrası bir deneğin “dekapitasyon yöntemi” ile sakrifiye edilmesi prosedürü görülmektedir



Resim 3.3. Sakrifikasyonu sonrasında cerrahi diseksiyon işlemi yapılarak elde olunan bir sıçan kraniumuna ait dorsal (A), ventral (B), anterior (C), posterior (D) ve lateral (E) eksen görünümleri görülmektedir



Resim 3.4. (A-D) Deney sonunda sakrifikasyon işlemi sonrasında, dorsal cilt insizyonu ve median fasiyal işaretleme yapıldıktan sonra, makas kullanılarak L2-L5 lomber vertebral kolon (LV2-LV5) spesmeninin “en blok” rezeksiyonu görülmektedir

3.6. Lomber Vertebra Kemik Mineral Yoğunluğu Değerlendirmesi

Makroskobik incelemeler yapılmak üzere hazırlanmış lomber vertebral kolon (LV2-LV5) spesmenleri üzerinde, her bir deneğe ait lomber vertebra (LV2-LV5) kemik blokları DEXA cihazına (Hologic QDR-4500A, Hologic Inc., Waltham, MA, USA) yerleştirilmiş ve “Sıçan Tüm Vücut Modülü” (Rat Whole Body Module) olarak adlandırılan özel bir yazılım programı kullanılarak BMD ölçümü yapılmıştır. Bu işlem, oldukça hızlı ve invaziv olmayan

bir tanı yöntemi olup, elde edilen sonuçlar $\text{gr/cm}^2/100 \text{ gr}$ vücut ağırlığı şeklinde ifade edilmiştir (Ladizesky ve diğerleri, 2003; Fonseca ve diğerleri, 2004) (Resim 3.5).

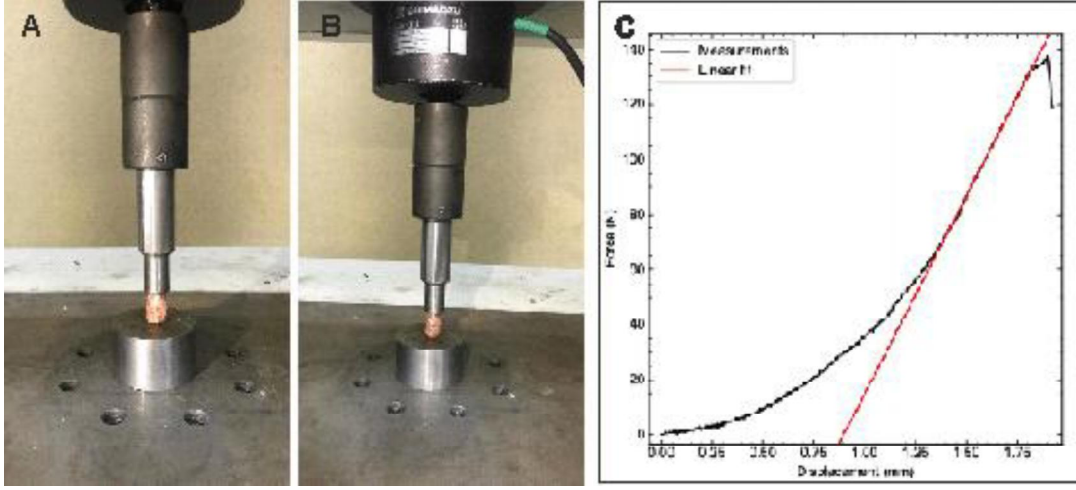


Resim 3.5. Deneklerden birine ait lomber vertebral kolon (LV2-LV5) spesmeninin DEXA cihazına (Hologic QDR-4500A, Hologic Inc., Waltham, MA, USA) yerleştirilmesi ve BMD ölçülmesi işlemi görülmektedir

Daha sonra, her bir deneğe ait lomber vertebra (LV2-LV5) kemik bloğundan LV3 kısımları eksize edilmiş ve aşağıda ayrıntılı bir şekilde tanımlanmış olan biyomekanik mukavemet testleri yapılmak üzere saklanmıştır.

3.7. Lomber Vertebra Biyomekanik Değerlendirmesi

Biyomekanik testler, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makina Mühendisliği Bölümü Laboratuvarında mevcut olan malzeme test sistemi (Autograph, Shimadzu Co., Japonya) kullanılarak, oda sıcaklığında ($\sim 24^{\circ}\text{C}$) gerçekleştirilmiştir. Biyomekanik testlerden önce her bir deneğe ait lomber vertebra (LV3) kemik spesmenlerinin visko-hiperelastik özelliklerini korumak amacıyla, cerrahi spesmenler % 0.9'luk NaCl serum fizyolojik solüsyonu kullanılarak nemlendirilmiştir. Daha sonra, LV3 spesmenleri sert çelik plaka üzerine yerleştirilmiş ve spesmenin merkezine konumlandırılan üst çelik çubuğa deplasman tipi bir yükleme uygulanmıştır (Resim 3.6 A, B).



Resim 3.6. Lomber vertebra (LV3) biyomekanik kompresyon test düzeneği (A, B) ve yarı statik kompresyon yükleme testi kullanılarak her bir LV3 spesmen örneğinde gözlemlenen bir tipik ölçüm örneği (C) görülmektedir

Resim 3.6 A-B'deki biyomekanik test düzeneğinde, yarı statik kompresif kuvvet, 2 mm/dak'lık sabit bir hızda uygulanmıştır (Fonseca ve diğerleri, 2004). Kuvvet ölçümleri Shimadzu 5 kN yük hücresi ile elde edilmiş ve ham sinyaller 20 Hz örnekleme hızıyla toplanmıştır. Kompresyon testleri, her biri farklı deney gruplarından farklı cinsiyetlerden (dişi ve erkek) ve sayıları 5-13 arasında değişen deneğe ait toplam 72 adet LV3 vertebra spesmenleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kuvvet ölçümleri, Shimadzu 5 kN yük hücresi ile elde edilmiş ve ham sinyaller 20 Hz örnekleme hızıyla toplanmıştır.

Biyomekanik testlerde, toplam 72 veri seti toplanmış olup, veri setlerinin her biri üç boyuttan oluşuyordu: birincisi zaman (s), ikincisi yer değiştirme (mm) ve üçüncüsü kuvvet (N). Tüm veri kümeleri, ölçümlerden özellik çıkarma gibi veri işleme amacıyla Python ile serileştirilmiş olup, bir dosya formatında düzenlenmiş ve kaydedilmiştir. Kompresyon kuvveti ve yer değiştirme eğrileri kullanılarak, maksimum kuvvet (maximum force) ve rijidite (katılık, stiffness) belirlenmiştir. Her bir LV3 kemik spesmeni için gözlemlenen tipik bir eğri örneği, Resim 3.6 C'de gösterilmiştir. Eğri, tipik olarak, başlangıçta doğrusal olmayan bir bölge sergiler, daha sonra bu bölgeden sonra doğrusal bir eğilim izlemektedir.

Vertebra spesmeni üzerindeki kompresyon yükünün daha da artması doku yetmezliğine yol açmak suretiyle, kompresyon kuvvetinde azalmaya neden olmaktadır. Maksimum kuvvet (N), kuvvet-yer değiştirme eğrisindeki en yüksek yüktür. Rijidite (N/mm) ise, kuvvet-yer değiştirme verilerinin doğrusal olarak uydurulması sonrasında

değerlendirilmekte ve bu doğrusal eğrinin eğimi rijiditeyi (N/mm) temsil etmektedir. Doğrusal elastik egride maksimum kuvvet (N) hesaplanmaktadır (Resim 3.6 C).

3.8. Kranial Morfometrik Değerlendirme

Daha önce hazırlanmış olan kranium spesmenleri % 10'luk formalin solüsyonu içinde saklanmış ve aşağıda ayrıntılı bir şekilde açıklandığı gibi, spesmenler üzerinde önce makroskobik morfometrik değerlendirmeler yapılmış, daha sonra histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler gerçekleştirilmiştir (Fernandes ve diğerleri, 2008; Pires ve diğerleri, 2020).



Resim 3.7. Her bir deneğe ait kranium spesmenleri üzerinde, yanılma payı ± 0.02 mm olan bir kumpas (vernier caliper) kullanılarak gerçekleştirilmiş olan bir ölçüm örneği görülmektedir

Morfolojik olarak, daha önce Fernandes ve ark. (2008) tarafından tanımlandığı şekilde, erişkin sıçanların kranium spesmenleri üzerinde anatomik terminolojiye uygun olarak, 5 adet farklı yükseklik (H1, H2, H3, H4 ve H5), 7 adet farklı uzunluk (L1, L2, L3, L4, L5, L6 ve L7) ve 4 adet farklı genişlik (W1, W2, W3 ve W4) ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.2) (Greene, 1963; Fernandes ve diğerleri, 2008). Her bir deneğe

ait kranium spesmenleri üzerinde yapılmış olan tüm bu ölçümler yanılma payı ± 0.02 mm olan kumpas (vermier caliper) kullanılarak yapılmış ve tüm ölçümler kayıt altına alınmıştır (Resim 3.7).

Tablo 3.2. Sıçan kraniumuna ait morfometrik analizlerde kullanılan anatomik parametreler

Anatomik parametre	Tanım
Yükseklik 1 (H1)	Nörokraniumun maksimum yüksekliği (kraniumun oksipital kısmı) = Protuberensiya oksipitalis eksterna'nın en üst ucu ile foramen oksipitale düzeyi arasındaki mesafe
Yükseklik 2 (H2)	Nörokraniumun maksimum yüksekliği (kraniumun parietal kısmı) = Sağ timpanik boşluğun anteromedial kenarı ile kafatasının dorsoventral yüzeyi arasındaki mesafe
Yükseklik 3 (H3)	Orbita boşluğunun maksimum yüksekliği = Orbitanın sağ üst ve alt duvarları arasındaki mesafe – infraorbital fissür düzeyi
Yükseklik 4 (H4)	Nörokraniumun maksimum yüksekliği (kraniumun fronto-parietal kısmı) = Posterior nazal çıkıntı (posterior palatin ucu) ile koronal ve sagittal sütürlerin birleşme noktası arasındaki mesafe
Yükseklik 5 (H5)	Nörokraniumun maksimum yüksekliği (kraniumun parieto-oksipital kısmı) = Posterior nazal çıkıntı (posterior palatin ucu) ile lambdoid ve sagittal sütürlerin birleşme noktası arasındaki mesafe
Uzunluk 1 (L1)	Nörokraniumun maksimum uzunluğu (dikdörtgen şeklinde ölçüm) = Protuberensiya oksipitalis eksterna ile premaksilla (kesici kemik, kesici dişleri taşıyan maksilla parçası)'nın alveoler kenarı arasındaki mesafe
Uzunluk 2 (L2)	Dorsoventral nörokraniumun maksimum uzunluğu (doğrusal ölçüm) = Protuberensiya oksipitalis eksterna ile premaksilla (kesici kemik, kesici dişleri taşıyan maksilla parçası)'nın alveoler kenarı arasındaki mesafe
Uzunluk 3 (L3)	Bazal nörokraniumun maksimum uzunluğu (doğrusal ölçüm) = Median düzlemde foramen oksipitale'nin en ventral kısmı ile premaksilla (kesici kemik, kesici dişleri taşıyan maksilla parçası)'nın alveoler kenarı arasındaki mesafe
Uzunluk 4 (L4)	Nazal kemiğinin maksimum uzunluğu = Nazal kemiğinin anterior ucu – median düzlemde nazal ve frontal kemikler arasındaki sütür çizgisi
Uzunluk 5 (L5)	Palatin kemiğinin maksimum uzunluğu = Median düzlemde posterior nazal çıkıntı (posterior palatin ucu) ile premaksilla (kesici kemik, kesici dişleri taşıyan maksilla parçası)'nın alveoler kenarı arasındaki mesafe

Tablo 3.2. Sıçan kraniumuna ait morfometrik analizlerde kullanılan anatomik parametreler (devamı)

Anatomik parametre	Tanım
Uzunluk 6 (L6)	Sfenoid kemiğin maksimum uzunluğu = Median düzlemde foramen magnum'un en ventral kısmı ile posterior nazal çıkıntı (posterior palatin ucu) arasındaki mesafe
Uzunluk 7 (L7)	Orbital kavitenin maksimum uzunluğu = Sağ infraorbital ve supraorbital kenarların en ventral kısımları arasındaki mesafe
Genişlik 1 (W1)	Nazal genişlik = Nazomaksiller sütürün sağ kenarı (medial infraorbital kenar kısmı) ile nazomaksiller sütürün sol kenarı arasındaki mesafe
Genişlik 2 (W2)	Premaksiller genişlik = Premaksilla (kesici kemik, kesici dişleri taşıyan maksilla parçası) kemiğinin en sağdaki yan kısmı ile en soldaki yan kısmı arasındaki mesafe
Genişlik 3 (W3)	Frontal genişlik = Frontal kemiğinin en sağdaki daralmış bölgesi (temporal çizgi, zigomatik-malar proçes sütür kısmı) ile frontal kemiğinin en soldaki daralmış bölgesi arasındaki mesafe
Genişlik 4 (W4)	Timpanik boşluklar arasındaki mesafe = Sağ timpanik boşluğun ön iç kenarı – sol timpanik boşluğun ön iç kenarı

Kaynak: Tablodaki morfometrik parametreler daha önce Fernandes ve ark. (2008) tarafından tanımlanmıştır [Bu tablo, (Fernandes ve diğerleri, 2008)'den aynen alınmıştır]

3.9. Kemik Dokusunun Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi

Makroskopik değerlendirmeler sonrası, her bir deney grubu için her iki cinsiyetten randomize olarak seçilmiş olan 5'er adet kranium ve L4-L5 lomber vertebra (LV4-LV5) cerrahi spesmenleri [dişi (n=5) ve erkek (n=5)], % 5 nitrik asit solüsyonu kullanılarak, rutin dekalsifikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Histolojik olarak, kemik doku kesitlerinde, aşağıda tanımlanmış olan hematoksilin-eozin (H-E) boyama ve immünohistokimyasal boyama (anti-BSP, anti-ON) protokolleri uygulandıktan sonra, hem kalitatif ve hem de kantitatif değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir.

3.9.1. Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Yöntemler

Çalışmada, farklı deney gruplarda yer alan sıçanların kranial ve vertebral kemik dokusu aşağıda belirtien malzemeler kullanılarak kesitler alınmış ve uygun doku takip protokolü uygulanarak H-E ile boyanıp histokimyasal olarak incelenmiştir (Tablo 3.3). Histolojik inceleme ve immünohistokimyasal analizler için kullanılmış olan temel araç ve gereçler şunlardır:

- Deney kafesleri
- Hassas Terazı (Precia XB-220A)
- Anestezik Maddeler (VetaKetam®, VetaXyl®)
- Paraformaldehit (Merck)
- Etil Alkol (AlkoMed)
- Ksilol (VWr Chemicals)
- Glasial Asetik Asit (Merck)
- PAP Pen (Invitrogen)
- Anti-sialoprotein (Bioss, bs-4729R)
- Anti-osteonectin (Bioss, bs-0026R)
- ImmunoCruz® rabbit ABC Staining System (sc-2018, Santa Cruz)
- 3,3'-diaminobenzidine (DAB) Substrate Kit (ab64238, abcam)
- Entellan (Merck)
- Parafin (Leica)
- Doku Takip Kaseti (Lp Italiana)
- Mayer's Hematoksilen Boya Solüsyonu (BioOptica)
- Harris Hematoksilen Boya Solüsyonu (Dako)
- Eozin Boya Solüsyonu (Dako)
- Masson Trikrom Boya Kiti (BioOptica)
- Mikrotom (Leica RM 2145)

- Distile Su
- Fosfat tampon solüsyonu (PBS) tablet (P4417, Sigma)
- Parafilm (Isolab)
- 50 ml'lik Falkon Tüpleri (Fıratmed)
- Işık mikroskopu (Olympus BX-51 light microscope)
- Dijital kamera (Olympus DP72)

Tablo 3.3 Işık mikroskobu doku takip protokolü

İşlem basamakları	Süre	Takip aşamaları
% 80 Alkol	45 dk	Dehidratasyon aşaması
% 95 Alkol	45 dk	Dehidratasyon aşaması
% 100 Alkol	45 dk	Dehidratasyon aşaması
% 100 Alkol	45 dk	Dehidratasyon aşaması
Ksilol	Gözle takip	Şeffaflama aşaması
Parafin 1	30 dk	Parafine gömme aşaması
Parafin 2	30 dk	Parafine gömme aşaması

3.9.1.1. Işık Mikroskobu İçin Kesit Alma

Tüm dokular bloklama işleminden sonra oda sıcaklığında 1 gün bekletilmiş ve kesit alma işlemine başlamadan 1 saat önce buzdolabında +4°C'de bekletilmiştir. Dokulardan ışık mikroskopik incelemeler için Leica RM 2145 mikrotomda kesitler alındıktan sonra, 37°C su banyosunda kesitlerin açılması sağlanarak polilizinli lamalar üzerine kalınlığı 5 µm olan doku kesitleri alınmıştır (Resim 3.8).

3.9.1.2. Histokimyasal Yöntem

Işık mikroskopik görüntülemeler için tüm boyamalardan önce dokuların deparafinizasyonu için öncelikle 57°C etüvde 1 saat boyunca bekletilmiştir. Etüvden çıkan preparatlar soğuduktan sonra ksilole dizilmiş ve bir gece boyunca ksilolde bekletilmiştir.

Kesitler çeşitli histokimyasal ve immünohistokimyasal protokoller ile boyanarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.4, Tablo 3.5 ve Tablo 3.6).



Resim 3.8. Işık mikroskopik incelemeler yapılmak üzere 5 µm kalınlığında kesitlerin hazırlanmasında kullanılan mikrotom (Leica RM 2145) ve sıcak su banyosu düzeneği görülmektedir

Tablo 3.4. Hematoksilen-eozin boyama protokolü

İşlem Basamakları	Süre
% 100 Alkol	2 dk.
% 100 Alkol	2 dk.
% 95 Alkol	2 dk.
% 80 Alkol	2 dk.
Distile Su	5 dk.
Hematoksilen	1 dk. 10 sn.
Akarsu	Çalkalama işlemi
Asit Alkol	3-10 defa çalkalanarak ile diferansiye olması sağlanır. (Diferansiyasyon işlemine mikroskop altında kontrol edilerek devam edilir.)
Akarsu	Çalkalama işlemi
Amonyaklı Su	Preparatlar parlak mavi renk oluncaya kadar bu işleme devam edilir.
Akarsu	Çalkalama işlemi
Distile Su	1 dk. yıkama

Tablo 3.4. Hematoksilen-eozin boyama protokolü (devamı)

İşlem Basamakları	Süre
Eozin	1 dk. 10 sn.
% 95 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma
% 100 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma
% 100 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma

Tablo 3.5. Asit alkol solüsyonu

% 70 Alkol	100 ml
Hidroklorik Asit (HCl)	10 ml

Tablo 3.6. Amonyaklı su solüsyonu

Amonyak (NH ₃)	1-2 ml
Distile Su (dH ₂ O)	100 ml

Dehidratasyon aşaması bittikten sonra, kurutulan doku kesitleri, fazla boyanın akması ve preparatın temizlenmesi amacıyla 30 dk. Süreyle ksilolde bekletilmiştir. Daha sonra ksilolden çıkarılan preparatlar, kurutulduktan sonra entellan ile kapatılmıştır.

3.9.2. İmmünohistokimyasal Yöntem

Polilizinli lamlara alındıktan sonra kurumaları ve lam üzerine yapışmaları için beklenen kranial kemik doku preparatları boyama işlemine geçilmeden önce, 1 saat boyunca 60°C’lik etüvde bekletilmiştir. Etüvden çıktıktan sonra preparatların soğumaları beklenmiş ve parafinden arındırma işlemi için gece boyu ksilolde bırakılmıştır. Parafinden arındırma işlemi sonrasında, aşağıdaki tablodaki işlem basamakları takip edilerek boyama işlemi gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. İmmünohistokimyasal boyama için gerekli işlem basamakları

İşlem Basamakları	Süre
% 100 Alkol	2 dk.
% 100 Alkol	2 dk.
% 95 Alkol	2 dk.
% 80 Alkol	2 dk.
Distile Su	3 dk.
Sodyum Sitrat solüsyonu	90°C mikrodalga içerisinde 30 dk.
Soğuk su banyosu	Preparatlar soğuyana kadar
Distile su	5 dk.
% 1'lik Triton X solüsyonu	5 dk.
% 3'lük Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	10 dk.
PBS	2 dk. (Bu işlem 3 kez tekrar edilir.)
Dokuların çevresi PAP pen yardımı ile sınırlandırılır.	
Serum Bloking solüsyonu	30 dk.
Primer Antibody (1:100 dilüsyonda Anti-sialoprotein, Anti-osteonectin primer antikoru)	+4°C'de gece boyu bekletilir.
PBS	2 dk. (Bu işlem 3 kez tekrar edilir.)
HRP	30 dk.
PBS	2 dk. (Bu işlem 3 kez tekrar edilir.)
DAB	Gözle takip
Distile Su	3 dk.
Mayer's Hematoksilen	1 dk.
Çeşme Suyu	Çalkalama İşlemi
Distile Su	1-2 kez daldırıp çıkarma
% 95 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma
% 100 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma
% 100 Alkol	1-2 kez daldırıp çıkarma

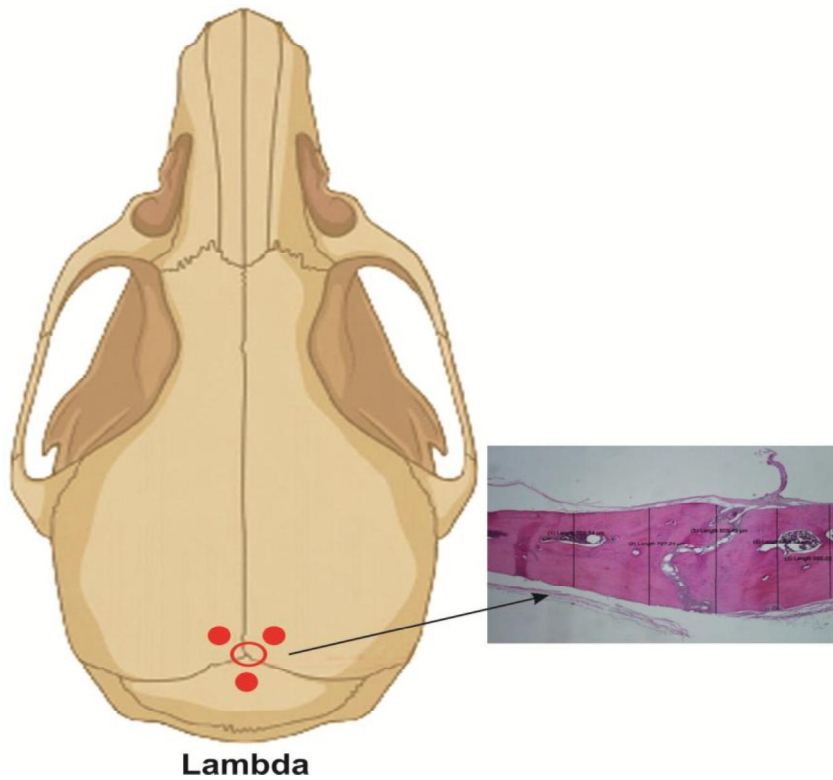
Tablodaki işlem basamaklarının uygulanmasından sonra, preparatlar 30 dakika ksilolde tutulmalarının ardından entellan ile kapatılarak görüntülemeye hazır hale getirilmiştir.

3.9.3. Mikroskopik Değerlendirme Yöntemleri

3.9.3.1. Morfometrik Analiz

3.9.3.1.1. Kranial Diploe Kalınlık Ölçümü

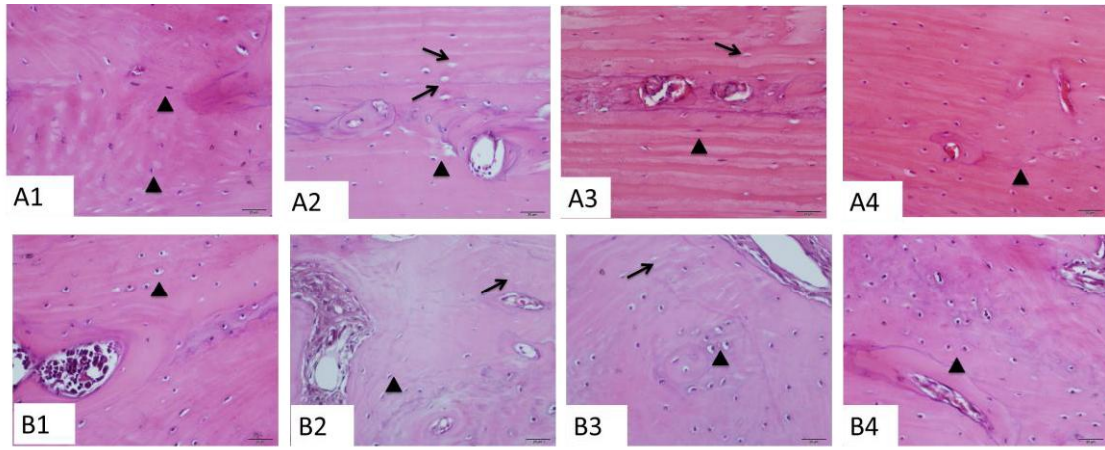
Her bir deneğe ait kranium kesitleri, boyama işlemi sonrası Olympus BX-51 ışık mikroskobu ve Olympus DP72 dijital kamera ile görüntülenmiş ve alınmış olan fotoğraflar üzerinde iki kör histolog tarafından CellSensEntry 3.1 (Japan) yazılımı ile aşağıda ayrıntılı bir şekilde anlatılmış olan morfometrik analizler gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.9. Sıçan kraniumu üzerinde, “diploe kalınlık ölçümü” ve “laküna analizi” yapılmak üzere seçilmiş olan “lambda” anatomik noktasına komşu 3 farklı kortikal kemik alanı (kırmızı noktalar şeklinde) (A) ile bu kemik alanlarına ait kesitlere ait histolojik görüntü (4x büyütme bar 200 μ m H-E) (B) görülmektedir

Daha önce Pires ve diğerleri (2020) tarafından tanımlanmış olan morfometrik analiz yöntemi tarafımızca modifiye edilmiş, her bir gruptan ve her iki cinsiyetten (dişi ve erkek) randomize olarak seçilen 5'er adet hayvana ait kranium spesmenleri üzerinde “lambda” anatomik noktasını sınırlayan okspital kemik ile sağ parietal ve sol parietal kemik üzerinde randomize olarak seçilen 3 farklı kortikal kemik alanına ait H-E boyamalı kranial kemik dokusu kesitlerinden alınan (x40 büyütme) görüntülerde kraniumun lambda noktasına komşu 3 farklı kranial kemik alanında μm cinsinden “diploe kalınlık ölçümü” yapılmıştır (Greene, 1963; Pires ve diğerleri, 2020) (Resim 3.9).

3.9.3.1.2. Kranial Laküna Analizi



Resim 3.10 Kranial “laküna analizi” yapılmak üzere, farklı deney gruplarındaki her iki cinsiyette (dişi ve erkek) deneklerin kranial “lambda” anatomik noktasını sınırlayan komşu okspital kemik ile sağ parietal ve sol parietal kemiklerin kortikal alanından hazırlanmış olan H-E boyamalı görüntüler görülmektedir. (A) Dişi cinsiyette denekler: A1 kontrol, A2 PKM, A3 PKM+Px, A4 PKM+MT. (B) Erkek cinsiyette denekler: B1 kontrol, B2 PKM, B3 PKM+Px, B4 PKM+MT. Görüntü analizleri, açık kaynaklı ImageJ (Fiji, NIH, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Görüntülerin kalibrasyonu, mikroskop ölçeği referans alınarak 20 μm gerçek dünya birimine ayarlanmış ve nicel sayıma hazırlanmıştır (siyah üçgen, dolu laküna; siyah ok, boş laküna)

Daha önce Pires ve diğerleri (2020) tarafından tanımlandığı şekilde, her bir gruptan ve her iki cinsiyetten randomize olarak seçilen 5'er adet hayvana ait kranium spesmenleri üzerinde "lambda" anatomik noktasını sınırlayan oksipital kemik ile sağ parietal ve sol parietal kemik üzerinde randomize olarak seçilen 3 farklı kortikal kemik alanına ait H-E boyamalı kranial kemik dokusu kesitlerinden alınan (x40 büyütme) görüntülerdeki lakünalar, açık kaynaklı Image J görüntü analiz yazılımı (Fiji, NIH, USA) kullanılarak, boş kranial laküna % değerleri (boş laküna sayısının toplam laküna sayısına oranı) hesaplanmıştır (Pires ve diğerleri, 2020) (Resim 3.10). Görüntülerin kalibrasyonu, mikroskop ölçeği referans alınarak, 50 µm gerçek dünya birimine ayarlanmış ve nicel sayıma hazırlanmıştır.

Görüntü dönüşümü için tüm görüntüler, standardizasyon için 8-bit gri tonlamalı formata dönüştürülmüştür. Bir sonraki adımda, lakünaların ve hücrelerin arka plandan ayrılması amacıyla, görüntülere Otsu algoritması ile eşikleme (thresholding) uygulanmıştır. Yapılan ölçümlerden veri toplama için, eşiklenmiş görüntülerde `plugins>analyze>cellcontur> initialize` komutu çalıştırılarak, boş ve dolu laküna sayımı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler bu sayım sonucunda her bir görüntüden elde edilmiş olan "toplam kranial laküna sayısı" (count) ve "boş kranial laküna sayısı" (count) nicel verileri istatistiksel girdi olarak analiz edilmiştir.

3.9.3.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Histokimyasal ve immünohistokimyasal boyamalara ait preparatlar Olympus BX-51 binoküler ışık mikroskobuna entegre Olympus DP72 renkli dijital kamera ve cellSens Entry 1.7 görüntüleme yazılımı ile dijitalize edilmiştir. Skoring, iki kör histolog tarafından birbirlerinden farklı zaman dilimlerinde ve grupların içerikleri bilinmeden yapılmıştır.

Her grupta kesitlerin immünohistokimyasal değerlendirilmesi sistematik randomize seçilmiş dijitalize görüntülerde immünoekspresyon dağılımı ve intensitesi immünoreaktivitenin (0)'dan (3+)'e histolojik skorlanması (h-score) ile gerçekleştirilmiştir. İmmünoreaktivitenin yokluğu için (0) değeri verilirken, zayıf immünoreaktivite varlığında (1+), orta derecede immünoreaktivite varlığında (2+) ve güçlü (artmış) boyanma varlığında

ise (3+) olarak değerlendirilmiştir. Toplam pozitif hücre oranları ve boyanma yoğunluğuna dayalı olarak, “H-skoru” hesaplanmıştır.

“H-skoru” = 1x (az boyanan hücre sayısı [+1]) + 2x (orta düzey boyanan hücre sayısı [+2]) + 3x (yoğun boyanan hücre sayısı [+3])

3.10. İstatiksel Analiz

Bu çalışmanın istatiksel analizi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı’nda IBM SPSS for Windows 27 istatistik yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Normal dağılım varsayımı Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmış ve gruplar arası farklılıkları belirlemek için post-hoc test olarak Tukey testinden yararlanılmıştır. Grupların cinsiyetten bağımsız olup olmadığı X^2 testi ile belirlenmiştir. Değişkenlere ilişkin tanımlayıcı istatistikler normal dağılım gösteren değişkenler için ortalama $\pm$ standart hata şeklinde rapor edilmiştir. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu deneysel çalışmada, her iki cinsiyetten (dişi ve erkek) sıçanlar kullanılmış ve yapılan ön istatistiksel değerlendirmede makroskobik vücut ağırlığı ve kranium morfometrik analizi ile radyolojik lomber vertebra kemik yoğunluk histogramı, kemik mineral yoğunluğu ve biyomekanik kompresyon testi sonuçları, biyokimyasal analizler ve histolojik veya immünohistokimyasal parametreler açısından her iki cinsiyet (dişi ve erkek) arasında anlamlı bir fark saptanmamış ($p=0,202$) olup, grupların homojen olduğu kabul edilmiş ve veriler cinsiyet ayrımı gözetilmeksizin grup bazında havuzlanarak sunulmuştur.

4.1. Makroskopik Analiz Bulguları

4.1.1 Vücut Ağırlığı Ölçümü

Kontrol grubu ve PKM grupları (PKM grubu, PKM+Px grubu ve PKM+MT grubu) için doğdukları gün (PND0) ve üçer haftalık herbir zaman periyodu sonunda yapılmış olan vücut ağırlığı ölçümüne ait ortalama değerler Tablo 4.1’de toplu olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Deney gruplarına göre farklı zaman periyotlarındaki vücut ağırlığı ölçüm sonuçları*

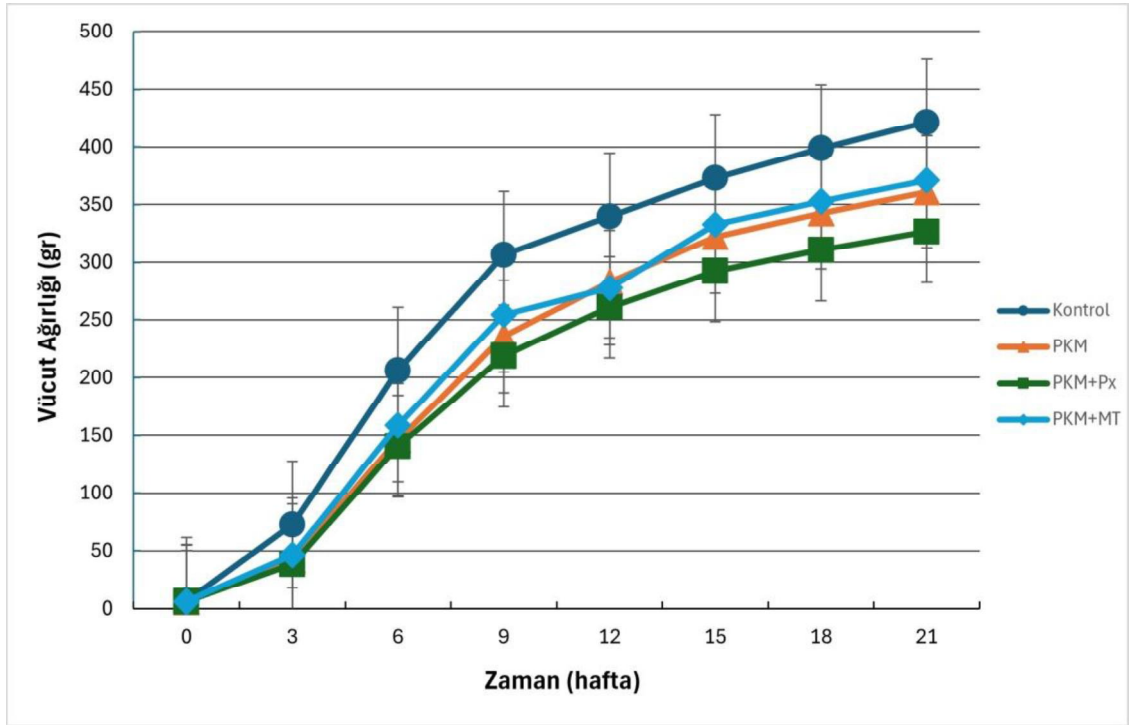
Vücut ağırlığı (gr)	Kontrol grubu (n=18)	PKM grubu (n=18)	PKM+Px grubu (n=18)	PKM+MT grubu (n=18)	p değeri
Vücut ağırlığı 0 (BW0)	6,20±0,09	6,07±0,14	6,04±0,11	5,83±0,09	0,139
Vücut ağırlığı 1 (BW1)	72,38±1,22	41,88±1,39	38,27±0,75	42,33±1,14	< 0,001
Vücut ağırlığı 2 (BW2)	205,95±6,73	146,32±10,51	140,36±3,26	147,50±8,62	< 0,001
Vücut ağırlığı 3 (BW3)	306,29±16,37	235,52±17,49	218,84±8,99	254,30±15,54	0,001
Vücut ağırlığı 4 (BW4)	335,05±21,51	282,93±17,52	260,78±11,02	288,21±17,62	0,027
Vücut ağırlığı 5 (BW5)	362,77±24,92	321,79±20,92	292,37±16,56	332,58±20,96	0,136
Vücut ağırlığı 6 (BW6)	398,56±27,31	342,61±23,99	310,45±18,66	352,60±22,78	0,139
Vücut ağırlığı 7 (BW7)	411,29±30,57	360,91±23,94	326,65±19,55	371,06±24,95	0,132

*Her bir gruba ait vücut ağırlığı ölçüm sonuçları (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir.

Kısaltmalar: BW0, doğum sonrası 0. gün vücut ağırlığı; BW1, ilk üç hafta sonu vücut ağırlığı; BW2, ikinci üç hafta sonu vücut ağırlığı; BW3, üçüncü üç hafta sonu vücut ağırlığı; BW4, dördüncü üç hafta sonu vücut ağırlığı; BW5, beşinci üç hafta sonu vücut ağırlığı; BW6, altıncı üç hafta sonu vücut ağırlığı; BW7, yedinci üç hafta sonu vücut ağırlığı; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi, toplam 21 hafta devam eden bu deneysel çalışmada, çalışmanın başlangıcında (PND0) farklı gruplardaki sıçanların vücut ağırlığı ölçüm sonuçları açısından anlamlı bir farklılığın mevcut olmamasına karşın ($p=0,139$), 3 hafta devam eden laktasyon dönemi sonlarından itibaren belirgin olan ve ancak daha sonraki dönemde kısmen yavaşlama eğilimi gösteren vücut ağırlığı artışının sözkonusu olduğu saptanmıştır. Yine, PKM’ye uğratılmış gruplardaki deneklerin vücut ağırlıklarının kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Şöyle ki, doğum sonrası ilk, ikinci, üçüncü ve dördüncü üçer haftalık zaman periyotları sonlarında yapılmış vücut ağırlığı ölçüm sonuçlarında (BW1-BW4) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu (sırasıyla, $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,001$ ve $p=0,027$), buna karşın doğum sonrası beşinci, altıncı ve yedinci üçer haftalık zaman periyotlarında yapılmış olan ölçümler (BW5-BW7) arasında ise, önemli bir farklılığın mevcut olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, $p=0,136$, $p=0,139$ ve $p=0,132$) (Grafik 4.1).

Deneysel çalışma sonunda, özellikle PKM+Px grubunda yer alan sıçanlarda daha belirgin olmak üzere, PKM’ye uğratılmış sıçanların tümünde, kontrol grubuna kıyasla değişen düzeylerde vücut ağırlık kaybının sözkonusu olması nedeniyle, hayvanların makroskopik görünimleri arasında bir farklılık ortaya çıkmıştır. Ayrıca, PKM gruplarında yer alan deneklerin bazılarında çeşitli mental ve fiziksel belirtiler (kıllarda seyrekleşme ve dökülme, tırnaklarda kırılma, kas atrofisi, çevreyle ilgisizlik ve ajitasyon gibi davranış bozuklukları) gözlenmiştir.

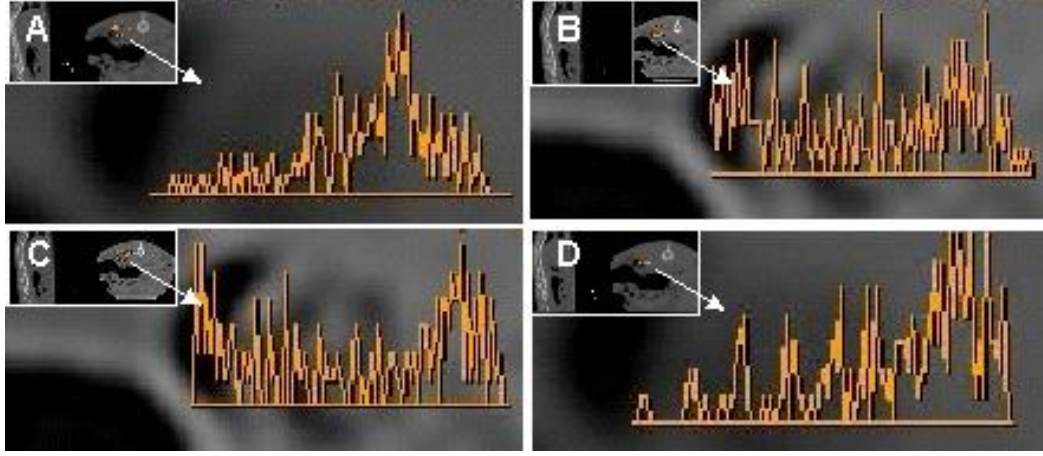


Grafik 4.1 Vücut ağırlığındaki ölçüm sonuçları. PND0'dan başlayan ve toplam 21 hafta devam eden bu deneysel çalışmada, üçer hafta arayla yapılmış ölçüm sonuçları (BW1-BW7) görülmektedir. Kontrol grubu ile PKM'ye uğratılan gruplar için başlangıçtan dördüncü üç haftalık periyot sonuna kadar yapılmış olan vücut ağırlığı ölçümleri (BW1-BW4) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın mevcut olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,001$ ve $p=0,027$). Her bir gruba ait vücut ağırlığı ölçüm sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PND0, doğum sonrası 0. gün; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

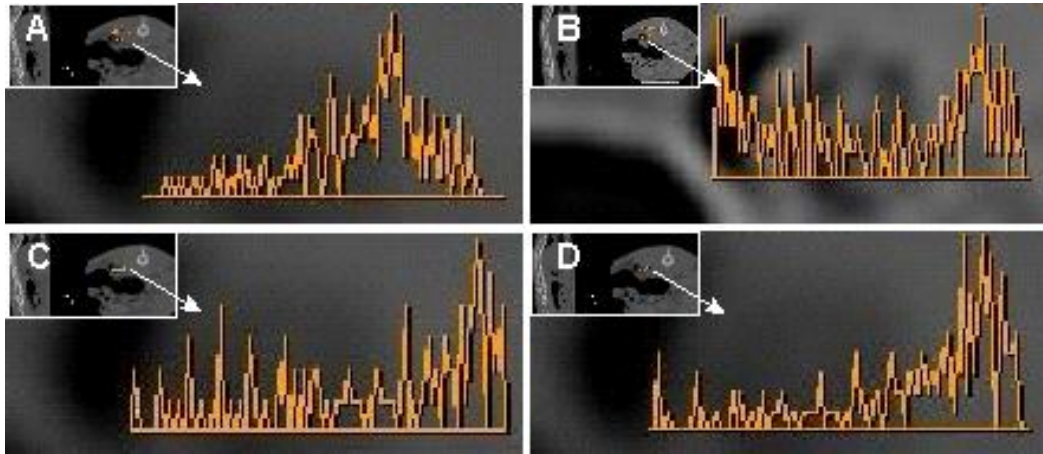
4.1.2 Lomber Vertebra Kemik Yoğunluk Histogram Analizi

Bu deneysel çalışmada, her gruptan ve her iki cinsten birer hayvanda LV3 vertebra korpuslarından BT yoğunluğu verileri elde olunmuştur. İlginç bir şekilde, hem kontrol ve hem de PKM+MT gruplarındaki dişi ve erkek hayvanlardan elde olunan lomber vertebra kemik yoğunluk histogramları “spike profili” göstermiştir (Resim 4.1 A,D ve Resim 4.2.A,D). Buna karşın, PKM ve MKM+Px gruplarındaki dişi ve erkek hayvanların elde olunan yoğunluk histogramlarının ise, geniş bir “plato profili” şeklinde olduğu görülmüştür (Resim 4.1 B,C ve Resim 4.2.B,C). Bu bulgular, her iki cinsiyetteki deneklerde, hem PKM

ve hem de Px prosedürlerinin, vertebral kolon lomber segmentindeki vertebra korpuslarında mevcut olan daha yüksek yoğunluğa sahip kemik doku miktarında bir azalmaya sebep olduğunu açıkça göstermektedir.

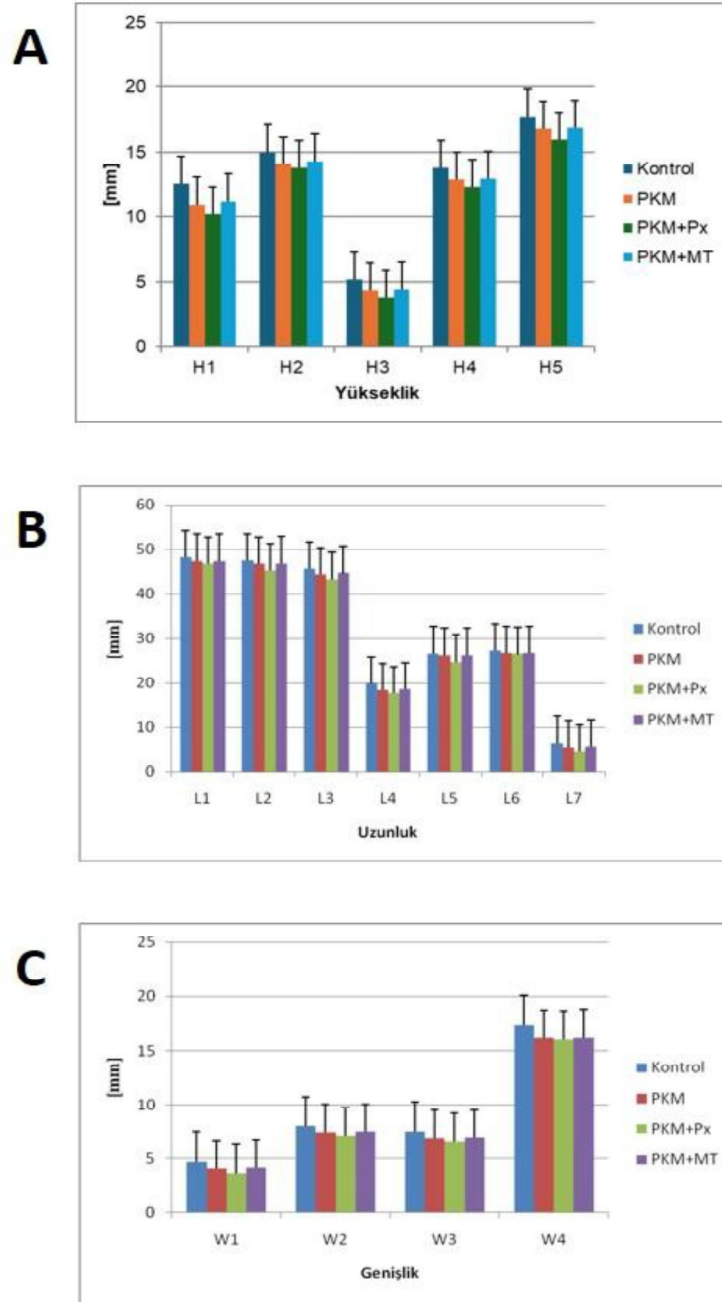


Resim 4.1. Kontrol (A), PKM (B), PKM+Px (C) PKM+MT (D) gruplarındaki dişi sıçanların lomber vertebra kemik yoğunluk histogramlarına örnekler. Kontrol ve PKM+MT gruplarındaki hayvanlarda “spike profili” görülürken, PKM ve PKM+Px gruplarındaki hayvanlarda vertebraların mineralizasyonunun azaldığını gösteren “plato profili” görülmektedir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin



Resim 4.2. Kontrol (A), PKM (B), PKM+Px (C) PKM+MT (D) gruplarındaki erkek sıçanların lomber vertebra kemik yoğunluk histogramlarına örnekler. Kontrol ve PKM+MT gruplarındaki hayvanlarda “spike profili” görülürken, PKM ve PKM+Px gruplarındaki hayvanlarda vertebraların mineralizasyonunun azaldığını gösteren “plato profili” görülmektedir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

4.1.3 Kranium Morfometrik Ölçüm Sonuçları



Grafik 4.2. Makroskobik kranial morfometrik analiz yükseklik (A), uzunluk (B) ve genişlik (C) ölçüm sonuçları. Her bir gruba ait kranium yükseklik, uzunluk ve genişlik ölçüm sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Morfometrik analizler arasında yer alan L2, L5 ve W4 ölçümleri dışında kalan tüm ölçüm sonuçları için, kontrol grubu ile PKM grupları (PKM grubu, PKM+Px grubu ve PKM+MT grubu) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin; H, yükseklik; L, uzunluk; W, genişlik

Kranium morfometrik analiz sonuçları karşılaştırıldığında, PKM'ye uğratılmış gruplarda yer alan deneklere ait farklı ölçümlerin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu açıkça görülmektedir. İstatistiksel olarak, L2, L5 ve W4 ölçümleri dışında kalan tüm ölçüm sonuçları için, kontrol grubu ile PKM grupları (PKM grubu, PKM+Px grubu ve PKM+MT grubu) arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Bununla birlikte, tüm ölçümler için PKM grubu ile PKM+MT grupları arasında, bazı ölçümler (H2, L6, W2, W3 ve W4) için PKM ile PKM+Px grupları arasında ve diğer bazı ölçümler (H2, L4, L6, W2, W3 ve W4) için ise PKM+Px ile PKM+MT grupları arasındaki mevcut farklılığın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı saptanmıştır ($p\geq0,05$). Bu çalışmadaki kraniuma ait tüm morfometrik ölçüm sonuçları Tablo 4.2 ve Grafik 4.2'de sunulmaktadır.

Tablo 4.2 Deney gruplarına göre makroskobik kranial morfometrik analiz sonuçları*

Morfometrik parametre (mm)	Kontrol grubu (n=18)	PKM grubu (n=18)	PKM+Px grubu (n=18)	PKM+MT grubu (n=18)
Yükseklik 1 (H1)	12,56±0,21	10,98±0,12 ^a	10,23±0,15 ^a	11,24±0,16 ^a
Yükseklik 2 (H2)	15,01±0,25	14,08±0,08 ^a	13,81±0,11 ^a	14,27±0,09 ^a
Yükseklik 3 (H3)	5,18±0,12	4,34±0,05 ^a	3,77±0,08 ^a	4,41±0,07 ^a
Yükseklik 4 (H4)	13,79±0,17	12,91±0,06 ^a	12,34±0,07 ^a	12,98±0,06 ^a
Yükseklik 5 (H5)	17,75±0,25	16,77±0,10 ^a	15,97±0,16 ^a	16,87±0,14 ^a
Uzunluk 1 (L1)	48,12±0,26	47,33±0,08 ^a	46,74±0,08 ^a	47,33±0,08 ^a
Uzunluk 2 (L2)	47,46±0,32	46,73±0,11	45,33±0,16 ^a	46,79±0,13
Uzunluk 3 (L3)	45,59±0,31	44,35±0,12 ^a	43,33±0,14 ^a	44,65±0,14 ^a
Uzunluk 4 (L4)	19,84±0,28	18,40±0,12 ^a	17,66±0,35 ^a	18,51±0,13 ^a
Uzunluk 5 (L5)	26,62±0,23	26,25±0,05	24,81±2,64 ^b	26,26±0,06

Tablo 4.2 Deney gruplarına göre makroskopik kranial morfometrik analiz sonuçları*
(devamı)

Morfometrik parametre (mm)	Kontrol grubu (n=18)	PKM grubu (n=18)	PKM+Px grubu (n=18)	PKM+MT grubu (n=18)
Uzunluk 6 (L6)	27,22±0,20	26,68±0,03 ^c	26,47±0,12 ^a	26,71±0,04 ^d
Uzunluk 7 (L7)	6,44±0,10	5,40±0,07 ^a	4,57±0,10 ^a	5,57±0,10 ^a
Genişlik 1 (W1)	4,70±0,13	4,04±0,03 ^a	3,65±0,11 ^a	4,12±0,07 ^a
Genişlik 2 (W2)	7,99±0,19	7,43±0,05 ^c	7,08±0,08 ^a	7,46±0,07 ^f
Genişlik 3 (W3)	7,50±0,18	6,88±0,04 ^g	6,53±0,10 ^a	6,92±0,06 ^g
Genişlik 4 (W4)	17,32±0,20	16,15±0,55	16,01±0,07 ^h	16,18±0,37

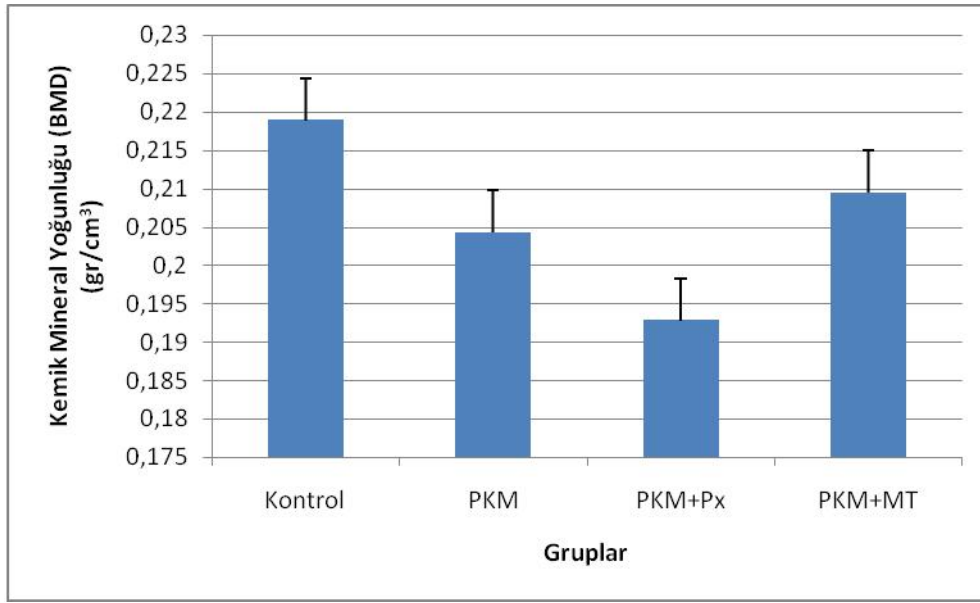
^a p<0.001; ^b p=0,002; ^c p= 0,012; ^d p=0,019; ^e p=0,003; ^f p=0,006; ^g p=0,001;

^h p=0,048 kontrol grubuna kıyasla.

* Her bir gruba ait kranium yükseklik, uzunluk ve genişlik ölçüm sonuçları (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir.

Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin; H, yükseklik; L, uzunluk; W, genişlik

4.2. Lomber Vertebra Kemik Mineral Yoğunluğu Analizi



Grafik 4.3 Deney gruplarına göre sıçan lomber vertebra (L2-L5) BMD ölçüm sonuçları.

PKM'ye uğratılmış deneklerde BMD değerlerinin daha düşük olduğuna ve gruplar arasında en düşük değere sahip olan grubun ise, PKM+Px grubu olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait lomber vertebra (L2-L5) BMD sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: BMD, kemik mineral yoğunluğu; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin.

Lomber vertebralara (LV2-LV5) ait kemik mineral yoğunluğu (BMD) analiz sonuçları Tablo 4.3'de sunulmuştur. Genel olarak, PKM'ye uğratılmış deneklere ait BMD sonuçları daha düşük olup, PKM ve PKM+Px gruplarına ait ortalama değerler ile kontrol grubuna değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (sırasıyla, $p=0,001$ ve $p<0,001$). Diğer yandan, gruplar arasında en düşük BMD değerine sahip PKM+Px grubuna ait ortalama değer ile PKM grubuna ait sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,016$), kontrol grubuna ait sonuç ile PKM+MT grubuna ait sonuç arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.3) (Grafik 4.3).

Tablo 4.3 Deney gruplarına göre sıçan lomber vertebra (L2-L5) BMD sonuçları*

Gruplar	BMD (gr/cm ³)
Kontrol grubu (n=18)	0,219±0,004
PKM grubu (n=18)	0,204±0,002 ^a
PKM+Px grubu (n=18)	0,192±0,001 ^{b,c}
PKM+MT grubu (n=18)	0,210±0,003 ^d

^a p=0,001 ve ^b p<0,001 kontrol grubuna kıyasla; ^c p=0,016 PKM grubuna kıyasla;

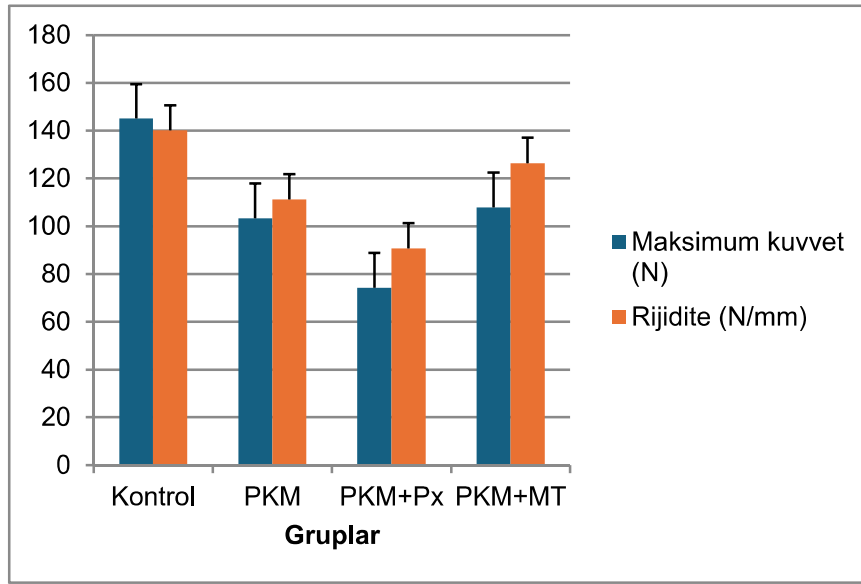
^d p<0,001 PKM+Px grubuna kıyasla.

* Her bir gruba ait lomber vertebra (L2-L5) BMD sonuçları (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir.

Kısaltmalar: BMD, kemik mineral yoğunluğu; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

4.3. Lomber Vertebra Biyomekanik Kompresyon Testi Sonuçları

Üçüncü lomber vertebra (LV3) biyomekanik kompresyon testi sonuçları Tablo 4.4’de verilmiştir. PKM gruplarında hem maksimum kuvvet sonuçları hem de rijidite ölçüm sonuçları kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuş olup, kontrol grubu ile PKM ve PKM+Px gruplarına ait sonuçlar arasındaki fark önemli bulunmuştur (sırasıyla, p<0,001 ile p<0,001 ve p=0,026 ile p<0,001). Yine, PKM+Px ile PKM+MT gruplarına ait sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (p=0,004), maksimum kuvvet için kontrol grubuna ait sonuç ile PKM+MT grubuna ait sonuç arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.4) (Grafik 4.4).



Grafik 4.4 Deney gruplarına göre, lomber vertebra (LV3) kemiği biyomekanik analiz sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı gruplarda, hem maksimum kuvvet hem de rijidite ölçüm sonuçlarının, kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğuna ve tüm gruplar arasında en düşük maksimum kuvvet ve rijidite değerlerine sahip grubun PKM+Px grubu olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait lomber vertebra (L3) biyomekanik kompresyon testi sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

Tablo 4.4 Deney gruplarına göre lomber vertebra (LV3) kemiği biyomekanik analiz sonuçları*

Gruplar	Maksimum kuvvet (N)	Rijidite (N/mm)
Kontrol grubu (n=18)	145,02±8,10	140,11±7,67
PKM grubu (n=18)	103,39±7,00 ^a	111,22±6,91 ^c
PKM+Px grubu (n=18)	74,20±5,85 ^{a,c}	90,77±5,83 ^f
PKM+MT grubu (n=18)	107,87±5,39 ^{b,d}	126,40±7,75 ^g

^a p<0,001 ve ^b p=0,001 kontrol grubuna kıyasla; ^c p=0,015 PKM grubuna kıyasla;

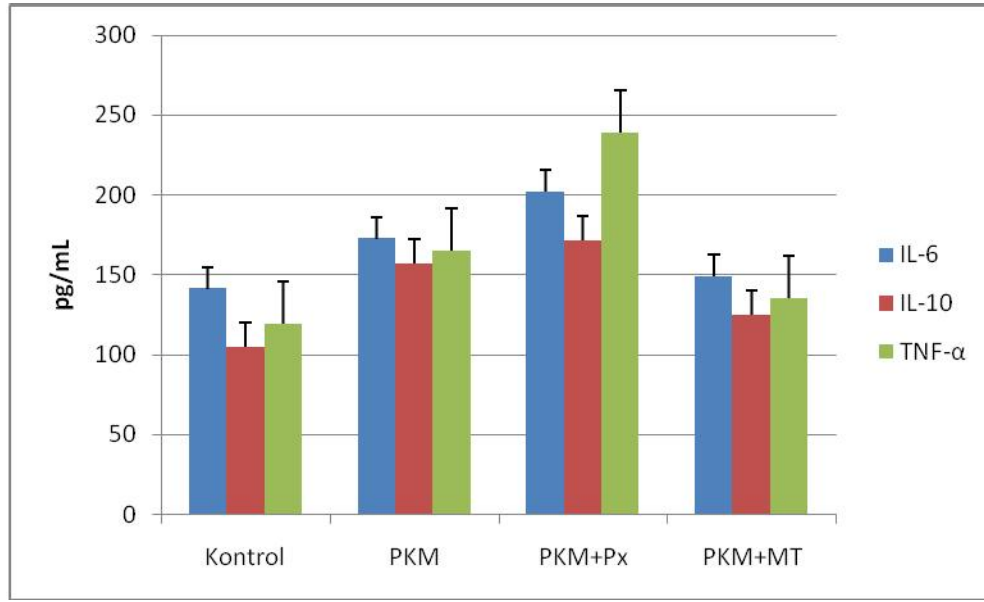
^d p=0,004 PKM+Px grubuna kıyasla; ^e p=0,026 ve ^f p<0,001 kontrol grubuna kıyasla; ^g p=0,004 PKM+Px grubuna kıyasla.

* Her bir gruba ait lomber vertebra (L3) biyomekanik kompresyon testi sonuçları (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir.

Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

4.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları

Tablo 4.5’de görüldüğü gibi, başta PKM+Px grubu olmak üzere PKM’ye uğratılmış deneklerden alınmış olan serum örneklerinde hem proinflamatuvar ve hem de anti-inflamatuar sitokin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Aynı şekilde, PKM’ye uğratılmış deneklere ait sitokin düzeyleri arasındaki farkların da farklı düzeylerde anlamlı olduğu bulunmuştur (Grafik 4.5). Serum IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeyleri için PKM+Px grubu ile kontrol ve PKM+MT grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır (p<0,001). Önemli bir şekilde, kontrol grubu ile PKM+MT grubu arasındaki farkların IL-6 (p=0,784), IL-10 (p=0,194) ve TNF- α (p=0,912) düzeyleri için istatistiksel olarak anlamlı olmadığı dikkati çekmiştir (Tablo 4.5).



Grafik 4.5 Deney gruplarına göre serum IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeyi sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı gruplarda hem proinflamatuvar (IL-6 ve TNF- α) ve hem de anti-inflamatuvar (IL-10) sitokin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğuna ve tüm gruplar arasında en yüksek değerlerine sahip grubun ise PKM+Px grubu olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeyi sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: IL-6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF- α , tümör nekroz faktörü alfa; PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

Öte yandan, PKM'ye uğratılmış deneklerde kemik yapımı ve yıkımı gibi kemik metabolizmasıyla ilgili belirteçler arasında yer alan OCN serum düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu, buna karşın CTX-I düzeylerinin ise daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir (Grafik 4.6). İstatistiksel olarak, başta PKM+Px grubu ile kontrol grubu arasındaki farkın hem OCN ve hem de CTX-I düzeyleri için anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Diğer yandan, OCN düzeyi için kontrol grubu ile PKM+MT grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmasına karşın ($p = 0,018$), CTX-I düzeyi için istatistiksel olarak anlamlı olmadığı dikkati çekmiştir ($p = 0,919$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Deney gruplarına göre ELISA testleri sonuçları*

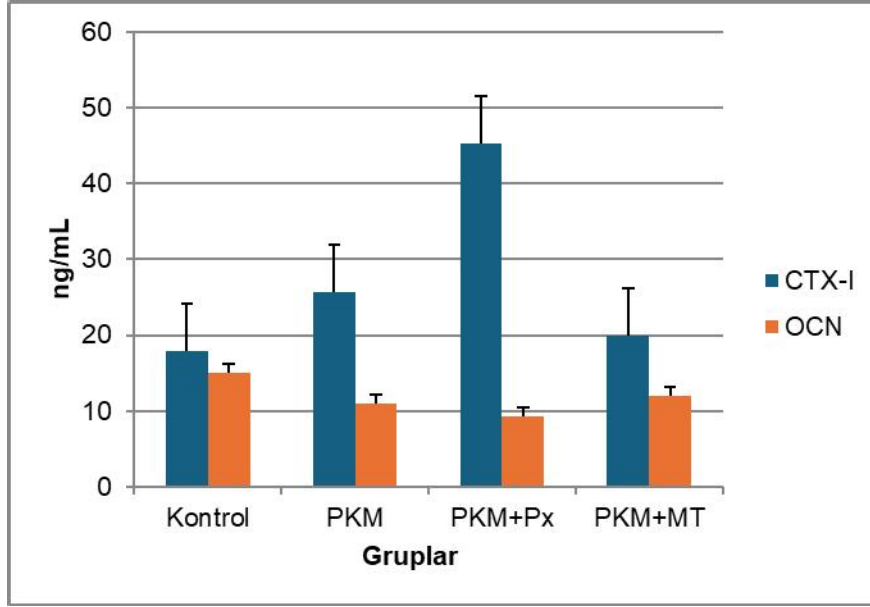
	Kontrol grubu (n=18)	PKM grubu (n=18)	PKM+Px grubu (n=18)	PKM+MT grubu (n=18)
IL-6 (pg/mL)	141,29±3,44	172,67±4,30 ^a	201,83±9,52 ^{b,c}	149,13±4,36 ^{d,e}
IL-10 (pg/mL)	104,75±3,23	157,13±11,08 ^f	171,42±6,58 ^b	124,78±4,70 ^e
TNF-α (pg/mL)	119,23±5,03	164,91±7,70	239,00±32,47 ^{b,f}	135,17±5,35 ^e
OCN (ng/mL) (n=18)	15,01±1,09	11,00±0,49 ^h	9,26±0,41 ^b	11,94±0,70 ⁱ
CTX-I (ng/mL)	17,98±1,33	25,64±1,54	45,27±3,88 ^{b,j}	19,99±0,75 ^e

^a p=0,002 ve ^b p<0,001 kontrol grubuna kıyasla; ^c p=0,005 kontrol grubuna kıyasla;

^d p=0,032 PKM grubuna kıyasla; ^e p<0,001 PKM+Px grubuna kıyasla; ^f p<0,001 kontrol grubuna kıyasla; ^g p=0,016 PKM grubuna kıyasla; ^h p=0,001 kontrol grubuna kıyasla; ⁱ p=0,018 kontrol grubuna kıyasla; ^j p<0,001 PKM grubuna kıyasla.

* Her bir gruba ait ELISA testleri sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir.

Kısaltmalar: ELISA, enzim bağlı immünosorbent analiz; IL-6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF- α , tümör nekroz faktörü alfa; OCN, osteokalsin; CTX-I, C-terminal telopeptid tip I kollajen; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin



Grafik 4.6 Deney gruplarına göre, serum OCN ve CTX-I düzeyi sonuçları. PKM'ye uğratılmış deneklerde kemik yapımı ve yıkımı gibi kemik metabolizmasıyla ilgili belirteçler arasında yer alan OCN düzeylerinin, kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğuna, buna karşın CTX-I düzeylerinin ise daha yüksek olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait OCN ve CTX-I düzeyi sonuçları (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: OCN, osteokalsin; CTX-I, C-terminal telopeptid tip I kollajen; PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin.

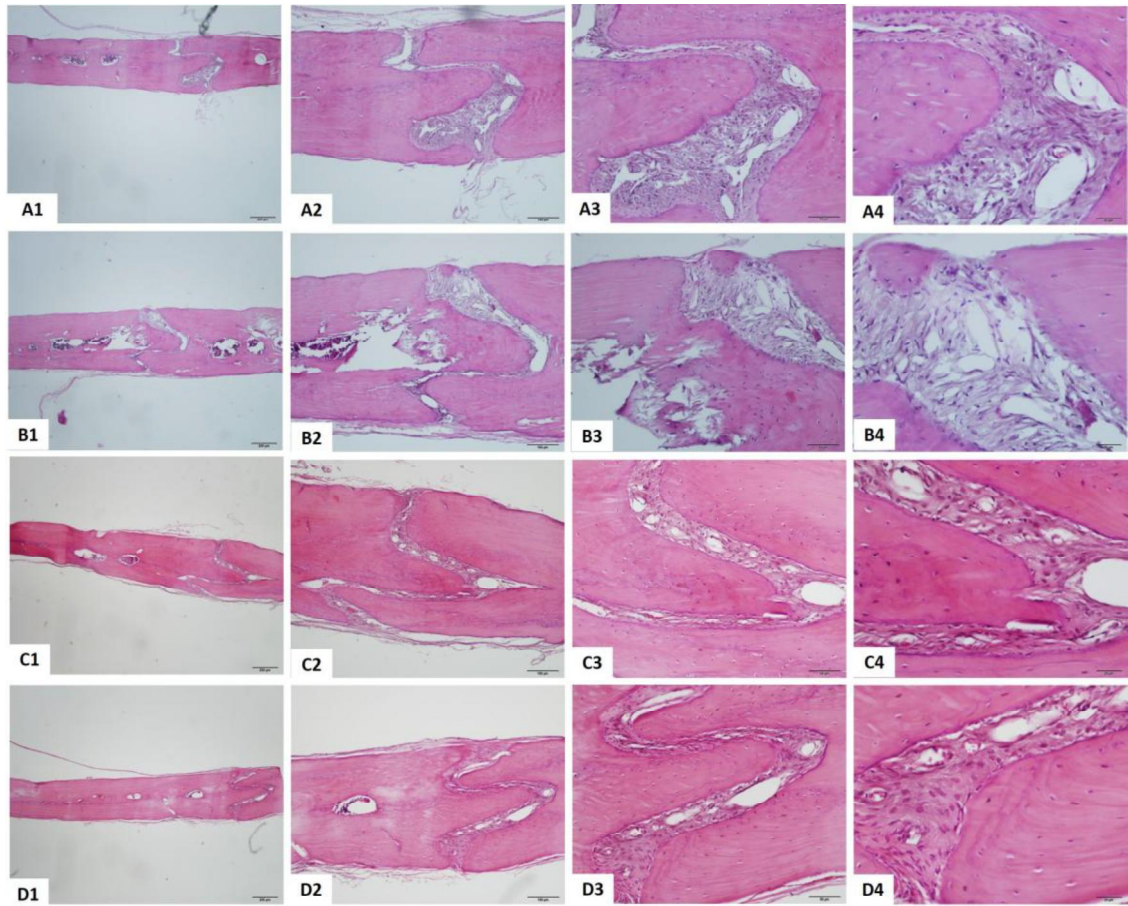
4.5. Mikroskopik Analiz Bulguları

4.5.1 Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları

Işık mikroskobu altında incelenen kranium ve lomber vertebra (L4-L5) kemik doku kesitleri, aşağıda ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi, hem kalitatif ve hem de kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

4.5.1.1. Kranial Kemik Doku Kalitatif Değerlendirmesi

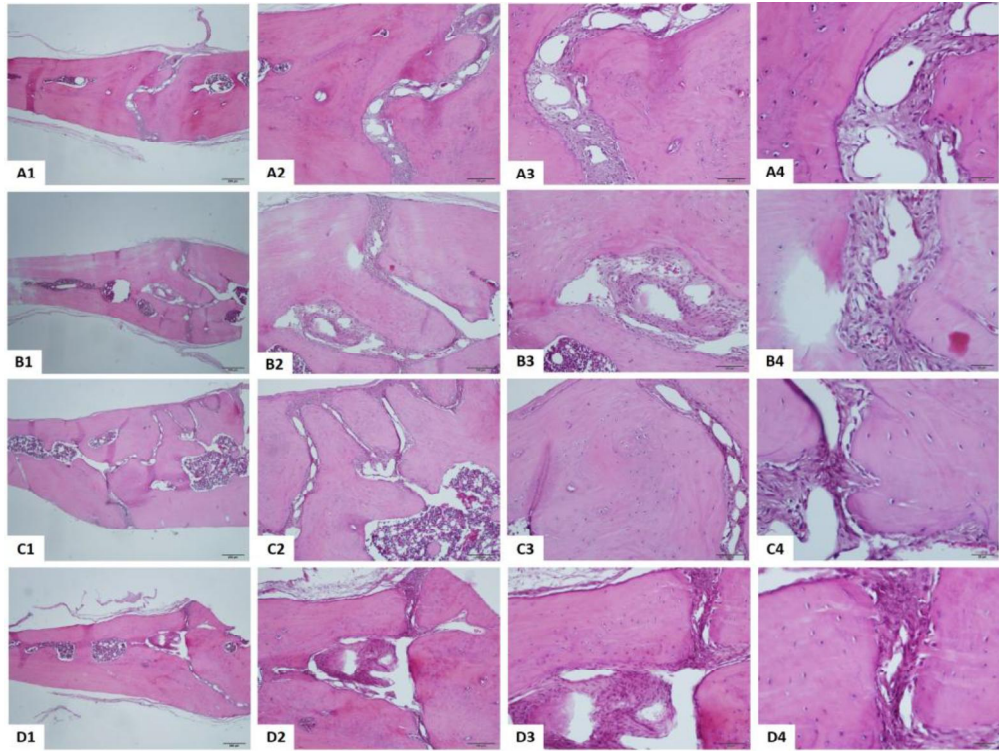
Kontrol grubundaki deneklerin kranial kemik doku kesitlerde tipik kompakt kemik yapısı ve düzenli lameller organizasyon izlenmiştir. Kraniumda dış ve iç tabula arasında yer alan “diploe” mesafesi normal kalınlık ve bütünlükte olduğu görülmüştür. Osteositlerin laküna içerisinde düzenli yerleştiği, nükleuslarının belirgin ve ökromatik olduğu, boş laküna sayısının minimal düzeyde olduğu görülmüştür. Periosteal ve endosteal yüzeylerde osteoblastik aktivite olağan sınırlarda olduğu saptanmıştır (Resim 4.3. A1-A4 ve Resim 4.4. A1-A4).



Resim 4.3. (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Hematoksilen-Eosin boyama

PKM grubundaki deneklerin kranium kemik doku görünümeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında, özellikle kranium diploe tabakasında belirgin incelme ve kemik matriksinde organizasyon bozukluğu olduğu dikkat çekmiştir. Kortikal kemik alanlarında osteosit içermeyen boş laküna sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Kemik trabeküllerinin daha ince ve kırılğan bir görünüm sergilediği saptanmıştır. Bu bulgu, neonatal dönemdeki PKM'nin osteosit apoptozisini tetiklediğini ve kemik canlılığını azalttığını düşündürmektedir (Resim 4.3. B1-B4 ve Resim 4.4. B1-B4).

PKM+Px grubunda histopatolojik hasarın en şiddetli olduğu görülmüştür. Sürekli aydınlık ortamın yarattığı fonksiyonel Px'e bağlı endojen MT baskılanması, PKM'nin yarattığı oksidatif hasarı şiddetlendirdiğini düşündürmüştür. Diploe kalınlığının PKM grubuna göre daha da azalmış olduğu, osteoporotik değişikliklerin belirginleştiği ve boş laküna oranının tüm gruplar içindeki en yüksek seviyeye ulaştığı dikkati çekmektedir. Kemik matriksinde yer yer mikro çatlaklar ve yoğun düzensizlikler izlenmiştir (Resim 4.3. C1-C4 ve Resim 4.4. C1-C4).



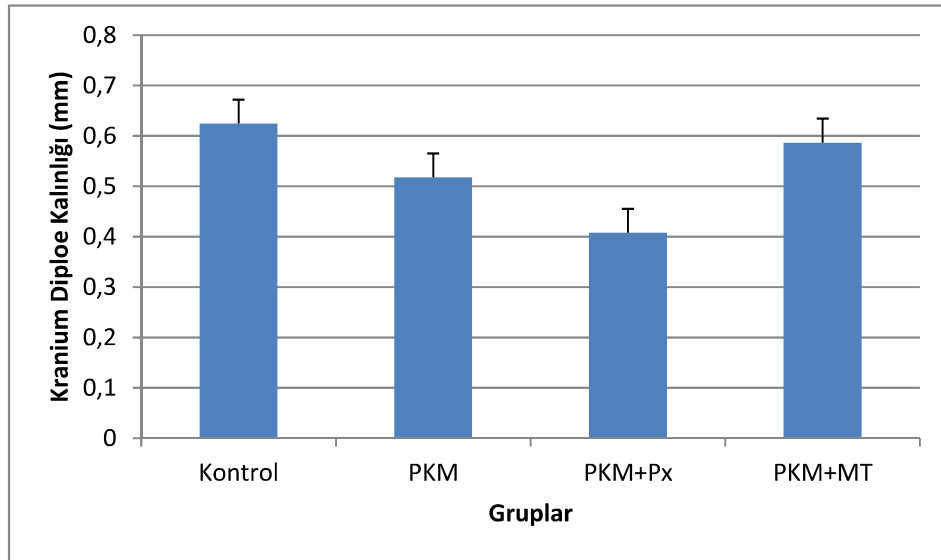
Resim 4.4 (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu.

Erkek deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünümeleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Hematoksilen-Eosin boyama

Eksojen MT tedavisi uygulanan PKM grubunda, PKM'nin yarattığı negatif etkilerin belirgin şekilde yok olduğu tespit edilmiştir. PKM grubu ile karşılaştırıldığında, diploe kalınlığının korunduğu ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı tespit edilmiştir. Lakünaların büyük oranda canlı osteositler ile dolu olduğu, boş laküna sayısının PKM ve PKM+Px gruplarına göre anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. MT'nin osteoblastik diferansiyasyonu artırıcı etkisine paralel olarak, spongiöz kranial kemik yapının daha kalın ve organize olduğu, kemik mineralizasyonunun histolojik olarak daha yoğun olduğu görülmüştür (Resim 4.3. D1-D4 ve Resim 4.4. D1-D4).

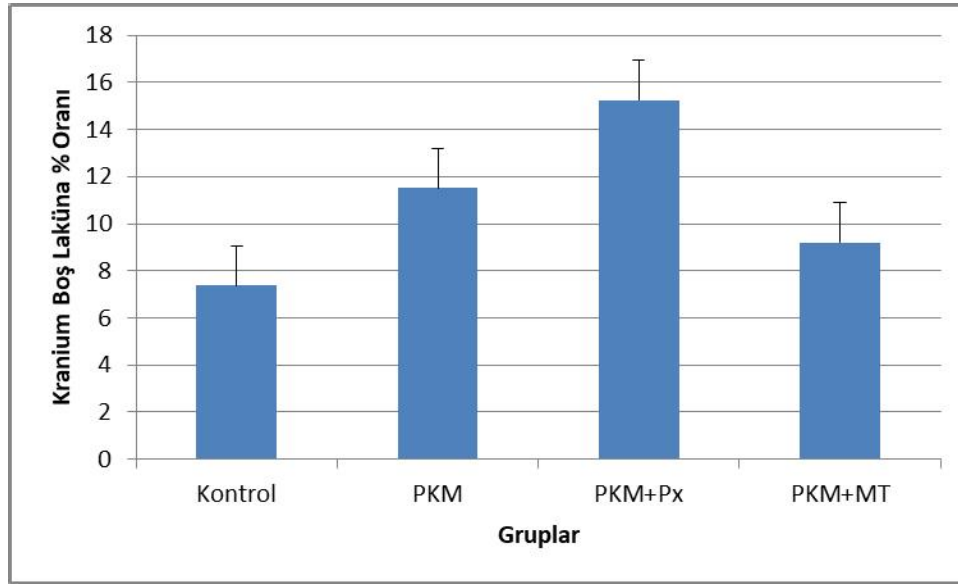
4.5.1.2. Kranial Kemik Doku Histomorfometrik Analizi

Histolojik analiz sonucunda, çalışmadaki kontrol, PKM, PKM+Px ve PKM+MT gruplarında yer alan deneklerin kraniumları üzerinde lambda noktasına komşu kortikal kemik alanına ait H-E boyamalı kesitlerinde kranium diploe kalınlığı ölçümleri, sırasıyla, $0,62 \pm 0,15$, $0,52 \pm 0,15$, $0,41 \pm 0,07$ ve $0,59 \pm 0,16$ şeklinde bulunmuş olup, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0,006$) (Grafik 4.7 ve Grafik 4.8) (Tablo 4.6).



Grafik 4.7 Deney gruplarına göre mikroskopik kranium diploe kalınlığı ölçüm sonuçları.

Başta PKM+Px grubu olmak üzere, PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı tüm gruplarda, kontrol grubuna kıyasla, kranium diploe kalınlığında azalma olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait kranium diploe kalınlığı değerleri (ortalama $\pm$ standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin



Grafik 4.8 Deney gruplarına göre mikroskopik kranium boş laküna % oranı değerleri. Başta PKM+Px grubu olmak üzere, PKM'ye uğratılmış deneklerin yer aldığı tüm gruplarda, kontrol grubuna kıyasla, kranium boş laküna % oranı değerlerinde artış olduğuna dikkat ediniz. Her bir gruba ait kranium boş laküna % oranı değerleri (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

Histolojik olarak, PKM'ye uğratılmış deneklerin kranial kortikal kemik dokusunda, kontrol grubuna kıyasla daha fazla sayıda boş lakünanın mevcut olduğu gözlenmiştir. Çalışmadaki kontrol, PKM, PKM+Px ve PKM+MT gruplarında kranium boş laküna % oranları, sırasıyla, % 7,36±1,07, % 11,51±1,86, % 15,24±1,96 ve % 9,19±1,63 şeklinde bulunmuş olup, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,001$) (Grafik 4.7 ve Grafik 4.8) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 Deney gruplarına göre mikroskobik kranium diploe kalınlığı, kranium total laküna sayısı, kranium boş laküna sayısı ve kranium boş laküna % oranı değerleri*

	Kontrol grubu (n=10)	PKM grubu (n=10)	PKM+Px grubu (n=10)	PKM+MT grubu (n=10)
Kranium diploe kalınlığı (mm)	0,62±0,05	0,52±0,05	0,41±0,02 ^a	0,59±0,05 ^b
Kranium total laküna sayısı	35,40±1,80	33,90±2,05	39,70±2,68	40,90±2,31
Kranium boş laküna sayısı	2,60±0,16	3,90±0,28 ^c	6,00±0,39 ^{d,f}	3,70±0,21 ^{e,g}
Boş laküna (%) oranı	7,36±0,34	11,51±0,59 ^d	15,24±0,62 ^{d,f}	9,19±0,52 ^{g,h}

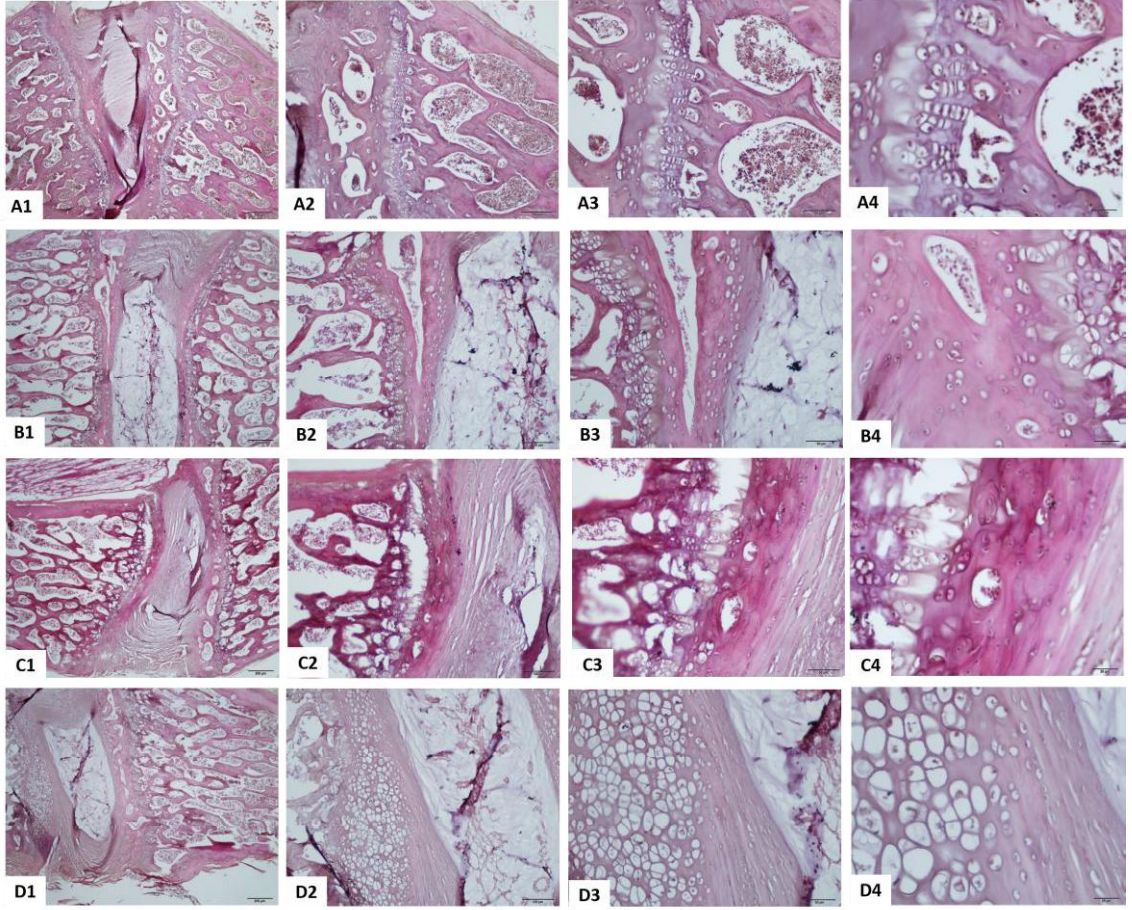
^a p=0,006 kontrol grubuna kıyasla; ^b p=0,028 PKM+Px grubuna kıyasla; ^c p=0,010 kontrol grubuna kıyasla; ^d p<0,001 kontrol grubuna kıyasla; ^e p=0,037 kontrol grubuna kıyasla; ^f p<0,001 PKM grubuna kıyasla; ^g p<0,001 PKM+Px grubuna kıyasla; ^h p=0,018 PKM grubuna kıyasla.

* Her bir gruba ait kranium diploe kalınlığı, kranium total laküna sayısı, kranium boş laküna sayısı ve kranium % oranı değerleri (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir.

Kısaltmalar: PKM, protein kalori malnütrisiyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

4.5.1.3. Lomber Vertebra Kemik Doku Kalitatif Değerlendirmesi

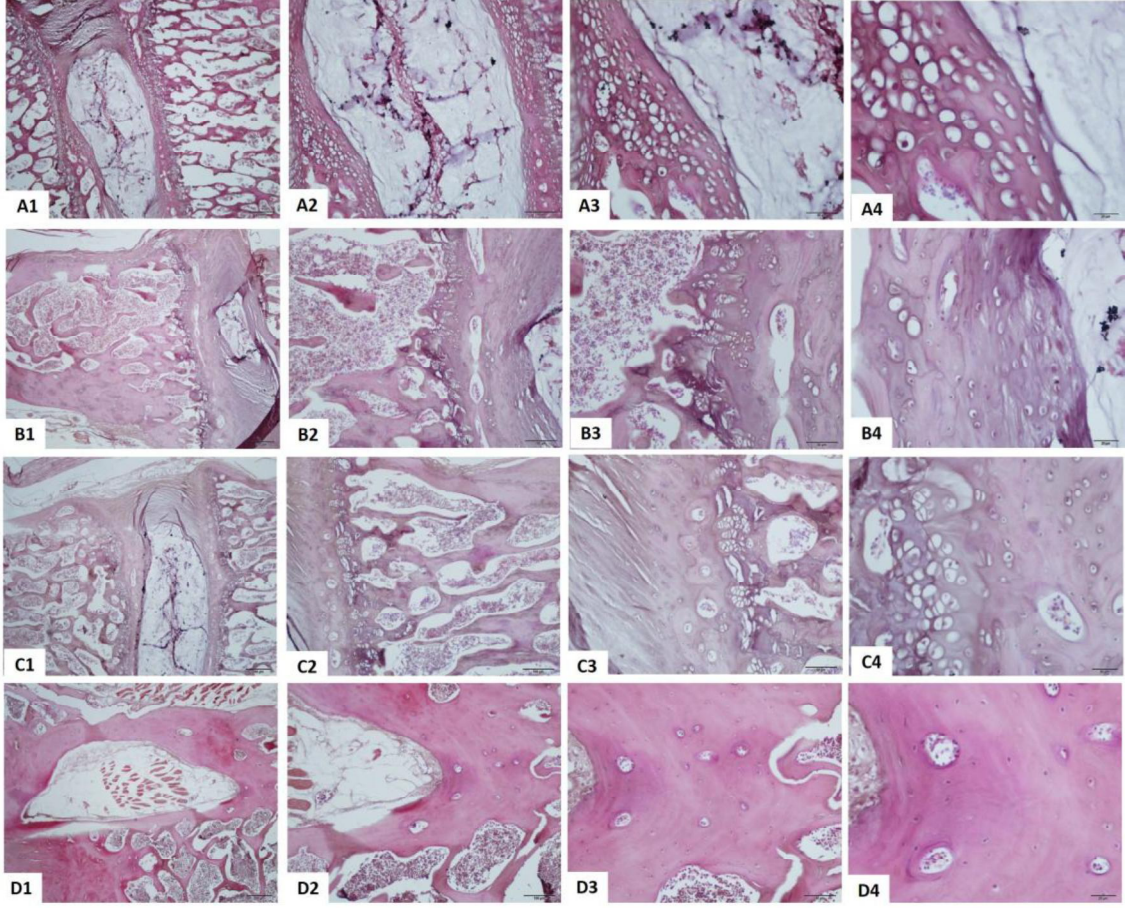
Kontrol grubunda, lomber vertebra (L4-L5) korpuslarda kemik dokusu trabeküler ağ yapısının birbirleriyle bağlantılı, kalın ve düzenli olduğu izlenmiştir. Trabeküller arası boşluklarda yer alan kemik iliği elemanları normal sellülaritede olduğu görülmüştür (Resim 4.5. A1-A4 ve Resim 4.6.A1-A4).



Resim 4.5. (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin lomber vertebra dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Hematoksilen-Eosin boyama

PKM grubunda, lomber vertebralarda osteoporotik değişiklikleri andıran trabeküler incelme ve trabeküller arası bağlantılarda kopmalar gözlenmiştir. Trabeküler kemik hacminin azaldığı, buna karşılık kemik iliği alanında yağ dokusu artışının eşlik ettiği dejeneratif süreçler saptanmıştır (Resim 4.5. B1-B4 ve Resim 4.6. B1-B4).

PKM+Px grubunda, antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına bağlı olarak trabeküler yıkımın en fazla olduğu grup olduğu saptanmıştır. Trabeküller arası boşlukların aşırı genişlediği, osteoklastik aktiviteye işaret eden rezorpsiyon alanlarının arttığı gözlenmiştir (Resim 4.5. C1-C4 ve Resim 4.6. C1-C4).



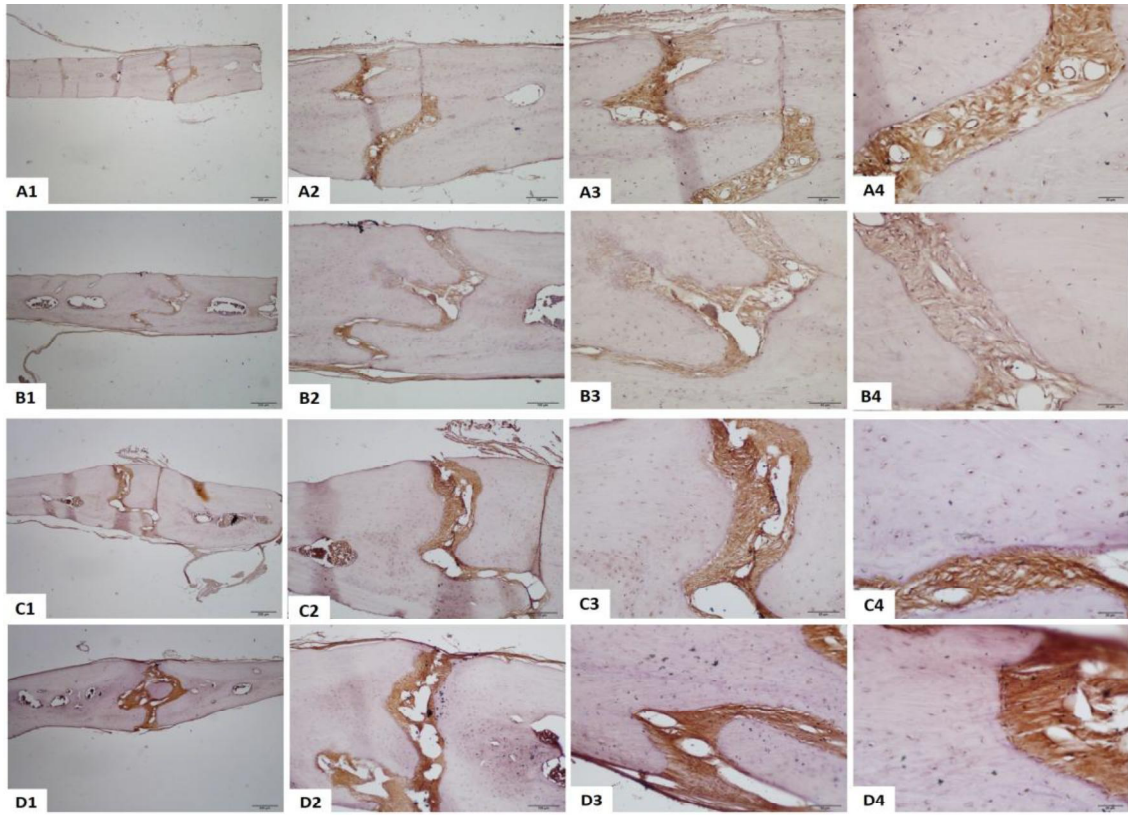
Resim 4.6. (1)Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. 4) PKM+MT) grubu. Erkek deneklerin lomber vertebra dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Hematoksilen-Eosin boyama

PKM+MT grubunda ise, MT tedavisi ile vertebral trabeküler yapının korunduğu gözlenmiştir. Trabekül kalınlıklarının PKM grubuna kıyasla arttığı, trabeküler ağ bütünlüğünün sağlandığı ve kemik iliğindeki adiposit/osteoblast dengesinin osteoblast lehine korunduğu tespit edilmiştir. MT'nin kemik iliği MKH'lerinin osteoblastik seriye farklılaşmasını teşvik edici etkisi histolojik kesitlerde organize kemik yapısı olarak kendini göstermiştir (Resim 4.5. D1-D4 ve Resim 4.6. D1-D4).

4.5.2 İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

4.5.2.1. Kranial Kemik Doku Anti-Osteonektin Boyama Bulguları

İmmünohistokimyasal olarak, kranium kesitlerinde gerçekleştirilen anti-ON boyamasının kalitatif olarak değerlendirilmesinde, osteoblastların sitoplazmalarında ve kemik ekstraselüler matriksinde pozitif immünreaktivite izlenmiştir. Boyanma yoğunluğunda gruplar arasında belirgin bir farklılık görülmüştür.

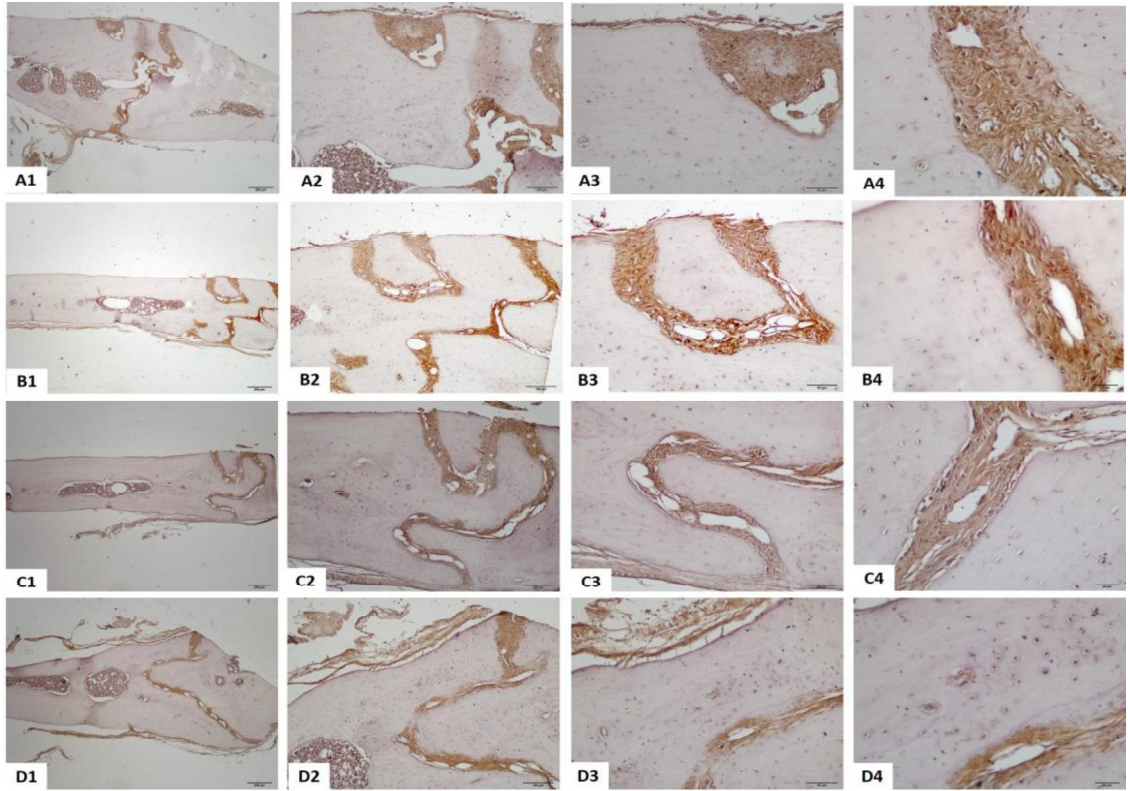


Resim 4.7. (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Anti-ON boyama

Kontrol grubunda, osteoblastik aktivitenin ve kemik döngüsünün olağan seyrinde olduğu görülmekte olup, hem periosteal hem de endosteal yüzeylerde yerleşmiş

osteoblastlarda güçlü (3+) ON immünreaktivitesi saptanmıştır. Kemik matriksinde, başta yeni kemik yapımının olduğu osteoid alanlarda olmak üzere, diffüz ve homojen bir boyanma patern izlenmiştir (Resim 4.7. A1-A4 ve Resim 4.8. A1-A4).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, PKM grubundaki sıçanların kranium kesitlerinde ON ekspresyonunda belirgin bir azalma gözlenmiştir. Osteoblast sayısındaki azalmaya paralel olarak, immünreaktivite şiddeti zayıf (1+) olarak değerlendirilmiştir. Özellikle kranial diploe aralığındaki incelmış trabeküllerde boyanmanın soluk olduğu ve yer yer kesintiye uğradığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, PKM'nin osteoblastların matriks proteini sentezleme kapasitesini baskıladığını göstermektedir (Resim 4.7. B1-B4 ve Resim 4.8. B1-B4).



Resim 4.8. (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Erkek deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünümeleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 µm); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 µm). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 µm). Anti-ON boyama

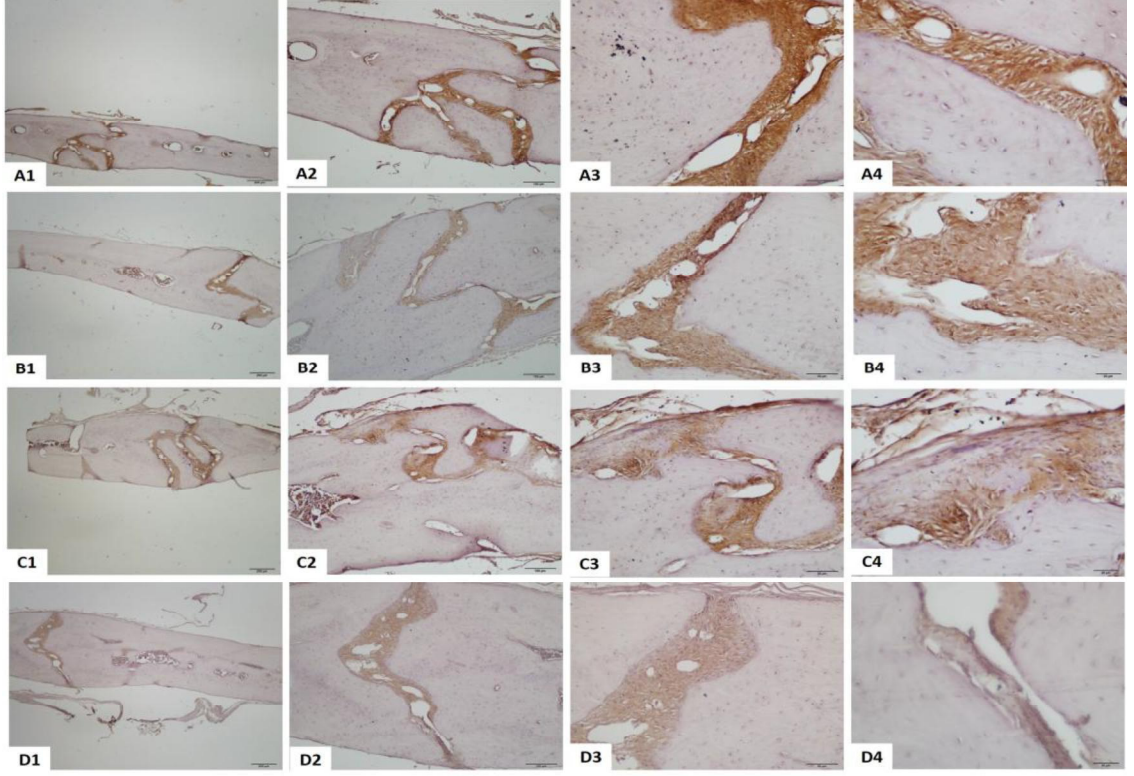
PKM+Px grubunda, fonksiyonel Px ile endojen MT baskılanmasının, PKM'nin yarattığı negatif tabloyu derinleştirdiği görülmüştür. Tüm gruplar içerisinde en düşük ON seviyeleri bu grupta kaydedilmiştir. İmmünreaktivite skoru çoğunlukla negatif (0) veya çok zayıf (1+) düzeyde olduğu saptanmıştır. Aktif kemik yapımını işaret eden boyalı osteoblastlara nadiren rastlanmış olup, bu da kemik mineralizasyon sürecinin ciddi şekilde sekteye uğradığını düşündürmektedir (Resim 4.7. C1-C4 ve Resim 4.8. C1-C4).

PKM+MT grubunda ise, PKM uygulanmasına rağmen eksojen MT tedavisi alan bu grupta, ON ekspresyonunun PKM ve PKM+Px gruplarına kıyasla anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. İmmünreaktivite şiddeti orta-güçlü (2-3+) seviyelerine yükselerek, kontrol grubuna yakın bir profil sergilemiştir. Osteoblastların yeniden aktifleştiği ve kemik matriksine yoğun şekilde ON salgıladığı, böylece kemik onarım mekanizmasının tetiklendiği immünohistokimyasal olarak görülmüştür (Resim 4.7. D1-D4 ve Resim 4.8. D1-D4).

4.5.2.2. Kranial Kemik Doku Anti-Sialoprotein Boyama Bulguları

İmmünohistokimyasal olarak, kranium kesitlerinde gerçekleştirilen anti-BSP boyamasının kalitatif olarak değerlendirilmesinde, mineralize kemik matriksinde, osteoblastlarda ve bazı osteositlerde pozitif immünreaktivite izlenmiştir. Hem boyanma paterni ve hem de boyanma yoğunluğu gruplar arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir. BSP, kemik mineralizasyonunun başlatılmasında nükleasyon ajanı olarak görev yapmaktadır. PKM+MT grubunda artış gösteren BSP ekspresyonu, tedavinin sadece kemik hacmini korumakla kalmayıp, aynı zamanda kemik kalitesini ve mineralizasyon derecesini de iyileştirdiğini düşündürmektedir.

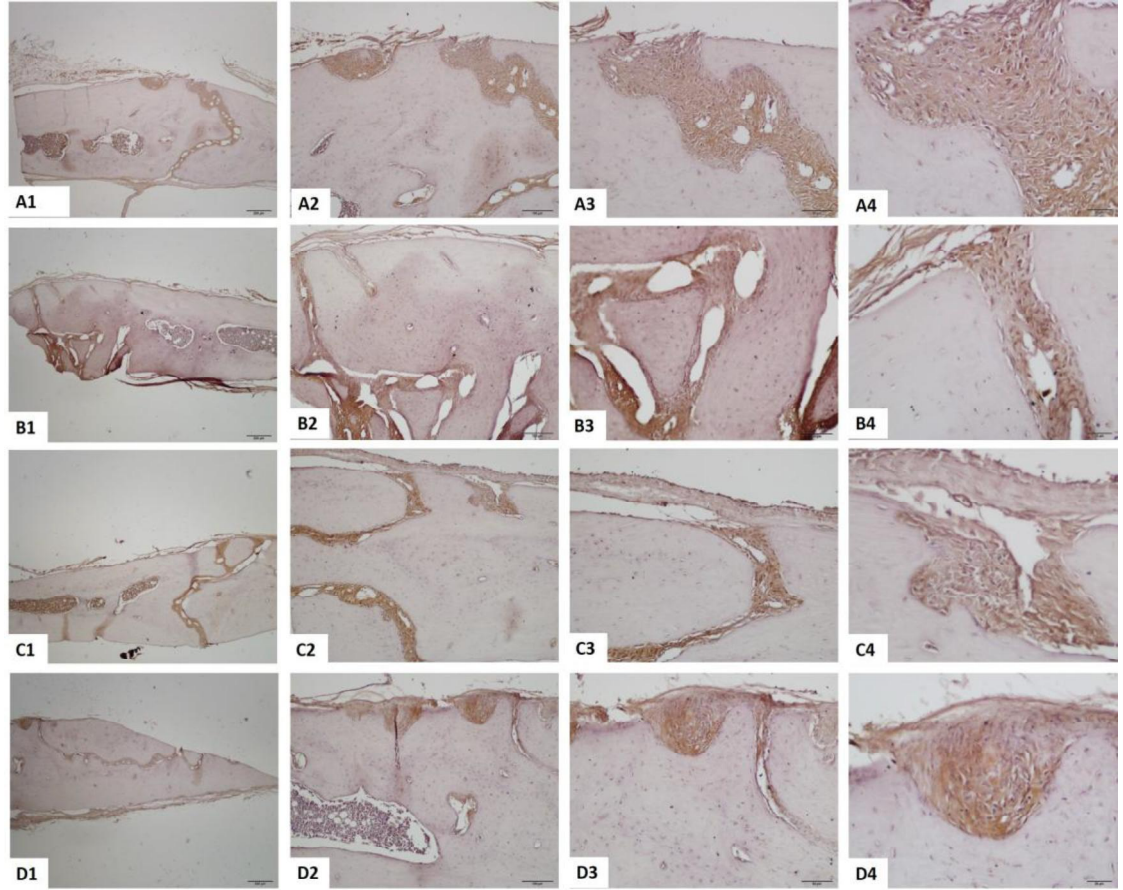
Kontrol grubunda, kemik yapımının aktif olduğu yüzeylerde dizilen osteoblastların sitoplazmasında ve çevreleyen ekstraselüler matrikste güçlü (3+) immünreaktivite gözlenmiştir. Özellikle yeni mineralize olan kemik alanlarında boyanmanın yoğun ve homojen olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, kontrol grubunda hidroksiapatit oluşumunun ve mineralizasyon sürecinin sağlıklı işlediğini göstermektedir (Resim 4.9. A1-A4 ve Resim 4.10. A1-A4).



Resim 4.9. (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Dişi deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünüşleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Anti-BSP boyama

PKM uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla BSP ekspresyonunda belirgin bir azalma tespit edilmiştir. İmmünreaktivite şiddeti genel olarak zayıf (1+) düzeyde olduğu saptanmıştır. Kemik matriksindeki boyanmanın heterojen ve parçalı olduğu, osteoblastlardaki sinyalin ise silikleştiği gözlenmiştir. Bu durum, PKM'nin osteoblastların mineralizasyonu başlatma kapasitesini baskıladığını ve kemik matriks matürasyonunu geciktirdiğini düşündürmektedir (Resim 4.9. B1-B4 ve Resim 4.10. B1-B4).

PKM+Px grubunda, fonksiyonel Px sağlayan sürekli aydınlık ortam ve PKM'nin kombine etkisi altında, BSP immünreaktivitesinin en düşük seviyeye indiği (0-1+) görülmüştür. Matriks genelinde boyanma oldukça sönük izlenirken, osteoblastik aktivitenin yetersizliğine işaret eden geniş negatif alanlar dikkat çekmiştir. Mineralizasyon defektinin en şiddetli olduğu grup olarak değerlendirilmiştir (Resim 4.9. C1-C4 ve Resim 4.10. C1-C4).



Resim 4.10. (1) Kontrol grubu. (2) PKM grubu. (3) PKM+Px grubu. (4) PKM+MT grubu. Erkek deneklerin kranial kemik dokularının histopatolojik görünimleri. A1-B1-C1-D1 4x büyütme (Büyütme barı: 20 μ m); A2-B2-C2-D2 x20 büyütme (Büyütme barı: 40 μ m). A3-A4-B3-B4-C3-C4-D3-D4 40x büyütme (Büyütme barı: 50 μ m). Anti-BSP boyama

PKM+MT grubunda ise, MT tedavisi ile birlikte, kemik dokusundaki BSP ekspresyonunun upregülasyon gözlenmiştir. İmmünreaktivite yoğunluğu orta-güçlü (2-3+) seviyelerine ulaşarak, PKM ve PKM+Px gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış sergilemiştir. Özellikle trabeküler yüzeylerdeki osteoblastlarda belirginleşen boyanma, MT'nin kemik mineralizasyonunu teşvik edici ve matriks protein sentezini artırıcı "anabolik" etkisini histolojik düzeyde doğrulanmıştır (Resim 4.9. D1-D4 ve Resim 4.10. D1-D4).

4.5.2.3. Kranial Kemik Doku Osteonektin ve Kemik Sialoprotein İmmünoreaktif Skorları

Tablo 4.7 Deney gruplarına göre kranial kemik dokusuna ait ON ve BSP immünoreaktif değerleri***

	Kontrol grubu (n=10)	PKM grubu (n=10)	PKM+Px grubu (n=10)	PKM+MT grubu (n=10)
ON	2,67±0,07	1,03±0,12	0,30±0,08	2,37±0,09
BSP	2,87±0,05	1,00±0,12	0,27±0,10	2,57±0,05

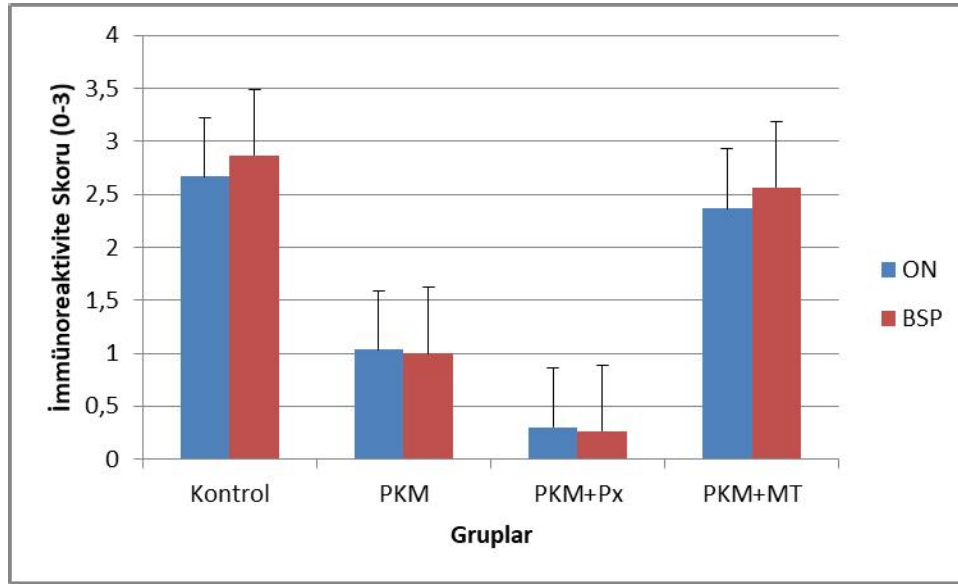
* Her bir gruba ait kranial kemik dokusu ON ve BSP immünoreaktif skoru (0-3) değerleri (ortalama ± standart hata) şeklinde verilmiştir.

**Hem ON ve hem BSP immünoreaktif skor değeri ortamları için kontrol grubu ile PKM+MT grubu arasında ikili karşılaştırma dışında kalan tüm gruplar arası karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Kısaltmalar: ON, osteonektin; BSP, kemik sialoprotein; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

İmmünohistokimyasal değerlendirmede, PKM'ye uğratılmış gruplarda ON ve BSP immünoreaktif skor ortalama değerlerinin kontrol grubu ile PKM+MT grubu arasındaki ikili karşılaştırma dışında kalan tüm gruplar arası karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.7). Önemli bir şekilde, ON ve BSP için kontrol grubu ile PKM+MT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla, $p=0,109$ ve $p=0,084$).

Bu iki boyama sonucu bir arada değerlendirildiğinde, MT'nin kranial kemik doku üzerindeki koruyucu etkisinin, osteoblastların hem organik matriks sentezini sağlayan ON'yi, hem de inorganik mineralizasyon sürecinden sorumlu BSP'yi eş zamanlı olarak stimüle etmesinden kaynaklandığı söylenebilir. Özellikle dişi deneklerdeki MT eksikliğinin yarattığı derin yıkım, uygulanacak tedavinin erkek deneklere kıyasla dişi denekler için daha kritik bir öneme sahip olabileceğini akla getirmektedir (Grafik 4.9).



Grafik 4.9. Gruplara göre kranial kemik doku ON ve BSP ekspresyonları kıyaslandığında, immünoreaktivite değerinin başta PKM+Px grubunda olmak üzere, PKM gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmış olduğu, buna karşın PKM+MT grubunda artış gösterdiği ve kontrol grubuna yakın bir değere ulaştığı dikkati çekmektedir. Her bir gruba ait kranial ON ve BSP immünoreaktivite skoru (0-3) değerleri (ortalama±standart hata) şeklinde verilmiştir. Kısaltmalar: ON, osteonektin; BSP, kemik sialoprotein; PKM, protein kalori malnütrisyonu; Px, pinealektomi; MT, melatonin

5. TARTIŞMA

Bu deneysel çalışmadan elde edilen bulgular, laktasyon döneminde PKM'ye maruz bırakılmış neonatal Wistar Albino sıçanlarında fonksiyonel Px işlemi uygulanması ya da eksojen MT verilmesinden sonra kraniospinal (kranium ve vertebra) kemik dokuların gelişimi ve morfolojik özellikleriyle ilişkili bazı makroskobik, radyolojik, biyomekanik, biyokimyasal ve histolojik değişikliklerin ortaya çıktığını göstermektedir. Yine, malnütrisyon ile ilişkili sözkonusu değişikliklerin, özellikle fonksiyonel Px uygulanmasıyla daha belirgin bir hale gelmesine karşın, eksojen MT verilmesi sonrasında kısmi bir hafifleme gösterdiği dikkati çekmektedir. Tüm bu veriler bir arada değerlendirildiğinde, daha önce bazı araştırmacılar tarafından da ileri sürüldüğü gibi, bu tür değişikliklerin büyük olasılıkla epifiz bezi tarafından salgılanan MT ile ilişkili olabileceğine dair bir kanıt sağlamaktadır (Ostrowska ve diğerleri, 2002a; Ostrowska ve diğerleri, 2002b; Cardinalli ve diğerleri, 2003; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Markova ve diğerleri, 2003; Fjellidal ve diğerleri, 2004; Turgut ve diğerleri, 2005; Vriend ve Reiter, 2016; Murodumi ve diğerleri, 2020; Basaloglu ve diğerleri, 2022).

5.1. Malnütrisyonunda Kraniospinal Kemik Doku Gelişimi ve Morfolojik Değişiklikler

Vücudumuzdaki tüm dokuların gelişimi ve büyümesi için gerekli olan makrobesin ve/veya mikrobiyotik öğelerinin eksik ya da dengesiz alınmasına bağlı protein ve kalori yetersizliği ile karakterize PKM, başta az gelişmiş ülkeler olmak üzere, tüm dünyada hala en yaygın sağlık sorunlarından biridir (Chandra, 1992). Şimdiye kadar gerçekleştirilmiş olan çok sayıda çalışma, PKM'nin sistemik enflamasyon tablosu ile karakterize oksidatif bir etkiye sahip olduğunu ve farklı dokularda serbest radikal miktarında belirgin artışa yol açtığını ortaya koymuştur (Chandra, 1992; Touyz, 2000; Briones ve Touyz, 2010; Guzik ve Touyz, 2017). PKM, hücrel lipit peroksidasyonda artışa ve antioksidan savunma sisteminde zayıflamaya yol açarak, canlının inflamatuvar yanıtlarını doğrudan etkilemektedir (Chandra, 1992; Touyz, 2000; Briones ve Touyz, 2010; Guzik ve Touyz, 2017). Doğal olarak, PKM'ye maruz bırakılmış bireylerin başta kemik dokularında olmak üzere, tüm dokuların morfolojik özelliklerinde, içeriklerinde ve fonksiyonlarında bazı olumsuz değişiklikler ortaya çıkması

kaçınılmazdır. Bu deneysel çalışmada, tüm PKM gruplarında sistemik inflamasyon mevcudiyeti yanında, kraniospinal kemik doku gelişimi süreçlerinde gerileme ve kemik rezorpsiyonunda artışla karakterize kemik döngüsünde dengesizlik sonucunda kemik dokusunun makroskopik, radyolojik, biyokimyasal, biyomekanik ve histolojik özelliklerinde ortaya çıkan değişiklikler mevcut literatür verilerini doğrulamaktadır.

5.2. Malnütrisyon Sonrası Ortaya Çıkan Telafi Edici (Yakalayıcı) Kraniospinal Kemik Doku Değişiklikleri

İlk defa 1963’de Prader ve diğerleri (1963), malnütrisyonu maruz kalmış yenidoğanda, daha sonra uygun koşulların sağlanması durumunda büyüme eğrisinde ortaya çıkan ve malnütrisyon öncesi eğriye geri dönüşü sağlayan hızlı doğrusal büyüme aşamasını tanımlamak için "telafi edici (yakalayıcı) büyüme" terimini kullanmıştır (Prader ve diğerleri, 1963). Kısaca, telafi edici (yakalama) büyüme, büyüme geriliği dönemini takip eden belirli bir zaman dilimi içinde, normal büyümenin yaşa göre istatistiksel sınırların üzerindeki bir hızla gerçekleşmesi halidir (Prader ve diğerleri, 1963; Hughes, 1982; Alippi ve diğerleri, 1999). Böylece, malnütrisyon sonucunda gelişme geriliği ortaya çıkan hayvanların, mevcut beslenme kısıtlamaları bir şekilde ortadan kaldırıldıktan sonra, kronolojik yaşlarına göre beklenen normal büyüme hızından daha yüksek bir hıza ulaşabilmeleri sözkonusudur. Nitekim, Alippi ve diğerleri (1999), sıçanlarda laktasyon dönemi sonrasında mandibula kemiği gelişimiyle ilişkili yüksek bir telafi potansiyelinin sözkonusu olduğunu ve yaklaşık bir ay sonunda tam bir toparlanma sağlanabildiğini rapor etmiştir (Alippi ve diğerleri, 1999). Wilson ve Osbourn (1960), malnütrisyon uygulanan dönemde en hızlı büyüyen anatomik yapıların malnütrisyonundan en çok etkilenen bölgeler olacağını ileri sürmüştür (Wilson ve Osbourn, 1960). Daha sonra yapılan çalışmalar, sözü edilen anatomik yapılarda, tam bir telafi edici büyüme sağlama şansının oldukça düşük olduğunu ortaya koymuştur (Dickerson ve Hughes, 1972; Hughes, 1982). Yine, sıçanlarda kraniospinal kemik dokudaki büyüme hızının, laktasyon döneminde maksimum düzeye ulaştığı bildirilmiştir (Hughes, 1982). Bu nedenle, laktasyon döneminde malnütrisyonu maruz bırakılan sıçanların daha sonra tam telafi sağlamaları oldukça güç görünmektedir.

Şimdiye kadar telafi edici büyümenin nedenini ortaya koymaya yönelik gösterilen tüm çabalara rağmen, kesin hücre içi ve hücre dışı etki mekanizmaları hala ortaya konulamamış

olup, bu alanda yeni araştırmalar yapılmasına gereksinim mevcuttur. Yapılan literatür taramasında, sıçan neonatal malnütrisyon modelinde telafi edici kraniospinal kemik döngüsü üzerine fonksiyonel Px ve eksojen MT uygulamasının uzun süreli etkilerine dair hiç bir veri bulunmadığından, bu deneysel çalışmada laktasyon dönemindeki PKM'ye uğratılmış yavru sıçanlarda, fonksiyonel Px ve eksojen MT uygulamalarının kranium ve vertebra dinamikleri üzerine olan olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular, malnütrisyon ile ilişkili sözkonusu değışikliklerin, özellikle fonksiyonel Px uygulanmasıyla daha belirgin bir hale gelmesine karşın, eksojen MT verilmesi sonrasında kısmi bir hafifleme gösterdiği dikkati çekmektedir. Böylece, düşük toksisiteye ve düşük dozlarda yüksek etkinliğe sahip güçlü antioksidan olduğu bilinen MT'nin, laktasyon dönemindeki neonatal malnütrisyonun sebep olduğu kemik döngüsü dengesizliğine karşı koruyucu ve telafi edici büyümede sinerjik etki sağlama potansiyeline sahip bir terapötik hedef olduğunu desteklemektedir (Rodriguez ve diğerleri, 2004; Reiter ve diğerleri, 2010; Marseglia ve diğerleri, 2016).

5.3. Malnütrisyonunda Kraniospinal Kemik Doku Değişiklikleri Üzerine Fonksiyonel Pinealektomi ve Melatonin Etkisi

Tüm memeli canlılarda kemik dokusunun yeniden şekillenmesi, eski kemiğin rezorpsiyonunu sağlayan rezorptif hücreler (osteoklastlar) ile yeni kemiğin oluşumunu sağlayan formatif hücreler (osteoblastlar) tarafından sağlanmakta olup, sürekli olarak devam eden kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonu süreçleri arasında kritik bir denge mevcuttur (Ostrowska ve diğerleri, 2002a; Ostrowska ve diğerleri, 2002b; Cardinalli ve diğerleri, 2003; Fjellidal ve diğerleri, 2004; Turgut ve diğerleri, 2005; Vriend ve Reiter, 2016; Murodumi ve diğerleri, 2020; Basaloglu ve diğerleri, 2022; Liu ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). 2002 yılında, Suzuki ve Hattori (2002) tarafından balıklarda gerçekleştirmiş deneysel bir çalışmada, epifiz bezindeki pinealosit hücrelerinden endojen bir ritimle sentezlenen MT'nin ilginç bir şekilde hem osteoblastik hem de osteoklastik aktiviteyi baskıladığı ileri sürülmüş ise de (Suzuki ve Hattori, 2002), daha sonra yapılmış olan çok sayıda deneysel çalışmada ise, MT'nin PDGF/AKT sinyal yolu aracılığıyla osteoblastik farklılaşmayı artırıcı etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Nakade ve diğerleri, 1999; Cardinalli ve diğerleri, 2003; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2005; Witt-Enderby ve diğerleri, 2006; Tresguerres ve diğerleri, 2014; Ping ve

diğerleri, 2017). Günümüzde, MT'nin kemik kütlesini artırıcı etkisinin, osteoblastik aktiviteyi artırması, osteoklastik aktiviteyi azaltması, osteoklastogenezi engelleyici faktör olan osteoprotegerini artırmasıyla ilişkili olduğu iddia edilmektedir (Nakade ve diğerleri, 1999; Koyama ve diğerleri, 2002; Sethi ve diğerleri, 2010; Vriend ve Reiter, 2016). Eksojen veya endojen MT'nin osteoblastlar ve osteoklastlar üzerine olan sözkonusu etkilerinin MT-MT2 reseptör yolu (Witt-Enderby ve diğerleri, 2006) veya RANK/NF-kB sinyal yolu (Roth ve diğerleri, 1999; Koyama ve diğerleri, 2002; Sethi ve diğerleri, 2010; Ping ve diğerleri, 2017) veya BMP/ERK/Wnt sinyal yolları (Vriend ve Reiter, 2016; Ping ve diğerleri, 2017; Murodumi ve diğerleri, 2020) mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK)/ERK yolu (Sun ve diğerleri, 2018) veya dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)/Smad sinyal yolu (Wu ve diğerleri, 2016) veya miR 181c 5p ekspresyonunu indüklemeye yolu (Murodumi ve ark, 2020) aracılığıyla gerçekleştiği kanıtlanmıştır. Ayrıca, MT'nin dokulara zarar veren serbest radikal aracılı ve çok çeşitli hasarlı süreçlerde oksidatif stres modülasyonu sağlamak ve hatta osteoklastlar tarafından üretilen serbest radikalleri de temizlemek suretiyle kemik doku için koruyucu bir ajan olarak işlev gördüğü iddia edilmektedir (Reiter ve diğerleri, 2000; Reiter ve diğerleri, 2001; Tan ve diğerleri, 2002; Turgut ve diğerleri, 2005). Diğer yandan, MT'nin kemik dokuda kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde de rol oynadığı ileri sürülmüştür (Iguchi ve diğerleri, 1982). Kemik metabolizması ve tip I kollajen üretimi üzerindeki uyarıcı etkisine ek olarak, proteazomlar üzerinde de engelleyici bir etkiye sahip olduğu iddia edilmiştir (Nakade ve diğerleri, 1999; Koyama ve diğerleri, 2002; Sethi ve diğerleri, 2010; Vriend ve Reiter, 2016).

Son yıllarda yayınlanmış çok sayıda çalışma, çeşitli nedenlere bağlı olarak kemik dokusunda ortaya çıkan osteoporotik süreçlerin ve çeşitli kraniospinal defektlerin onarılmasında MT'nin kullanımını destekleyen önemli bilgiler sağlamıştır (Machida ve diğerleri, 1995; Koyama ve diğerleri, 2002; Cardinalli ve diğerleri, 2003; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Ostrowska ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2003a; Fjellidal ve diğerleri, 2004; Turgut ve diğerleri, 2005; Sethi ve diğerleri, 2010; Basaloglu ve diğerleri, 2022; Liu ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). Bugün, MT'nin osteoblastik hücrelerde osteojenik farklılaşmada ve mineralizasyonda rol oynayan önemli bir düzenleyici olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Murodumi ve diğerleri, 2020). Murodumi ve diğerleri (2020) tarafından gerçekleştirilen deneysel çalışmada, MT'nin fibroblast büyüme faktörü 2 ile kombine edilmesi halinde, hem osteoblast öncül hücrelerinin osteojenik aktivitesinde ve hem de mineralizasyonda sinerjik bir artış sağlandığı iddia edilmiştir

(Murodumi ve diğerleri, 2020). Böylece, MT'nin kemik dokusu gelişimi, morfolojisi ve metabolizması üzerindeki etkisi oldukça birçok yönleriyle aydınlığa kavuşturulmuş bulunmaktadır (Nakade ve diğerleri, 1999; Roth ve diğerleri, 1999; Ostrowska ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2003a; Turgut ve diğerleri, 2003b; Turgut ve diğerleri, 2005; Ping ve diğerleri, 2017; Basaloglu ve diğerleri, 2022; Liu ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). Ancak, laktasyon döneminde uygulanmış PKM modelinde ortaya çıkan kemik dokusu (kranium ve vertebra) değişiklikleri üzerine MT'nin uzun süreli etkilerini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Biyolojik olarak, kemik oluşturan osteoblastlar ve kemiği rezorbe eden osteoklastlar arasında bir dengenin sözkonusu olduğu dengeli bir kemik döngüsünde, rezorbsiyon fazını kemik oluşum fazı izlemektedir (Bilezikian ve diğerleri, 2002). Yine, BSP, OPN ve tenasin C gibi matris hücresel proteinlerinin kemik oluşumu sürecinin kritik düzenleyicileri olduğuna ve OCN/CTX-I gibi kemik matriksini sentezleyen insan osteoblastik/osteoklast hücre hatlarında MT'nin doğrudan etkilerine dair bazı kanıtlar mevcuttur (Nakade ve diğerleri, 1999; Roth ve diğerleri, 1999). Ladizesky ve diğerleri (2003) tarafından, OCN'nin *in vitro* olarak osteoblast farklılaşmasını ve matriksin mineralizasyonunun teşvik edilebileceği bildirilmiştir (Ladizesky ve diğerleri, 2003).

Son yıllarda, MT'nin, kemik hücreleri için bir otokoid veya lokal büyüme faktörü olarak işlev gördüğü, osteoblast proliferasyonu ve tip I kollajen ile kemik döngüsünün biyokimyasal belirteçleri olan BSP, ON, OCN ve OPN'nin MT tarafından desteklendiği ileri sürülmüştür (Roth ve diğerleri, 1999; Cardinali ve diğerleri, 2003; Basaloglu ve diğerleri, 2022). Bu deneysel çalışmada, kontrol ve PKM+MT gruplarında yüksek derecede BSP immün reaksiyonu mevcut olmasına karşın, PKM+Px grubunda daha düşük derecede immün reaksiyon tespit edilmiş olup, PKM'ye uğratılmış deneklere eksojen MT verilmesi sonucunda, osseointegrasyon sırasında kemik döngüsünde mevcut dengesizlik sürecinde kısmi bir düzelme sağlandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, bugüne kadar, fonksiyonel Px grubumuzda olduğu gibi, endojen MT üretimi daha düşük olan PKM'ye uğratılmış neonatal hayvanlarda eksojen MT verilmesinin etkisi henüz değerlendirilmemiştir.

Daha önce gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda, cerrahi ya da fonksiyonel Px teknikleri kullanarak MT yapımı azaltılan hayvanların kemik dokusunun morfolojik özelliklerinde, mineral yoğunluğunda ve mekanik dayanıklılığında bazı değişikliklerin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Nakade ve diğerleri, 1999; Roth ve diğerleri, 1999; Ostrowska ve diğerleri, 2002a; Ostrowska ve diğerleri, 2002b; Suzuki ve Hattori, 2002; Cardinali ve

diğerleri, 2003; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2003b; Fjelldal ve diğerleri, 2004; Turgut ve diğerleri, 2005; Turgut ve diğerleri, 2007; Basaloglu ve diğerleri, 2022; Liu ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). Bununla birlikte, bildiğimiz kadarıyla, PKM'ye uğratılmış hayvanlarda endojen MT eksikliği ve eksojen MT uygulanması durumunda kraniospinal kemik dokuda ortaya çıkan değişiklikleri değerlendiren herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada eksojen MT uygulamasının makroskobik ve mikroskobik etkilerini değerlendirmek için *in vivo* fonksiyonel Px sıçan kranium modeli kullanılmıştır.

Bu deneysel çalışmada, PKM'ye uğratılmış gruplar arasında, fonksiyonel Px prosedürü uygulanan grupta, lomber vertebraya ait BMD değerlerinde azalmanın eşlik ettiği osteoporoz ile uyumlu histolojik değişikliklerin en belirgin olması dikkat çekici bir bulgudur. Elde edilen bu bulgular, diğer araştırmacıların daha önceki sonuçlarıyla tutarlıdır (Nakade ve diğerleri, 1999; Roth ve diğerleri, 1999; Ostrowska ve diğerleri, 2002a; Ostrowska ve diğerleri, 2002b; Suzuki ve Hattori, 2002; Cardinalli ve diğerleri, 2003; Ladizesky ve diğerleri, 2003; Turgut ve diğerleri, 2003b; Fjelldal ve ark diğerleri, 2004; Turgut ve diğerleri, 2005; Turgut ve diğerleri, 2007; Liu ve diğerleri, 2022; Ren ve diğerleri, 2023). Mevcut çalışmada, PKM'ye ilaveten eksojen MT verilmesinin etkisi, fonksiyonel Px'i takiben osteogenezde ortaya çıkan değişikliklerden ve azalmış olan kemik yoğunluğundan sorumlu olabilir. Geniş spektrumlu bir antioksidan ve güçlü bir endojen serbest radikal temizleyicisi olduğu ve anti-enflamatuar etki gösterdiği doğrulanmış MT'nin, fonksiyonel Px işlemi uygulanmayan diğer gruplarda yer alan sıçanlarda serbest radikallerin neden olduğu toksisiteden kemik dokusu hücrelerini korumasını sağladığı ve fonksiyonel Px grubundaki daha düşük BMD'den sorumlu olması muhtemeldir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara ve mevcut literatür verilerine dayanarak, MT'nin ve dolayısıyla da epifiz bezinin kemik dokudaki osteoblastik aktiviteyi uyarıcı bir etkiye sahip olduğunu, matriks mineralizasyonuna katkı sağladığı ve kemik büyümesine neden olduğunu çok açıktır. Hiç şüphe yok ki, kraniospinal eksende yer alan kranium ve vertebralarda lokalize MT reseptörlerinin gözlemlenen etkilerde rol oynaması oldukça muhtemel görünmektedir. Gelecekte, PKM'ye uğratılmış deneklerde ilaveten Px işlemi uygulanması veya eksojen MT tedavisi verilmesinden sonra kemik matriksi ve kemik hücrelerindeki ortaya çıkan ultrastrüktürel değişikliklerin elektron mikroskobu kullanılarak incelenmesinin ve değerlendirilmesinin yeni bilgiler sağlayacağı öngörülmektedir.

Mevcut çalışmadan elde edilen veriler, PKM'ye uğratılmış deneklerde Px prosedürü

nedeniyle düşmüş olan endojen MT düzeyinin eksojen uygulamayla normal seviyeye getirilmesinin, hayvanların osteogenez sürecini düzenleyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, MT'nin osteoindüktif aktiviteye sahip bazı hormonların salgılanmasına aracılık etmesi sonucunda kemik metabolizmasını dolaylı olarak da etkileyebilmesi mümkün görünmektedir. Bu hormonlardan biri östrojen olup, salgılanmasının MT tarafından uyarılabildiği bilinen östrojen eksikliğinin osteoporoz ile ilişkili olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Kemik metabolizmasıyla ilişkili diğer hormonlar arasında progesteron, tiroksin, androjen, kortizol ve kalsitonin yer almaktadır (Aloia ve diğerleri, 1985). Bu sebeple, MT'nin kemik yapımı ve kemik yıkımı arasındaki dengeyi düzenleyebileceğini ve kemik yeniden şekillenmesi için önemli olduğunu açıktır. Bununla birlikte, MT reseptörlerinin, osteoblast hücrelerini ve kemik kan akışını etkileyebilecek bu hormonların salgılanmasının düzenlenmesinde MT'nin bir rol oynayıp oynamadığı hala araştırılmaya muhtaç bir konu olarak karşımızda durmaktadır.

5.4. Çalışmanın Güçlü Yönleri ve Kısıtlamaları

Şimdiye kadar gerçekleştirilmiş olan deneysel PKM çalışmalarının çoğunda, kısa süreli malnütrisyondan etkileri değerlendirilmiş olup, uzun süreli PKM'nin sonuçları hakkında bir öngöründe bulunulmasının mümkün olmadığı ileri sürülmüştür (R ve diğerleri, 2023). Bu durum, uzun süreli malnütrisyondan ilişkili deneysel küçük hayvan hayvan modellerinin kullanılmasının gerekliliğini açıkça ortaya koymaktadır. İnsanlardaki doğal yaşlanma sürecinde olduğu gibi, PKM'ye maruz kalmaya veya fonksiyonel Px prosedüründe olduğu gibi MT'nin azalmasına bağlı olarak, kemik oluşumu ve rezorpsiyon süreçlerinde uzun sürede gelişmesi olası değişikliklerin değerlendirilebilmesi amacıyla, sıçan neontal PKM modelinin kullanıldığı bu deneysel çalışmada, deneklerin laktasyon dönemi sonrasında erişkin yaşa kadar 4-5 ay gibi uzun bir süre gözlenmiş olması çalışmanın güçlü yönlerinden birisidir.

Gerek kemik dokusunun inorganik madde içeriğine ilişkin olarak BMD analizinin yapılmış olması ve gerekse vertebra BT'de yoğunluk histogramlarının elde edilmiş olması bu çalışmanın güçlü yönleri arasında sayılmaya değer özellikler arasındadır. MT'nin osteoblastik büyüme ve farklılaşmada düzenleyici bir rol oynadığı dikkate alınarak, vertebra kemik dokusunun mekanik dayanıklılığının ve mineral içeriğinin ölçülmesi MT'nin kemik mineralizasyonundaki etkisine dair çok değerli veriler sağlayacaktır (Shi ve diğerleri, 1996).

Bu nedenle, özellikle, osteoblast/osteoklast fonksiyonlarının bir göstergesi olarak serum OCN ve CTX-I düzeyleri de ölçülerek MT'nin osteogenezdeki rolü hakkında bilgi sağlanmıştır. Belirtilmiş olan bu husular, bu deneysel çalışmanın güçlü yönleri arasındadır.

Öte yandan, PKM modelinde deney hayvanı olarak seçilmiş *in vivo* dört ayaklı sıçan ile insan kraniospinal osseöz yapıları arasındaki belirgin anatomik ve biyomekanik farklılıklar nedeniyle, bu deneysel çalışmanın sonuçlarının insana doğrudan aktarılması oldukça güç. olup, bu tez çalışmasının en zayıf yönüdür. Yine, bu çalışmada deneklerin tümünün kemik yoğunluk ölçümü için vertebra BT tetkikine alınmasında ekonomik nedenlerle kısıtlamaya gidilmiş olması sonucunda örneklem boyutunun küçük olması bu deneysel çalışmanın diğer bir zayıf yönüdür. Öte yandan, sıçanlarda vertebra korpuslarının dorsoventral ve lateral çapları ile uzunluğu gibi farklı anatomik boyutları ve ağırlığı gibi makroskobik özellikleri ile spinal deformite (skolyoz ve kifoz gibi) varlığına ilişkin bir morfometrik değerlendirmenin yapılmamış olması bu çalışmanın diğer bir zayıf yönü olarak belirtilmelidir.

Ancak, bu deneysel çalışma, PKM'ye uğratılmış sıçanlarda fonksiyonel Px uygulamasının kemik doku gelişimi ve morfolojik özellikleri üzerine olan uzun süreli etkilerinin makroskobik, radyolojik, biyokimyasal, biyomekanik ve histolojik olarak değerlendirildiği literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmanın özgünlüğü yanında, deneysel sıçan PKM modelinin kolay, uygulanabilir ve güvenilir olması da vurgulanmaya değer bir özelliktir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde hala önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan PKM, çeşitli nedenlerle hastaneye yatırılan çocuklar ve yaşlılar başta olmak üzere toplumun tüm kesimlerini ve yaş gruplarını ilgilendiren sağlık sorunlarından biridir. Literatür verileri bu hastalarda, kemik dokunun makroskobik ve mikroskobik yapısını etkileyen çeşitli değişikliklerin yanısıra, serbest radikal düzeyinde artış ve antioksidan savunma sisteminde bir zayıflamanın da sözkonusu olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak, daha sonra PKM'ye maruz bırakılmış bireylerin mevcut olumsuz beslenme koşullarında düzelme olması halinde, telafi edici büyüme sayesinde sözkonusu değişikliklerde bir ölçüde geri dönüşün sağlanabileceği bildirilmiştir. Bu deneysel çalışmada, güçlü bir anti-inflamatuvar ve antioksidan ajan olan MT'nin, PKM'ye maruz bırakılmış sıçanlarda kraniospinal kemik doku gelişimi ve morfolojik özellikleriyle ilişkili olarak ortaya çıkan çeşitli olumsuz etkilerin azaltılmasında kritik bir role sahip olabileceği hipotezi test edilmiştir. Bu amaçla, PKM'ye uğratılmış sıçanların kranium ve vertebral kemiklerinde ortaya çıkan değişiklikler makroskobik, radyolojik, biyokimyasal, biyomekanik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Sıçanlarda gerçekleştirilen bu çalışma, neonatal dönemde PKM'ye uğratılmış deneklerde fonksiyonel Px'in ve eksojen MT'nin kranial ve vertebral osteogenez süreçleri üzerindeki olası uzun süreli rolünü araştıran ilk deneysel çalışmadır.

Bu çalışmada elde edilen uzun süreli bulgular, vücut ağırlıklarında ve kranium morfometrik ölçüm sonuçlarında azalma ortaya çıkan PKM'li hayvanların lomber vertebra kemik (mineral) yoğunluğu ile biyomekanik kompresyon testinde azalma mevcudiyeti yanında, serum örneklerinde IL-6, IL-10 ve TNF- α aktivitelerinin yüksek olduğu ve kemik metabolizmasında rezorbsiyon lehine artış olduğu gösterilmiştir. Histolojik bulgular ise, hem kranium diploe kalınlığında azalmaya karşın boş laküna % oranında artışla birlikte ON ve BSP immünoreaktivite skorlarında azalma olduğu saptanmıştır. Daha da önemlisi, sözü edilen makroskobik, radyolojik, biyomekanik, biyokimyasal ve histolojik bulguların, PKM grupları arasında özellikle fonksiyonel Px grubunda en belirgin iken, eksojen MT uygulanmış olan deneklerde daha hafif düzeyde olduğu saptanmıştır. Böylece, PKM ile ilişkili bulguların, özellikle sürekli aydınlık ortamda tutulmuş olan fonksiyonel Px deneklerinde daha belirgin iken, eksojen olarak MT uygulananlarda daha hafif olduğu

anlaşılmaktadır.

Tüm sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, epifiz bezinden salınan bir nörohormon olan MT'nin kemik yeniden şekillenmesindeki osteoindüktif rolü nedeniyle faydalı bir etkiye sahip olması muhtemel görünmektedir. Hiç şüphe yok ki, elde edilen bu önemli bilgi, sıklıkla PKM ile ilişkilendirilen postmenopozal ya da yaşlılık dönemi osteoporozu için uygun tedavi seçeneğinin hedeflenmesine de yardımcı olacaktır, ancak mevcut çalışma sonuçları sıçanlarda kemik rezorpsiyonun ve kraniospinal kemik doku değişikliklerinin dinamik seyrine ilişkin kesin bir kanıt sağlamamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar mevcut literatür verileri ile uyum içinde olup, “çoğaltılmış yavru malnütrisyon modeli” kullanılarak yavru sıçanlarda laktasyon döneminde oluşturulan deneysel PKM modelinin kolay, uygulanabilir ve güvenilir olduğunu doğrulamaktadır. Daha önemlisi, ciddi bir sağlık sorunu olan PKM'den sonra kemik dokuda ortaya çıkan telafi edici etkilerin sinerjik olarak artırılmasında, buna karşın kemik doku rezorpsiyonu ile karakterize olumsuz etkilerin azaltılmasında pineal nörohormon MT'nin koruyucu ve destekleyici bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Ancak, sıçanlarda neonatal PKM'ye ilaveten uygulanmış olan fonksiyonel Px prosedürü sonucunda kemik dokusunda ortaya çıkan morfolojik, radyolojik, biyokimyasal ve histolojik değişikliklerin gelişmesine yol açan moleküler mekanizmalar hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olup, sözkonusu bulguların ortaya çıkmasında MT'nin olası rolünü açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğuna inanıyoruz.

KAYNAKLAR

- Aarden, E. M., Burger, E. H., Nijweide, P. J. (1994). Function of osteocytes in bone. *Journal of Cellular Biochemistry*, 55(3), 287-299. doi: 10.1002/jcb.240550304.
- Agas, D., Sabbieti, M. G., Marchetti, L. (2013). Endocrine disruptors and bone metabolism. *Archives of Toxicology*, 87(4), 735-751. doi: 10.1007/s00204-012-0988-y.
- Akinola, F. F., Oguntibeju, O. O., Alabi, O. O. (2010). Effects of severe malnutrition on oxidative stress in Wistar rats. *Scientific Research and Essays*, 5(10), 1145-1149. <https://doi.org/10.5897/SRE.9000439>
- Alippi, R. M., Meta, M. D., Boyer, P. M., Bozzini, C. E. (1999). Catch-up in mandibular growth after short-term dietary protein restriction in rats during the post-weaning period. *European Journal of Oral Sciences* 1999, 107(4), 260-264. doi: 10.1046/j.0909-8836.1999.eos107405.x.
- Alippi, R. M., Meta, M. D., Olivera, M. .I, Bozzini, C., Schneider, P., Meta, I. F., Bozzini, C. E. (2002). Effect of protein-energy malnutrition in early life on the dimensions and bone quality of the adult rat mandible. *Archives of Oral Biology*, 47(1), 47-53. doi: 10.1016/s0003-9969(01)00089-9.
- Allen, M. J. (2003). Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(3), 101-113. doi: 10.1111/j.1939-165x.2003.tb00323.x.
- Allison, S. P. (2000). Malnutrition, disease, and outcome. *Nutrition*, 16(7-8), 590-593. doi: 10.1016/s0899-9007(00)00368-3.
- Aloia, J. F., Cohn, S. H., Vaswani, A., Yeh, J. K., Yuen, K., Ellis, K. (1985). Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *The American Journal of Medicine*, 78(1), 95-100. doi: 10.1016/0002-9343(85)90468-1.
- Anstead, G. M., Chandrasekar, B., Zhao, W., Yang, J. U. E., Perez, L. E., Melby, P. C. (2001). Malnutrition alters the innate immune response and increases early visceralization following *Leishmania donovani* infection. *Infection and Immunity*, 69 (8), 4709-4718. <https://doi.org/10.1128/iai.69.8.4709-4718.2001>.

- Asagiri, M., Takayanagi, H. (2007). The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone*, 40, 251–264. doi:10.1016/j.bone.2006.09.023
- Avignon, A., Hokayem, M., Bisbal, C., Lambert, K. (2012). Dietary antioxidants: Do they have a role to play in the ongoing fight against abnormal glucose metabolism? *Nutrition*, 28(7-8), 715-721. doi: 10.1016/j.nut.2012.01.001.
- Badanthadka, M., Prathibha, G., Madhura, R. J. (2021). Diet composition to produce malnourished animal model. The Patent Office Journal No. 01/2021 Dated 01/01/2021, Patent application No.202041055429 A.
- Baer, M. J. (1954). Patterns of growth of the skull as revealed by vital staining. *Human Biology*, 26(2), 80-126. PMID: 13191803.
- Bala, Y., Farlay, D., Boivin, G. (2013). Bone mineralization: from tissue to crystal in normal and pathological contexts. *Osteoporosis International*, 24(8), 2153-66. doi: 10.1007/s00198-012-2228-y.
- Basaloglu, H. K., Turgut, M., Şirin, C., Uyanikgil, Y., Demirci, B., Cetin, E. O. (2022). The influence of functional pinealectomy and exogenous melatonin application on healing of a burr hole in adult rat calvaria: a histological and immunohistochemical study. *Folia Morphologica (Warsz)*, 81(2), 271-279. doi: 10.5603/FM.a2021.0047.
- Bettis, T., Kim, B. J., Hamrick, M. W. (2018). Impact of muscle atrophy on bone metabolism and bone strength: implications for muscle-bone crosstalk with aging and disuse. *Osteoporosis International*, 29(8), 1713-1720. doi: 10.1007/s00198-018-4570-1.
- Beuerlein, M., Wilson, J., Moreau, M., Raso, V. J., Mahood, J., Wang, X., Greenhill, B., Bagnall, K. M. (2001). The critical stage of pinealectomy surgery after which scoliosis is produced in young chickens. *Spine (Phila Pa 1976)*, 26(3), 237-240. doi: 10.1097/00007632-200102010-00007.
- Bhuiyan, P.S., Rajgopal, L., Shyamkishore, K. (2018). Irderbir Singh's Textbook of Human Neuroanatomy, 10th ed. Chapter 9, Diencephalon. New Delhi, India: Jaypee Brothers, , 141-162. doi: 10.5005/jp/books/18462_11.
- Bilezikian, J. P., Raisz, L.G., Rodan, G. A. (2002). Principles of Bone Biology. 2nd. Academic Press, San Diego, 51-67.
- Bistran, B. R., Blackburn, G. L., Vitale, J., Cochran, D., Naylor, J. (1976). Prevalence of

- malnutrition in general medical patients. *JAMA*, 235(15), 1567-1570. PMID: 814258.
- Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., de Onis, M., Ezzati, M., Mathers, C., Rivera, J.; Maternal and Child Undernutrition Study Group. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*, 371(9608), 243-260. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61690-0.
- Boivin, G., Bala, Y., Doublier, A., Farlay, D., Ste-Marie, L. G., Meunier, P. J., Delmas, P. D. (2008). The role of mineralization and organic matrix in the microhardness of bone tissue from controls and osteoporotic patients. *Bone*, 43(3), 532-538. doi: 10.1016/j.bone.2008.05.024.
- Bonewald, L. F. (2007). Osteocytes. In: Marcus, D. F. R., Nelson, D., Rosen, C. (Editors). *Osteoporosis*, vol.1, 3rd ed. San Diego: Elsevier, 169-90.
- Bonewald, L.F. (2011). The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(2), 229-238. doi: 10.1002/jbmr.320.
- Borelli, P., Blatt, S., Pereira, J., de Maurino, B. B., Tsujita, M., de Souza, A. C., Xavier, J. G., Fock, R. A. (2007). Reduction of erythroid progenitors in protein-energy malnutrition. *British Journal of Nutrition*, 97(2), 307-314. doi: 10.1017/S0007114507172731.
- Borelli, P., Blatt, S. L., Rogero, M. M., Fock, R. A. (2004). Haematological alterations in protein malnutrition. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 26(1), 49-56. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842004000100010>.
- Bosi Bagci, T., Durmus İpekci, A. (2006). Protein energy malnutrition (in Turkish). In: Güler, Ç., Akın, L. (Editors). *Public Health Basics (in Turkish)*. Ankara: Hacettepe University Publishing, 765-779.
- Boutroy, S., Bouxsein, M. L., Munoz, F., Delmas, P. D. (2005). In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(12), 6508-6515. doi: 10.1210/jc.2005-1258.
- Briones, A. M., Touyz, R. M. (2010). Oxidative stress and hypertension: current concepts. *Current Hypertension Reports*, 12(2), 135-142. doi: 10.1007/s11906-010-0100-z.
- Brito, M. V. H., Mauro de Souza Pantoja, M.S., Brito, A. P. S. O., Palheta, C. S. A., da Silva, W. M. P., da Silva, W.C. (2016). Experimental malnutrition: A systematic

- review. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 3(3), 305-308. doi: 10.15761/IFNM.1000148.
- Brown, K. H. (2003). Diarrhea and malnutrition. *The Journal of Nutrition*, 133(1), 328S-332S. doi: 10.1093/jn/133.1.328S.
- Camozzi, V., Tossi, A., Simoni, E., Pagani, F., Francucci, C. M., Moro, L. (2007). Role of biochemical markers of bone remodeling in clinical practice. *Journal of Endocrinological Investigation*, 30(6 Suppl), 13-7. PMID: 17721068.
- Cardinali, D. P., Ladizesky, M. G., Boggio, V., Cutrera, R. A., Mautalen, C. (2003). Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *Journal of Pineal Research*, 34(2), 81-87. doi: 10.1034/j.1600-079x.2003.00028.x.
- Castillo-Durán, C., Cassorla, F. (1999). Trace minerals in human growth and development. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 12(5 Suppl 2), 589-601. PMID: 10854188.
- Celedon, J. M., Santander, M., Colombo, M. (1979). Long-term effects of early undernutrition and environmental stimulation on learning performance of adult rats. *The Journal of Nutrition*, 109(11), 1880-1886. doi: 10.1093/jn/109.11.1880.
- Chandra, R. K. (1992). Protein-energy malnutrition and immunological responses. *The Journal of Nutrition*, 122(3 Suppl), 597-600. doi: 10.1093/jn/122.suppl_3.597.
- Chandra, R. K. (1997). Nutrition and the immune system: an introduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66(2), 460S-463S. doi: 10.1093/ajcn/66.2.460S.
- Chen, J. H., Liu, C., You, L., Simmons, C. A. (2010). Boning up on Wolff's Law: mechanical regulation of the cells that make and maintain bone. *Journal of Biomechanics*, 43(1), 108-118. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.09.016.
- Chen, S. J., Huang, S. H., Chen, J. W., Wang, K. C., Yang, Y. R., Liu, P. F., Lin, G.J., Sytwu, H. K. (2016). Melatonin enhances interleukin-10 expression and suppresses chemotaxis to inhibit inflammation in situ and reduce the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis. *International Immunopharmacology*, 31, 169-177. doi: 10.1016/j.intimp.2015.12.020.
- Chu, Z. M., Li, H. B., Sun, S. X., Jiang, Y. C., Wang, B., Dong, Y. F. (2017). Melatonin promotes osteoblast differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in aged rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(19), 4446-

4456. PMID: 29077147.

- Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3 Suppl 3(Suppl 3), S131-139. doi: 10.2215/CJN.04151206.
- Coskun, T. Nutrition of the malnourished patient (in Turkish). *Katkı Pediatri Dergisi*, 1996, 17, 311-312.
- Crockett, J. C., Rogers, M. J., Coxon, F. P., Hocking, L. J., Helfrich, M. H. (2011). Bone remodelling at a glance. *Journal of Cell Science*, 124(Pt 7), 991-998. doi: 10.1242/jcs.063032.
- Cummings, S. R., Bates, D., Black, D. M. (2002). Clinical use of bone densitometry: scientific review. *JAMA*, 288(15), 1889-1897. doi: 10.1001/jama.288.15.1889.
- da Silva Morais, A., Oliveira, J. M., Reis, R. L. (2018). Small animal models. *Osteochondral Tissue Engineering*, 423-439. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-76735-2-19>.
- Davison, K. S., Siminoski, K., Adachi, J. D., Hanley, D. A., Goltzman, D., Hodsman, A. B., Josse, R., Kaiser, S., Olszynski, W. P., Papaioannou, A., Ste-Marie, L. G., Kendler, D. L., Tenenhouse, A., Brown, J. P. (2006). Bone strength: the whole is greater than the sum of its parts. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 36(1), 22-31. doi: 10.1016/j.semarthrit.2006.04.002.
- de Onís, M., Monteiro, C., Akre, J., Glugston, G. (1993). The worldwide magnitude of protein-energy malnutrition: an overview from the WHO Global Database on Child Growth. *Bull World Health Organ*, 71(6), 703-712. PMID: 8313488; PMCID: PMC2393544.
- Dekker, H., Schulten, E. A. J. M., Lichters, I., van Ruijven, L., van Essen, H. W., Blom, G.J., Bloemena, E., Ten Bruggenkate, C. M., Kullaa, A. M., Bravenboer, N. (2022). Osteocyte apoptosis, bone marrow adiposity, and fibrosis in the irradiated human mandible. *Advances in Radiation Oncology*, 7(4), 100951. doi: 10.1016/j.adro.2022.100951.
- Demontiero, O., Vidal, C., Duque, G. (2012). Aging and bone loss: new insights for the clinician. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 4(2), 61-76. doi: 10.1177/1759720X11430858.
- Desai, I. D., Garcia Tavares, M. L., Dutra de Oliveira, B. S., Douglas, A., Duarte, F. A.,

- Dutra de Oliveira, J. E. (1980). Food habits and nutritional status of agricultural migrant workers in Southern Brazil. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33(3), 702-714. doi: 10.1093/ajcn/33.3.702.
- Dickerson, J. W., Hughes, P. C. (1972). Growth of the rat skeleton after severe nutritional intrauterine and post-natal retardation. *Resuscitation*, 1(2), 163-170. doi: 10.1016/0300-9572(72)90019-6
- Dionyssiatis, Y., Lyritis, G. P., Mavrogenis, A. F., Papagelopoulos, P. J. (2011). Factors influencing bone loss in paraplegia. *Hippokratia*, 15(1), 54-59. PMID: 21607037; PMCID: PMC3093146.
- D'Souza, V., R, J. M., Shetty, M., Augustin, V., Chakraborty, A., B, M. K., Shetty, A. V., Badanthadka, M. (2023). Protein malnutrition in BALB/c mice: An experimental model resembling clinical scenario. *Journal of Health and Allied Sciences NU*, 13, 490–496. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0042-1758526>.
- Ducy, P. (2011). The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. *Diabetologia*, 54(6), 1291-1297. doi: 10.1007/s00125-011-2155-z.
- Ehrlich, P. J., Lanyon, L. E. (2002). Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporosis International*, 13(9), 688-700. doi: 10.1007/s001980200095.
- Ellman, R., Spatz, J., Cloutier, A., Palme, R., Christiansen, B. A., Bouxsein, M. L. (2013). Partial reductions in mechanical loading yield proportional changes in bone density, bone architecture, and muscle mass. *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(4), 875-885. doi: 10.1002/jbmr.1814.
- Etukudo, M., Agbedana, O., Akang, E., Osifo, B. (1999). Biochemical changes and liver tissue pathology in weanling Wistar albino rats with protein-energy malnutrition (PEM). *African Research Journal of Medical Sciences*, 28(1-2), 43-47. PMID: 12953986.
- Fávaro-Moreira, N. C., Krausch-Hofmann, S., Matthys, C., Vereecken, C., Vanhauwaert, E., Declercq, A., Bekkering, G. E., Duyck, J. (2016). Risk factors for malnutrition in older adults: A systematic review of the literature based on longitudinal data. *Advances in Nutrition*, 7(3), 507-522. doi: 10.3945/an.115.011254.
- Feng, X., McDonald, J. M. (2011). Disorders of bone remodeling. *Annual Review*

of Pathology: Mechanisms of Disease, 6, 121-145. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130203.

- Fernandes, R. M., Abreu, A. V., Silva, R. B., Silva, D. F., Martinez, G. L., Babinski, M. A., Ramos, C. F. (2008). Maternal malnutrition during lactation reduces skull growth in weaned rat pups: experimental and morphometric investigation. *Anatomical Science International*, 83(3), 123-130. doi: 10.1111/j.1447-073X.2007.00212.x.
- Fjellidal, P. G., Grotmol, S., Kryvi, H., Gjerdet, N. R., Taranger, G. L., Hansen, T., Porter, M. J., Totland, G. K. (2004). Pinealectomy induces malformation of the spine and reduces the mechanical strength of the vertebrae in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Pineal Research*, 36(2), 132-139. doi: 10.1046/j.1600-079x.2003.00109.x.
- Fock, R. A., Vinolo, M. A., Crisma, A. R., Nakajima, K., Rogero, M. M., Borelli, P. (2008). Protein-energy malnutrition modifies the production of interleukin-10 in response to lipopolysaccharide (LPS) in a murine model. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 54(5), 371-377. doi: 10.3177/jnsv.54.371.
- Fonseca, D., Ward, W. E. (2004). Daidzein together with high calcium preserve bone mass and biomechanical strength at multiple sites in ovariectomized mice. *Bone*, 35(2), 489-497. doi: 10.1016/j.bone.2004.03.031.
- Fonseca, H., Moreira-Gonçalves, D., Coriolano, H.J., Duarte, J. A. (2014). Bone quality: the determinants of bone strength and fragility. *Sports Medicine*, 44(1), 37-53. doi: 10.1007/s40279-013-0100-7.
- Franz-Odenaal, T.A., Hall, B. K., Witten, P. E. (2006). Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental Dynamics*, 235(1), 176-190. doi: 10.1002/dvdy.20603.
- Frost, H. M. (2003). Bone's mechanostat: A 2003 update. *The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*, 275(2), 1081-1101. doi: 10.1002/ar.a.10119.
- Fukumoto, S., Martin, T. J. (2009). Bone as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 20(5), 230-236. doi: 10.1016/j.tem.2009.02.001.
- Fukushima, N., Hanada, R., Teranishi, H., Fukue, Y., Tachibana, T., Ishikawa, H., Takeda, S., Takeuchi, Y., Fukumoto, S., Kangawa, K., Nagata, K., Kojima, M. (2005). Ghrelin directly regulates bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(5), 790-

798. doi: 10.1359/JBMR.041237.

- Ghareghani, M., Zibara, K., Sadeghi, H., Farhadi, N. (2018). Spasticity treatment ameliorates the efficacy of melatonin therapy in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mouse model of multiple sclerosis. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 38(5), 1145-1151. doi: 10.1007/s10571-018-0580-y.
- Ginaldi, L., Di Benedetto, M. C., De Martinis, M. (2005). Osteoporosis, inflammation and ageing. *Immunity & Ageing*, 2, 14. doi: 10.1186/1742-4933-2-14.
- Giusti, A., Bianchi, G. (2014). Treatment of primary osteoporosis in men. *Clinical Interventions in Aging*, 10, 105-115. doi: 10.2147/CIA.S44057.
- Greene, E. C. (1963). *Anatomy of the Rat*. Hafner Publishing, London.
- Gueri, M., Gurney, J. M., Jutsum, P. (1980). The Gomez classification. Time for a change? *Bulletin of the World Health Organization*, 58(5), 773-777. PMID: 6975186; PMCID: PMC2395976.
- Guzik, T. J., Touyz, R. M. (2017). Oxidative stress, inflammation, and vascular aging in hypertension. *Hypertension*, 70(4), 660-667. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.07802.
- Hadjidakis, D. J., Androulakis, II. (2006). Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1092, 385-396. doi: 10.1196/annals.1365.035.
- Halliwel, B. (2000). Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), 1082-1087. doi: 10.1093/ajcn/72.5.1082.
- Hammer, A. (2015). The paradox of Wolff's theories. *Irish Journal of Medical Sciences*, 184(1), 13-22. doi: 10.1007/s11845-014-1070-y.
- Hardeland, R. (2018). Melatonin and inflammation-Story of a double-edged blade. *Journal of Pineal Research*, 65(4), e12525. doi: 10.1111/jpi.12525.
- Hart, N. H., Newton, R. U., Tan, J., Rantalainen, T., Chivers, P., Siafarikas, A., Nimphius, S. (2020). Biological basis of bone strength: Anatomy, physiology and measurement. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 20(3), 347-371. PMID: 32877972; PMCID: PMC7493450.
- Hart, N. H., Nimphius, S., Rantalainen, T., Ireland, A., Siafarikas, A., Newton, R. U. (201).

- Mechanical basis of bone strength: influence of bone material, bone structure and muscle action. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 7, 17(3), 114-139. PMID: 28860414; PMCID: PMC5601257.
- Hart, N. H., Nimphius, S., Spiteri, T., Cochrane, J. L., Newton, R. U. (2015). Segmental musculoskeletal examinations using dual-energy x-ray absorptiometry (DXA): positioning and analysis considerations. *Journal of Sports Science and Medicine*, 14(3), 620-626. PMID: 26336349; PMCID: PMC4541127.
- Hickman, D. L., Johnson, J., Vemulapalli, T. H., Crisler, J. R., Shepherd, R. (2017). Commonly used animal models. In: *Principles of Animal Research for Graduate and Undergraduate Students*, 117.
- Hughes, P. C. R. (1982). Morphometric studies of catch-up growth in the rat. In: *Factors and Mechanisms Influencing Bone Growth*. New York: Alan R. Liss, 433-446.
- Huiskes, R., Ruimerman, R., van Lenthe, G. H., Janssen, J. D. (2000). Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature*, 405(6787), 704-706. doi: 10.1038/35015116.
- Humphrey, J. D., Dufresne, E. R., Schwartz, M. A. (2014). Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(12), 802-812. doi: 10.1038/nrm3896.
- Ighodaro, O. M., Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire anti-oxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Iguichi, H., Kato, K. I., Ibayashi, H. (1982). Age-dependent reduction in serum melatonin concentrations in healthy human subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 55(1), 27-29. doi: 10.1210/jcem-55-1-27.
- Jacobi, S. K., Moeser, A. J., Blikslager, A. T., Rhoads, J. M., Corl, B. A., Harrell, R. J., Odle, J. (2013). Acute effects of rotavirus and malnutrition on intestinal barrier function in neonatal piglets. *World Journal of Gastroenterology*, 19(31), 5094-5102. doi: 10.3748/wjg.v19.i31.5094.
- Järvinen, T. L., Sievänen, H., Jokihaara, J., Einhorn, T. A. (2005). Revival of bone strength: the bottom line. *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(5), 717-720. doi:

10.1359/JBMR.050211.

- Jiang, S. D., Dai, L. Y., Jiang, L. S. (2006). Osteoporosis after spinal cord injury. *Osteoporosis International*, 17(2), 180-192. doi: 10.1007/s00198-005-2028-8.
- John, T. M., Brown, M. C., Wideman, L., Brown, G. M. (1994). Melatonin replacement nullifies the effect of light-induced functional pinealectomy on nociceptive rhythm in the rat. *Physiology & Behavior*, 55(4), 735-739. doi: 10.1016/0031-9384(94)90053-1.
- Kagansky, N., Berner, Y., Koren-Morag, N., Perelman, L., Knobler, H., Levy, S. (2005). Poor nutritional habits are predictors of poor outcome in very old hospitalized patients. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(4), 784-791; quiz 913-914. doi: 10.1093/ajcn/82.4.784.
- Kamalu, B. P. (1993). Pathological changes in growing dogs fed on a balanced cassava (Manihot esculenta Crantz) diet. *British Journal of Nutrition*, 69(3), 921-934. doi: 10.1079/bjn19930092.
- Karsenty, G., Kronenberg, H. M., Settembre, C. (2009). Genetic control of bone formation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 25, 629-648. doi: 10.1146/annurev.cellbio.042308.113308.
- Khosla, S. (2013). Pathogenesis of age-related bone loss in humans. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 68(10), 1226-1235. doi: 10.1093/gerona/gls163
- Klahr, S., Alleyne, G. A. (1973). Effects of chronic protein-calorie malnutrition on the kidney. *Kidney International*, 3(3), 129-141. doi: 10.1038/ki.1973.21.
- Klein-Nulend, J., Bacabac, R. G., Bakker, A. D. (2012). Mechanical loading and how it affects bone cells: the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. *European Cells & Materials*, 24, 278-291. doi: 10.22203/ecm.v024a20.
- Knothe Tate, M. L., Adamson, J. R., Tami, A. E., Bauer, T. W. (2004). The osteocyte. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(1), 1-8. doi: 10.1016/s1357-2725(03)00241-3.
- Kohen, R., Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620-650. doi: 10.1080/01926230290166724.
- Kohrt, W. M., Barry, D. W., Schwartz, R. S. (2009). Muscle forces or gravity: what

- predominates mechanical loading on bone? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 41(11), 2050-2055. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181a8c717.
- Koksal, G., Hulya, G. (2000). Nutritional Therapy in Pediatric Diseases (in Turkish). Ankara, Turkey: Hatiboğlu Publishing, 200-243.
- Koksal, O. (1977). Nutrition in Turkey (Türkiye 1974 Nutrition, Health and Food Consumption Survey). Ankara, Turkey: Unicef Publication, Hacettepe University, 28-36.
- Korhonen, M. T., Heinonen, A., Siekkinen, J., Isolehto, J., Alén, M., Kiviranta, I., Suominen, H. (2012). Bone density, structure and strength, and their determinants in aging sprint athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 44(12), 2340-2349. doi: 10.1249/MSS.0b013e318267c954.
- Koshy, S., Vettivel, S. K. (2001). Varying appearances of calcification in human pineal gland: a light microscopic study. *Journal of the Anatomical Society of India*, 50(1), 17-18.
- Koyama, H., Nakade, O., Takada, Y., Kaku, T., Lau, K. H. (2002). Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(7), 1219-1229. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.7.1219.
- Ladizesky, M. G., Boggio, V., Albornoz, L. E., Castrillón, P. O., Mautalen, C., Cardinali, D. P. (2003). Melatonin increases oestradiol-induced bone formation in ovariectomized rats. *Journal of Pineal Research*, 34(2), 143-151. doi: 10.1034/j.1600-079x.2003.00021.x.
- Lai, Y. M., Qin, L., Yeung, H. Y., Lee, K. K., Chan, K. M. (2005). Regional differences in trabecular BMD and micro-architecture of weight-bearing bone under habitual gait loading--a pQCT and microCT study in human cadavers. *Bone*, 37(2), 274-282. doi: 10.1016/j.bone.2005.04.025.
- Lambert, C., Beck, B. R., Harding, A. T., Watson, S. L., Weeks, B. K. (2020). Regional changes in indices of bone strength of upper and lower limbs in response to high-intensity impact loading or high-intensity resistance training. *Bone*, 132, 115192. doi: 10.1016/j.bone.2019.115192.
- Landrigan, M. D., Li, J., Turnbull, T. L., Burr, D. B., Niebur, G. L., Roeder, R. K. (2011).

- Contrast-enhanced micro-computed tomography of fatigue microdamage accumulation in human cortical bone. *Bone*, 48(3), 443-450. doi: 10.1016/j.bone.2010.10.160.
- Lang, T., LeBlanc, A., Evans, H., Lu, Y., Genant, H., Yu, A. (2004). Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *Journal of Bone and Mineral Research*, 19(6), 1006-1012. doi: 10.1359/JBMR.040307.
- Lau, R. Y., Guo, X. (2011). A review on current osteoporosis research: with special focus on disuse bone loss. *Journal of Osteoporosis*, 2011, 293808. doi: 10.4061/2011/293808.
- Leandro-Merhi, V. A., Dos Santos, H. A. V., Almendra, A. A. R., de Aquino, J. L. B. (2023). Nutritional indicators' performance in malnutrition diagnosis of hospitalized elderly patients. *Experimental Gerontology*, 3, 181, 112286. doi: 10.1016/j.exger.2023.112286.
- Legiran, S., Brandi, M. L. (2012). Bone mass regulation of leptin and postmenopausal osteoporosis with obesity. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 9(3), 145-149. Epub 2012 Dec 20. PMID: 23289027; PMCID: PMC3536002.
- Leite, S. N., Jordão Júnior, A. A., Andrade, T. A., Masson Ddos, S., Frade, M. A. (2011). Experimental models of malnutrition and its effect on skin trophism. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(4), 681-688. English, Portuguese. doi: 10.1590/s0365-05962011000400009.
- Lespessailles, E., Hambli, R., Ferrari, S. (2016). Osteoporosis drug effects on cortical and trabecular bone microstructure: A review of HR-pQCT analyses. *BoneKEy Reports*, 5, 836. doi: 10.1038/bonekey.2016.59.
- Licata, A. (2009). Bone density vs bone quality: what's a clinician to do? *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 76(6), 331-336. doi: 10.3949/ccjm.76a.08041.
- Lissoni, P., Barni, S., Tancini, G., Brivio, F., Tisi, E., Zubelewicz, B., Braczkowski, R. (1994). Role of the pineal gland in the control of macrophage functions and its possible implication in cancer: a study of interactions between tumor necrosis factor- α and the pineal hormone melatonin. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 8(4), 126-129. PMID: 7660855.
- Lissoni, P., Tisi, E., Brivio, F., Ardizzioia, A., Crispino, S., Barni, S., Tancini, G., Conti, A., Maestroni, G. J. (1991). Modulation of interleukin-2-induced macrophage activation

in cancer patients by the pineal hormone melatonin. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 5(4), 154-156. PMID: 1803863.

- Liu, H. D., Ren, M. X., Li, Y., Zhang, R. T., Ma, N. F., Li, T. L., Jiang, W. K., Zhou, Z., Yao, X. W., Liu, Z. Y., Yang, M. (2022). Melatonin alleviates hydrogen peroxide induced oxidative damage in MC3T3-E1 cells and promotes osteogenesis by activating SIRT1. *Free Radical Research*, 56(1), 63-76. doi: 10.1080/10715762.2022.2037580.
- Liu, X. S., Zhang, X. H., Sekhon, K. K., Adams, M. F., McMahon, D. J., Bilezikian, J. P., Shane, E., Guo, X. E. (2010). High-resolution peripheral quantitative computed tomography can assess microstructural and mechanical properties of human distal tibial bone. *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(4), 746-56. doi: 10.1359/jbmr.090822.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-126. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- López-Alarcón, C., Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1-10. doi: 10.1016/j.aca.2012.11.051.
- Lykke, M., Hother, A. L., Hansen, C. F., Friis, H., Mølgaard, C., Michaelsen, K. F., Briend, A., Larsen, T., Sangild, P. T., Thymann, T. (2013). Malnutrition induces gut atrophy and increases hepatic fat infiltration: studies in a pig model of childhood malnutrition. *American Journal of Translational Research*, 5(5), 543-554. PMID: 23977413; PMCID: PMC3745441.
- Machida, M., Dubousset, J., Imamura, Y., Iwaya, T., Yamada, T., Kimura, J. (1993). An experimental study in chickens for the pathogenesis of idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*, 18(12), 1609-1615. doi: 10.1097/00007632-199309000-00007
- Machida, M., Dubousset, J., Imamura, Y., Iwaya, T., Yamada, T., Kimura, J. (1995). Role of melatonin deficiency in the development of scoliosis in pinealectomised chickens. *Journal of bone and joint surgery: British volume*, 77(1), 134-138. PMID: 7822371.
- Maestroni, G. J., Conti, A., Pierpaoli, W. (1986). Role of the pineal gland in immunity. Circadian synthesis and release of melatonin modulates the antibody response and antagonizes the immunosuppressive effect of corticosterone. *Journal of*

Neuroimmunology, 13(1), 19-30. doi: 10.1016/0165-5728(86)90047-0.

- Maestroni, G. J., Conti, A., Pierpaoli, W. (1987). Role of the pineal gland in immunity: II. Melatonin enhances the antibody response via an opiate mechanism. *Clinical and Experimental Immunology*, 68(2), 384-391. PMID: 3308215; PMCID: PMC1542725.
- Maestroni, G. J., Conti, A., Pierpaoli, W. (1988). Role of the pineal gland in immunity. III. Melatonin antagonizes the immunosuppressive effect of acute stress via an opiate mechanism. *Immunology*, 63(3), 465-9. PMID: 3350581; PMCID: PMC1454741.
- Maestroni, G. J., Sulli, A., Pizzorni, C., Villaggio, B., Cutolo, M. (2002). Melatonin in rheumatoid arthritis: synovial macrophages show melatonin receptors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 966, 271-275. doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04226.x.
- Maria, S., Witt-Enderby, P. A. (2014). Melatonin effects on bone: potential use for the prevention and treatment for osteopenia, osteoporosis, and periodontal disease and for use in bone-grafting procedures. *Journal of Pineal Research*, 56(2), 115-125. doi: 10.1111/jpi.12116.
- Marieb, E. N., Hoehn, K. (2013). Human Anatomy & Physiology: Pearson New International Edition Pearson Education Limited. ISBN1292038888, 9781292038889.
- Markova, M., Adamekova, E., Kubatka, P., Bojkova, B., Ahlersova, E., Ahlers, I. (2003). Effect of prolonged melatonin administration on metabolic parameters and organ weights in young male and female Sprague-Dawley rats. *Acta Veterinaria Brno*, 72, 163-173. doi: 10.2754/avb200372020163.
- Marseglia, L., D'Angelo, G., Manti, S., Reiter, R. J., Gitto, E. (2016). Potential utility of melatonin in preeclampsia, intrauterine fetal growth retardation, and perinatal asphyxia. *Reproductive Sciences*, 23(8), 970-7. doi: 10.1177/1933719115612132.
- Martin, R. M., Correa, P. H. (2010). Bone quality and osteoporosis therapy. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 54(2), 186-199. doi: 10.1590/s0004-27302010000200015.
- Matsuo, K., Irie, N. (2008). Osteoclast-osteoblast communication. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 473(2), 201-9. doi: 10.1016/j.abb.2008.03.027.
- Matsusaka, K., Kawakami, G., Kamekawa, H., Momma, H., Nagatomi, R., Itoh, J., Yamaya, M. (2018). Pneumonia risks in bedridden patients receiving oral care and

- their screening tool: Malnutrition and urinary tract infection-induced inflammation. *Geriatrics & Gerontology International*, 18(5), 714-722. doi: 10.1111/ggi.13236.
- McLaren, D. S., Pellett, P. L., Read, W. W. (1967). A simple scoring system for classifying the severe forms of protein-calorie malnutrition of early childhood. *Lancet*, 1(7489), 533-535. doi: 10.1016/s0140-6736(67)92113-7.
- Mello, A. S., de Oliveira, D. C., Bizzarro, B., Sá-Nunes, A., Hastreiter, A. A., Beltran, J. S., Xavier, J. G., Borelli, P., Fock, R. A. (2014). Protein malnutrition alters spleen cell proliferation and IL-2 and IL-10 production by affecting the STAT-1 and STAT-3 balance. *Inflammation*, 37(6), 2125-2138. doi: 10.1007/s10753-014-9947-5.
- Miller, J. P., German, R. Z. (1999). Protein malnutrition affects the growth trajectories of the craniofacial skeleton in rats. *The Journal of Nutrition*, 129(11), 2061-2069. doi: 10.1093/jn/129.11.2061.
- Mosekilde, L., Ebbesen, E. N., Tornvig, L., Thomsen, J. S. (2000). Trabecular bone structure and strength - remodelling and repair. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 1(1), 25-30. PMID: 15758521.
- Murariu, R. V., Macovei, L. A., Brujbu, I. C. (2013). Osteoporosis in rheumatoid arthritis. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 117(2), 394-403. PMID: 24340522.
- Murodumi, H., Shigeishi, H., Kato, H., Yokoyama, S., Sakuma, M., Tada, M., Ono, S., Rahman, M. Z., Ohta, K., Takechi, M. (2020). Melatonin-induced miR-181c-5p enhances osteogenic differentiation and mineralization of human jawbone-derived osteoblastic cells. *Molecular Medicine Reports*, 22(4), 3549-3558. doi: 10.3892/mmr.2020.11401.
- Müller, O., Krawinkel, M. (2005). Malnutrition and health in developing countries. *Canadian Medical Association Journal*, 173(3), 279-286. doi: 10.1503/cmaj.050342
- Nakade, O., Koyama, H., Ariji, H., Yajima, A., Kaku, T. (1999). Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. *Journal of Pineal Research*, 27(2), 106-110. doi: 10.1111/j.1600-079x.1999.tb00603.x.
- Nakamoto, T., Miller, S. A. (1979). Physical and biochemical changes of the mandible and long bone in protein-energy malnourished newborn rats. *The Journal of Nutrition*, 109(8), 1477-1482. doi: 10.1093/jn/109.8.1477.

- Nakashima, T., Hayashi, M., Fukunaga, T., Kurata, K., Oh-Hora, M., Feng, J. Q., Bonewald, L. F., Kodama, T., Wutz, A., Wagner, E. F., Penninger, J. M., Takayanagi, H. (2011). Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nature Medicine*, 17, 1231-1234. doi:10.1038/nm.2452
- Nakashima, T., Hayashi, M., Takayanagi, H. (2012). New insights into osteoclastogenic signaling mechanisms. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 23, 582–590. doi:10.1016/j.tem.2012.05.005
- National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. (1995). Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995. Washington (DC): National Academies Press (US). PMID: 25121259.
- Nguyen, J., Tang, S. Y., Nguyen, D., Alliston, T. (2013). Load regulates bone formation and Sclerostin expression through a TGF β -dependent mechanism. *PLoS One*, 8(1), e53813. doi: 10.1371/journal.pone.0053813.
- NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. (2001). Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*, 285(6), 785-795. doi: 10.1001/jama.285.6.785.
- Nordin, M., Frankel, V. H. (2012). Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System. 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. ISBN 978-1-60913-335-1.
- Oliveira, D. C. D., Hastreiter, A. A., Borelli, P., Fock, R. A. (2016). The influence of protein malnutrition on the production of GM-CSF and M-CSF by macrophages. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 375-382. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502016000300003>.
- Ortiz, R., Cortés, L., Cortés, E., Medina, H. (2009). Malnutrition alters the rates of apoptosis in splenocytes and thymocyte subpopulations of rats. *Clinical and Experimental Immunology*, 155(1), 96-106. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03796.x.
- Ortiz, R., Cortés, L., Pérez, L., Gonzalez, C., Betancourt, M. (1996). Assessment of an experimental method to induce malnutrition by food competition during lactation. *Med Science Research*, 24, 843-846.
- Osta, B., Benedetti, G., Miossec, P. (2014). Classical and paradoxical effects of TNF- α on bone homeostasis. *Frontiers in Immunology*, 5, 48. doi: 10.3389/fimmu.2014.00048
- Ostrowska, Z., Kos-Kudla, B., Marek, B., Kajdaniuk, D., Ciesielska-Kopacz, N. (2002a).

- The relationship between the daily profile of chosen biochemical markers of bone metabolism and melatonin and other hormone secretion in rats under physiological conditions. *Neuroendocrinology Letters*, 23(5-6), 417-425. PMID: 12500163
- Ostrowska, Z., Kos-Kudla, B., Marek, B., Kajdaniuk, D., Staszewicz, P., Szapska, B., Strzelczyk, J. (2002b). The influence of pinealectomy and melatonin administration on the dynamic pattern of biochemical markers of bone metabolism in experimental osteoporosis in the rat. *Neuroendocrinology Letters*, 23 Suppl 1, 104-109. PMID: 12019362.
- Ostrowska, Z., Kos-Kudla, B., Nowak, M., Swietochowska, E., Marek, B., Gorski, J., Kajdaniuk, D., Wolkowska, K. (2003). The relationship between bone metabolism, melatonin and other hormones in sham-operated and pinealectomized rats. *Endocrine Regulations*, 37(4), 211-224. PMID: 15106818.
- Ozalp, I. (1999). Treatment and follow-up of cases with severe protein energy malnutrition. *Katkı Pediatri Dergisi*, 20, 550-562.
- Ozalp, I., Coskun, T. (1991). Protein energy malnutrition (in Turkish). In: Tunçbilek, E., Yurdakok, M., Yigit, S. (Editors). 2. edition. Ankara: Yeniçağ Publishing, 105-517.
- Ozen, H. (2005). Malnutrition and nutrition (in Turkish). *Türkiye Klinikleri*, 8, 103-106.
- Ozkaya, M. S., Gundogdu, A., Seyran, M., Hindistan, I. E., Pamuk, O., Ozkaya, Y. G. (2014). Effect of exogenous melatonin administration on pain threshold in exercise trained rats under light-induced functional pinealectomy. *Biological Rhythm Research*, 45(6), 849-859, doi: 10.1080/09291016.2014.923619.
- Palacios, C. (2006). The role of nutrients in bone health, from A to Z. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 621-628. doi: 10.1080/10408390500466174.
- Pettersson, U., Nilsson, M., Sundh, V., Mellström, D., Lorentzon, M. (2010). Physical activity is the strongest predictor of calcaneal peak bone mass in young Swedish men. *Osteoporosis International*, 21(3), 447-455. doi: 10.1007/s00198-009-0982-2
- Ping, Z., Wang, Z., Shi, J., Wang, L., Guo, X., Zhou, W., Hu, X., Wu, X., Liu, Y., Zhang, W., Yang, H., Xu, Y., Gu, Y., Geng, D. (2017). Inhibitory effects of melatonin on titanium particle-induced inflammatory bone resorption and osteoclastogenesis via suppression of NF- κ B signaling. *Acta Biomaterialia*, 62, 362-371, doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.046.

- Pires, L. A. S., Junior, A. F., Chagas, C. A. A., Manaia, J. H. M., Gameiro, V. S., Babinski, M. A. (2020). Maternal undernutrition during lactation leads to reduction in skull size and thickness of adult-aged Wistar rats. *Archives of Medical Science*, 17(4), 1093-1099. doi: 10.5114/aoms.2020.92433.
- Pisoschi, A. M., Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- Pitukcheewanont, P., Safani, D. (2006). Extremely low-level, short-term mechanical stimulation increases cancellous and cortical bone density and muscle mass of children with low bone density: a pilot study. *The Endocrinologist*, 16(3), 128–132. doi: 10.1097/01.ten.0000217885.60398.27.
- Poljsak, B., Jamnik, P., Raspor, P., Pesti, M. (2011). Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution. In: Jerome, N. (Editor). *Encyclopedia of Environmental Health*. Elsevier, 300-306. doi: 10.1016/B978-0-444-52272-6.00679-6.
- Pond, W. G., Ellis, K. J., Schoknecht, P. (1992). Response of blood serum constituents to production of and recovery from a kwashiorkor-like syndrome in the young pig. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 200(4), 555-561. doi: 10.3181/00379727-200-43470.
- Popp, A. W., Buffat, H., Eberli, U., Lippuner, K., Ernst, M., Richards, R. G., Stadelmann, V. A., Windolf, M. (2014). Microstructural parameters of bone evaluated using HR-pQCT correlate with the DXA-derived cortical index and the trabecular bone score in a cohort of randomly selected premenopausal women. *PLoS One*, 9(2), e88946. doi: 10.1371/journal.pone.0088946.
- Prader, A., Tanner, J. M., von Harnack, G. A. (1963). Catch-up growth following illness or starvation. An example of developmental canalization in man. *The Journal of Pediatric*, 62, 646-659. doi: 10.1016/s0022-3476(63)80035-9.
- Preidis, G. A., Keaton, M. A., Campeau, P. M., Bessard, B. C., Conner, M. E., Hotez, P. J. (2014). The undernourished neonatal mouse metabolome reveals evidence of liver and biliary dysfunction, inflammation, and oxidative stress. *The Journal of Nutrition*, 144(3), 273-281. doi: 10.3945/jn.113.183731.

- Pucciarelli, H. M., Oyhenart, E. E. (1987). Effects of maternal food restriction during lactation on craniofacial growth in weanling rats. *American Journal of Physical Anthropology*, 72(1), 67-75. doi: 10.1002/ajpa.1330720109
- Quarles, L. D. (2008). Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *Journal of Clinical Investigation*, 118(12), 3820-3828. doi: 10.1172/JCI36479.
- R J, M., A, V., Chakraborty, A., B, M. K., Shetty, A V., Badanthadka, M. (2023). Protein malnutrition in BALB/C mice: A model mimicking clinical scenario of marasmic-kwashiorkor malnutrition. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 119, 107231. doi: 10.1016/j.vascn.2022.107231.
- Raggatt, L. J., Partridge, N. C. (2010). Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *Journal of Biological Chemistry*, 285(33), 25103-25108. doi: 10.1074/jbc.R109.041087.
- Rana, S., Gupta, D., Malik, A., Katyal, R., Mehta, S. K. (1995). Mild-to-moderate malnutrition and small intestine of young rhesus monkeys. *Nutrition*, 11(3), 292-295. PMID: 8541700.
- Rana, S. V., Gupta, D., Katyal, R., Singh, K. (2001). Mild-to-moderate malnutrition alters glutathione, gamma-glutamyl-transpeptidase and glycine uptake in small intestinal brush-border vesicles of rhesus monkeys. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 45(4), 143-147. doi: 10.1159/000046721.
- Rana, S. V., Gupta, D., Vaiphei, K., Bhardwaj, S., Mehta, S. K. (1995). Effect of mild malnutrition on disaccharidase activity and glucose uptake in intestinal brush border vesicles of growing monkeys. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 30(5), 451-455. doi: 10.3109/00365529509093306.
- Reis, J., Capelae Silva, F., Queiroga, M., Lucena, S., Potes, J. (2011). Bone mechanotransduction: a review. *Journal of Biomedical and Bioengineering*, 2.1, 37-44.
- Reiter, R. J., Acuña-Castroviejo, D., Tan, D. X., Burkhardt, S. (2001). Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 939, 200-215. PMID: 11462772.
- Reiter, R. J., Calvo, J. R., Karbownik, M., Qi, W., Tan, D. X. (2000). Melatonin and its

- relation to the immune system and inflammation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 917, 376-386, doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05402.x.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Fuentes-Broto, L. (2010). Melatonin: a multitasking molecule. *Progress in Brain Research*, 181, 127-151. doi: 10.1016/S0079-6123(08)81008-4.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Rosales-Corral, S., Manchester, L. C. (2013). The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 373-384. doi: 10.2174/1389557511313030006.
- Ren, M., Liu, H., Jiang, W., Zhou, Z., Yao, X., Liu, Z., Ma, N., Chen, B., Yang, M. (2023). Melatonin repairs osteoporotic bone defects in iron-overloaded rats through PI3K/AKT/GSK-3 β /P70S6k signaling pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, 7718155. doi: 10.1155/2023/7718155.
- Ren, W., Liu, G., Chen, S., Yin, J., Wang, J., Tan, B., Wu, G., Bazer, F. W., Peng, Y., Li, T., Reiter, R. J., Yin, Y. (2017). Melatonin signaling in T cells: Functions and applications. *Journal of Pineal Research*, 62(3). doi: 10.1111/jpi.12394.
- Reppert, S. M., Weaver, D. R., Godson, C. (1996). Melatonin receptors step into the light: cloning and classification of subtypes. *Trends in Pharmacological Sciences*, 17(3), 100-2. doi: 10.1016/0165-6147(96)10005-5.
- Rho, J. Y., Kuhn-Spearing, L., Zioupos, P. (1998). Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics*, 20(2), 92-102. doi: 10.1016/s1350-4533(98)00007-1.
- Rice, A. L., Sacco, L., Hyder, A., Black, R. E. (2000). Malnutrition as an underlying cause of childhood deaths associated with infectious diseases in developing countries. *Bulletin of the World Health Organization*, 78(10), 1207-1221. PMID: 11100616; PMCID: PMC2560622.
- Risteli, L., Risteli, J. (1993). Biochemical markers of bone metabolism. *Annals of Medical Research*, 25(4), 385-393. doi: 10.3109/07853899309147301.
- Rittweger, J., Felsenberg, D. (2009). Recovery of muscle atrophy and bone loss from 90 days bed rest: results from a one-year follow-up. *Bone*, 44(2), 214-224. doi: 10.1016/j.bone.2008.10.044.
- Rizzoli, R., Bonjour, J. P., Ferrari, S. L. (2001). Osteoporosis, genetics and hormones.

Journal of Molecular Endocrinology, 26(2), 79-94. doi: 10.1677/jme.0.0260079.

- Robling, A. G., Castillo, A. B., Turner, C. H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 8, 455-498. doi: 10.1146/annurev. bioeng.8.061505.095721.
- Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36(1), 1-9. doi: 10.1046/j.1600-079x.2003.00092.x.
- Roth, J. A., Kim, B. G., Lin, W. L., Cho, M. I. (1999). Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *Journal of Biological Chemistry*, 274(31), 22041-2247. doi: 10.1074/jbc.274.31.22041.
- Rytter, M. J., Kolte, L., Briend, A., Friis, H., Christensen, V. B. (2014). The immune system in children with malnutrition-a systematic review. *PLoS One*, 9(8), e105017. doi: 10.1371/journal.pone.0105017.
- Sahai, A., Sahai, R J. (2013). Pineal gland: a structural and functional enigma. *Journal of the Anatomical Society of India*, 62(2), 170-177. doi:10.1016/j.jasi.2014.01.001.
- Sandhu, S. K., Hampson, G. (2011). The pathogenesis, diagnosis, investigation and management of osteoporosis. *Journal of Clinical Pathology*, 64(12), 1042-1050. doi: 10.1136/jcp.2010.077842.
- Santos, M J. S., Canuto, K. M., de Aquino, C. C., Martins, C. S., Brito, G. A. C., Pessoa, T. M. R. P., Bertolini, L. R., de Sá Carneiro, I., Pinto, D. V., Nascimento, J. C. R., da Silva, B. B., Valença, J. T. Jr., Guedes, M. I. F., Owen, J. S., Oriá, R. B. (2020). A Brazilian regional basic diet-induced chronic malnutrition drives liver inflammation with higher ApoA-I activity in C57BL6J mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 53(6), e9031. doi: 10.1590/1414-431x20209031.
- Santoso, D., Sudiana, K., Yunus, M. (2019). The effect of a low protein diet on the expression of IL-6, TNF- α and TGF- β in the kidney tissue of mice model. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 15(1), 46-52. <https://medic.upm.edu.my/upload/dokumen/2019010811>.
- Schaible, U. E., Kaufmann, S. H. (2007). Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Med*, 4(5), e115. doi: 10.1371/journal.pmed.0040115.
- Scherbaum, V., Fürst, P. (2000). New concepts on nutritional management of severe

- malnutrition: the role of protein. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 3(1), 31-38. doi: 10.1097/00075197-200001000-00006.
- Schneider, S. M., Veyres, P., Pivot, X., Soummer, A. M., Jambou, P., Filippi, J., van Obberghen, E., Hébuterne, X. (2004). Malnutrition is an independent factor associated with nosocomial infections. *British Journal of Nutrition*, 92(1), 105-111. doi: 10.1079/BJN20041152.
- Seeman, E. (2008a). Bone quality: the material and structural basis of bone strength. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 26(1), 1-8. doi: 10.1007/s00774-007-0793-5.
- Seeman, E. (2008b). Structural basis of growth-related gain and age-related loss of bone strength. *Rheumatology (Oxford)*, 47 Suppl 4(Suppl 4), iv2-8. doi: 10.1093/rheumatology/ken177.
- Seeman, E. (2009). Bone modeling and remodeling. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*, 19(3), 219-233. doi: 10.1615/critreveukargeneexpr.v19.i3.40.
- Sener, G. (2010). Hormone of darkness: melatonin (in Turkish). *Marmara Üniversitesi Eczacılık Dergisi (Marmara Pharmaceutical Journal)*, 14, 112-120.
- Sethi, S., Radio, N. M., Kotlarczyk, M. P., Chen, C. T., Wei, Y. H., Jockers, R., Witt-Enderby, P. A. (2010). Determination of the minimal melatonin exposure required to induce osteoblast differentiation from human mesenchymal stem cells and these effects on downstream signaling pathways. *Journal of Pineal Research*, 49(3), 222-238. doi: 10.1111/j.1600-079X.2010.00784.x.
- Shahzad, M., Ahmad, H. A., Ghani, M., Al Nabhani, Z. (2025). Animal models for understanding the mechanisms of malnutrition: a literature review. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1655811. doi: 10.3389/fnut.2025.1655811.
- Shi, S., Kirk, M., Kahn, A. J. (1996). The role of type I collagen in the regulation of the osteoblast phenotype. *Journal of Bone and Mineral Research*, 11(8), 1139-1145. doi: 10.1002/jbmr.5650110813.
- Sikavitsas, V. I., Temenoff, J. S., Mikos, A. G. (2001). Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*, 22(19), 2581-2593. doi: 10.1016/s0142-9612(01)00002-3.
- Srivastava, A. K., Vliet, E. L., Lewiecki, E. M., Maricic, M., Abdelmalek, A., Gluck, O.,

- Baylink, D. J. (2005). Clinical use of serum and urine bone markers in the management of osteoporosis. *Current Medical Research and Opinion*, 21(7), 1015-1026. doi: 10.1185/030079905X49635.
- Stagi, S., Cavalli, L., Cavalli, T., de Martino, M., Brandi, M. L. (2016). Peripheral quantitative computed tomography (pQCT) for the assessment of bone strength in most of bone affecting conditions in developmental age: a review. *Italian Journal of Pediatrics*, 42(1), 88. doi: 10.1186/s13052-016-0297-9.
- Standring, S. (2008). Gray's Anatomy. The Anatomical Basis of Clinical Practice, 40th Edition, Churchill Livingstone: Elsevier. doi:10.1016/s1479-666x(09)80013-9.
- Stockmeier, C. A., Larsen, B. R., Blask, D. E. (1985). Alteration of seizures resulting from pinealectomy in the rat after neonatal treatment with 6-hydroxydopamine. *Journal of Neuroscience Research*, 14(2), 279-284. doi: 10.1002/jnr.490140213.
- Sullivan, D. H., Walls, R. C., Bopp, M. M. (1995). Protein-energy undernutrition and the risk of mortality within one year of hospital discharge: a follow-up study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 43(5), 507-512. doi: 10.1111/j.1532-5415.1995.tb06097.x.
- Sun, X., Xie, Z., Ma, Y., Pan, X., Wang, J., Chen, Z., Shi, P. (2018). TGF- β inhibits osteogenesis by upregulating the expression of ubiquitin ligase SMURF1 via MAPK-ERK signaling. *Journal of Cellular Physiology*, 233(1), 596-606. doi: 10.1002/jcp.25920.
- Suzuki, N., Hattori, A. (2002). Melatonin suppresses osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish. *Journal of Pineal Research*, 33(4), 253-258. doi: 10.1034/j.1600-079x.2002.02953.x.
- Szulc, P., Seeman, E., Duboeuf, F., Sornay-Rendu, E., Delmas, P. D. (2006). Bone fragility: failure of periosteal apposition to compensate for increased endocortical resorption in postmenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Research*, 21(12), 1856-1863. doi: 10.1359/jbmr.060904.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Reiter, R. J. (2016). CSF generation by pineal gland results in a robust melatonin circadian rhythm in the third ventricle as an unique light/dark signal. *Medical Hypotheses*, 86, 3-9. doi: 10.1016/j.mehy.2015.11.018.
- Tan, D. X., Reiter, R. J., Manchester, L. C., Yan, M. T., El-Sawi, M., Sainz, R. M., Mayo, J.

- C., Kohen, R., Allegra, M., Hardeland, R. (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2(2), 181-197. doi: 10.2174/1568026023394443.
- Tan, D. X., Xu, B., Zhou, X., Reiter, R. J. (2018). Pineal calcification, melatonin production, aging, associated health consequences and rejuvenation of the pineal gland. *Molecules*, 23(2), 301. doi: 10.3390/molecules23020301.
- Tapp, E., Huxley, M. (1972). The histological appearance of the human pineal gland from puberty to old age. *The Journal of Pathology*, 108(2), 137-144. doi: 10.1002/path.1711080207.
- Thomas, B., Bishop, J. (2007). *Manual of Dietetic Practice*, 4th edition, Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- Tommasini, S. M., Nasser, P., Hu, B., Jepsen, K. J. (2008). Biological co-adaptation of morphological and composition traits contributes to mechanical functionality and skeletal fragility. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23(2), 236-246. doi: 10.1359/jbmr.071014.
- Toombs, R. J., Ducher, G., Shepherd, J. A., De Souza, M. J. (2012). The impact of recent technological advances on the trueness and precision of DXA to assess body composition. *Obesity (Silver Spring)*, 20(1), 30-39. doi: 10.1038/oby.2011.211.
- Tordjman, S., Chokron, S., Delorme, R., Charrier, A., Bellissant, E., Jaafari, N., Fougere, C. (2017). Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Current Neuropsychopharmacology*, 15(3), 434-443. doi: 10.2174/1570159X14666161228122115.
- Touyz, R. M. (2000). Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Current Hypertension Reports*, 2(1), 98-105. doi: 10.1007/s11906-000-0066-3.
- Travlos, G. S. (2006). Normal structure, function, and histology of the bone marrow. *Toxicologic Pathology*, 34(5), 548-565. doi: 10.1080/01926230600939856.
- Tresguerres, I. F., Tamimi, F., Eimar, H., Barralet, J. E., Prieto, S., Torres, J., Calvo-Guirado, J. L., Tresguerres, J. A. (2014). Melatonin dietary supplement as an anti-aging therapy for age-related bone loss. *Rejuvenation Research*, 17(4), 341-634, doi: 10.1089/rej.2013.1542.
- Turgut, M., Kaplan, S., Metin, K., Koca, Y. B., Soylu, E., Sahin, B., Ateşlier, Z. B.,

- Başaloğlu, H. K. (2006a). Effects of constant lightness, darkness and parachlorophenylalanine treatment on tail regeneration in the lizard *Ophisops elegans macrodactylus*: macroscopic, biochemical and histological changes. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 35(3), 155-161. doi: 10.1111/j.1439-0264.2005.00653.x.
- Turgut, M., Kaplan, S., Turgut, A. T., Aslan, H., Güvenç, T., Cullu, E., Erdogan, S. (2005). Morphological, stereological and radiological changes in pinealectomized chicken cervical vertebrae. *Journal of Pineal Research*, 39(4), 392-399. doi: 10.1111/j.1600-079X.2005.00263.x.
- Turgut, M., Turkkani Tunc, A., Aslan, H., Yazici, A. C., Kaplan, S. (2007). Effect of pinealectomy on the morphology of the chick cervical spinal cord: a stereological and histopathological study. *Brain Research*, 1129(1), 166-173. doi: 10.1016/j.brainres.2006.10.029.
- Turgut, M., Uslu, S., Uysal, A., Yurtseven, M. E., Ustün, H. (2003a). Changes in vascularity of cartilage endplate of degenerated intervertebral discs in response to melatonin administration in rats. *Neurosurgical Review*, 26(2), 133-138. doi: 10.1007/s10143-003-0259-8.
- Turgut, M., Yenisey, C., Akyüz, O., Ozsunar, Y., Erkus, M., Biçakçı, T. (2006b). Correlation of serum trace elements and melatonin levels to radiological, biochemical, and histological assessment of degeneration in patients with intervertebral disc herniation. *Biological Trace Element Research*, 109(2), 123-134. doi: 10.1385/bter:109:2:123.
- Turgut, M., Yenisey, C., Uysal, A., Bozkurt, M., Yurtseven, M. E. (2003b). The effects of pineal gland transplantation on the production of spinal deformity and serum melatonin level following pinealectomy in the chicken. *European Spine Journal*, 12(5), 487-494. doi: 10.1007/s00586-003-0528-9.
- Turner, C. H. (2007). Skeletal adaptation to mechanical loading. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*, 5(4), 181–194. doi:10.1007/s12018-008-9010-x.
- Uslu, S., Uysal, A., Oktem, G., Yurtseven, M., Tanyalçın, T., Başdemir, G. (2007). Constructive effect of exogenous melatonin against osteoporosis after ovariectomy in rats. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 29(5), 317-325. PMID: 17987812

- Veldhuis-Vlug, A. G., Rosen, C. J. (2018). Clinical implications of bone marrow adiposity. *Journal of Internal Medicine*, 283(2), 121-139. doi: 10.1111/joim.12718.
- Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current Pharmaceutical Design*, 10(14), 1677-1694. doi: 10.2174/1381612043384655.
- Viguet-Carrin, S., Garnero, P., Delmas, P. D. (2006). The role of collagen in bone strength. *Osteoporosis International*, 17(3), 319-336. doi: 10.1007/s00198-005-2035-9. Epub 2005 Dec 9. PMID: 16341622.
- Vilter, R. W. (1975). The anaemia. In: Olson, R. E. (Editor). Protein-Calorie Malnutrition. New York: Academic Press, 257-261.
- Vriend, J., Reiter, R. J. (2016). Melatonin, bone regulation and the ubiquitin-proteasome connection: a review. *Life Sciences*, 145, 152–160, doi: 10.1016/j.lfs.2015.12.031.
- Warden, S. J., Burr, D. B., Brukner, P. D. (2006). Stress fractures: pathophysiology, epidemiology, and risk factors. *Current Osteoporosis Reports*, 4(3), 103-109. doi: 10.1007/s11914-996-0029-y.
- Weisstaub, G., Araya, M. (2008). Acute malnutrition in Latin America: the challenge of ending avoidable deaths. *Journal of Pediatric Gastroenterology*, 47 Suppl 1, S10-14. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181818e78.
- Williams, C. D., Oxon, B. M., Lond, H. (1935). Kwashiorkor: a nutritional disease of children associated with a maize diet. *Bulletin of the World Health Organization* 2003, 81(12), 912-913. Epub 2004 Mar 1. PMID: 14997245; PMCID: PMC2572388.
- Wilson, P. N., Osbourn, D. F. (1960). Compensatory growth after undernutrition in mammals and birds. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 35, 324-363. doi: 10.1111/j.1469-185x.1960.tb01327.x.
- Witt-Enderby, P. A., Radio, N. M., Doctor, J. S., Davis, V. L. (2006). Therapeutic treatments potentially mediated by melatonin receptors: potential clinical uses in the prevention of osteoporosis, cancer and as an adjuvant therapy. *Journal of Pineal Research*, 41(4), 297-305. doi: 10.1111/j.1600-079X.2006.00369.x.
- Wolff, J. (1986). The Law of Bone Remodeling. Springer, Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-71031-5>.

- World Health Organization Joint FAO/WHO expert committee on nutrition, third report. (1953). Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40219/1/WHO_TRS_72.
- World Health Organization, United Nations Children's Fund. (2009). WHO child growth standards and the identification of severe acute malnutrition in infants and children. A Joint Statement. Available: http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/9789241598163/en/. Accessed 2014 Aug 5.
- Wu, M., Chen, G., Li, Y. P. (2016). TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Research*, 4, 16009. doi: 10.1038/boneres.2016.9.
- Wykes, L. J., Fiorotto, M., Burrin, D. G., Del Rosario, M., Frazer, M. E., Pond, W. G., Jahoor, F. (1996). Chronic low protein intake reduces tissue protein synthesis in a pig model of protein malnutrition. *The Journal of Nutrition*, 126(5), 1481-1488. doi: 10.1093/jn/126.5.1481.
- Yakar, S., Rosen, C. J., Beamer, W. G., Ackert-Bicknell, C. L., Wu, Y., Liu, J. L., Ooi, G. T., Setser, J., Frystyk, J., Boisclair, Y. R., LeRoith, D. (2002). Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(6), 771-781. doi: 10.1172/JCI15463.
- Yamashita, J., Li, X., Furman, B. R., Rawls, H. R., Wang, X., Agrawal, C. M. (2002). Collagen and bone viscoelasticity: a dynamic mechanical analysis. *Journal of Biomedical Materials Research*, 63(1), 31-36. doi: 10.1002/jbm.10086. PMID: 11787026.
- Yavropoulou, M. P., Yovos, J. G. (2008). Osteoclastogenesis-current knowledge and future perspectives. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 8(3), 204-316. PMID: 18799853.
- Zagra, A., Lamartina, C., Pace, A., Ramondetta, V., Vercellesi, E. (1990). Computer-assisted tomography of scoliosis operated with or without Harrington's rod. Biomechanics aspects of the fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*, 15(8), 796-802. PMID: 2237629.
- Zarezadeh, M., Khorshidi, M., Emami, M., Janmohammadi, P., Kord-Varkaneh, H., Mousavi, S. M., Mohammed, S. H., Saedisomeolia, A., Alizadeh, S. (2020).

Melatonin supplementation and pro-inflammatory mediators: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *European Journal of Nutrition*, 59(5), 1803-1813. doi: 10.1007/s00394-019-02123-0.

Zhang, J., Jia, G., Xue, P., Li, Z. (2021). Melatonin restores osteoporosis-impaired osteogenic potential of bone marrow mesenchymal stem cells and alleviates bone loss through the HGF/PTEN/Wnt/ β -catenin axis. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 12, 2040622321995685. doi: 10.1177/2040622321995685.

Zhang, L., Zhang, J., Ling, Y., Chen, C., Liang, A., Peng, Y., Chang, H., Su, P., Huang, D. (2013). Sustained release of melatonin from poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres to induce osteogenesis of human mesenchymal stem cells in vitro. *Journal of Pineal Research*, 54(1), 24-32. doi: 10.1111/j.1600-079X.2012.01016.x.

Zhdanova, I. V., Wurtman, R. J. (2005). The pineal hormone (melatonin). In: Melmed, S., Conn, P. M. (Editors). *Endocrinology*. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-829-8_16.

Zou, Z., Liu, W., Cao, L., Liu, Y., He, T., Peng, S., Shuai, C. (2020). Advances in the occurrence and biotherapy of osteoporosis. *Biochemical Society Transactions*, 48(4), 1623-1636. doi: 10.1042/BST20200005.

Zyga, S., Christopoulou, G., Malliarou, M. (2011). Malnutrition-inflammation-atherosclerosis syndrome in patients with end-stage renal disease. *Journal of Renal Care*, 37(1), 12-15. doi: 10.1111/j.1755-6686.2011.00201.x.

EKLER



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın 22/06/2023

Oturum	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2023 Yılı VI. Oturum
Sayı	: 64583101/2023/95
Proje Başlığı	: Wistar Albino Sıçan Neonatal Malnütrisyon Modelinde Fonksiyonel Pinealektomi ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Kemik Doku Gelişimi ve Morfolojisi Üzerine Olan Uzun Süreli Etkilerinin Değerlendirilmesi
Proje Yürütücüsü	: Recep KUTLUBAY
Proje Ekibi	: Ali Çağlar TURGUT, Yiğit UYANIKGİL, Ebru EROĞLU, Alparslan ÜNSAL, Ayça TUZCU, Mahmut PEKEDİŞ

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde

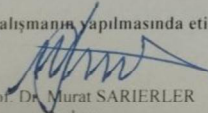
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması

İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması

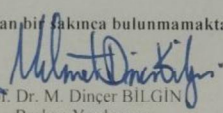
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması	İnsanlarda araştırma
	İnsan olmayan primatların kullanılması
	Transgenik hayvanların kullanılması
	Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

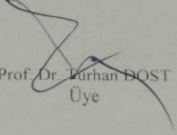
Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.



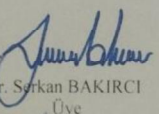
Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan



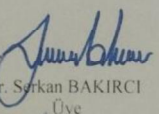
Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı



Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

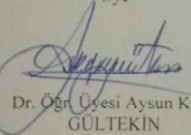


Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

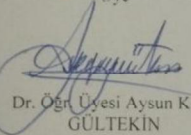


Prof. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

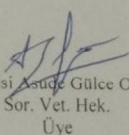
Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN
Üye (İzinli)



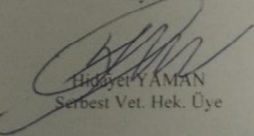
Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ
Üye



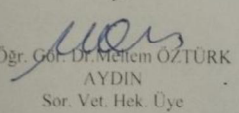
Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ GÜLTEKİN
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Asude Gülce ORYAŞIN
Sor. Vet. Hek.
Üye



Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye



Öğr. Gör. Dr. Meltem ÖZTÜRK AYDIN
Sor. Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Wistar Albino Sıçan Neonatal Malnütrisyon Modelinde Fonksiyonel Pinealektomi ve Eksojen Melatonin Uygulamasının Kemik Doku Gelişimi ve Morfolojisi Üzerine Olan Uzun Süreli Etkilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı Doktora Tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış olan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise, her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Dr. Ali Çağlar TURGUT

...../...../.....

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Ali Çağlar Turgut
Uyruk : T. C.
Doğum yeri ve tarihi : Aydın, 08.04.1996
Telefon : 0.507.0344734
E-mail : alicaglar304.at@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	-	
Y. Lisans	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (İngilizce)	2020
Lisans	-	
Lise	Denizli Erbakır Fen Lisesi	2014

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

1. “*Morchella spp.'nin Akrep Zehri Üzerindeki Etkilerinin Deneysel Araştırması*”.
Acıbadem Üniversitesi “Fikrine Sağlık” Proje Yarışması 2012-2013'te Türkiye
İkinciliği Ödülü

2. Memorial Sloan Kettering Kanser Merkezi (MSK) Radyoloji Bölümü Vücut Görüntüleme Servisi (New York, ABD)'de 5 Ağustos 2024 - 30 Ağustos 2024 tarihleri arasında “Gözlemci” görevi
3. Avrupa Radyoloji Kurulu (EDIR) tarafından verilen Avrupa Radyoloji Diploması Sertifikası, 17 Mayıs 2025

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Unvan
2020-2021	Aydın Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi	Dr.
2021- ...	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı	Arş. Gör. Dr.

AKADEMİK YAYINLAR

1. KİTAP BÖLÜMLERİ

1. Tomruk, C., Şirin, C., Kılıç, K. D., Derin, O., Çelik, S., Turgut, A. Ç., Uyanıkgil, Y. (2023). Histogenesis and developmental disorders of the corpus callosum. In: Turgut, M., Tubbs, R. S., Turgut, A. T., Bui, C. C. J. The Corpus Callosum: Embryology, Neuroanatomy, Neurophysiology, Neuropathology, and Surgery. Springer Nature Switzerland AG, pp. 25-34.
2. Çelik, S., Bilge, O., Derin, O., Gülcan, M., Tomruk, C., Turgut, A. Ç. (2023). Morphological anatomy of the corpus callosum. In: Turgut, M., Tubbs, R. S., Turgut, A. T., Bui, C. C. J. The Corpus Callosum: Embryology, Neuroanatomy, Neurophysiology, Neuropathology, and Surgery. Springer Nature Switzerland AG, pp. 35-47.

3. Ercan, F., Turgut, A. Ç., Köylüoğlu, F. (2023). Prenatal diagnosis of anomalies of the corpus callosum with three-dimensional ultrasound, transvaginal sonography, and fetal MRI. In: Turgut, M., Tubbs, R. S., Turgut, A. T., Bui, C. C. J. *The Corpus Callosum: Embryology, Neuroanatomy, Neurophysiology, Neuropathology, and Surgery*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 117-120.
4. Acer, N., Turgut, A. Ç., Tokpınar, A. (2023). Volume measurements of the corpus callosum volume using MRI. In: Turgut, M., Tubbs, R. S., Turgut, A. T., Bui, C. C. J. *The Corpus Callosum: Embryology, Neuroanatomy, Neurophysiology, Neuropathology, and Surgery*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 121-127.
5. Kılıç, K. D., Orif, S. E., Turgut, A. Ç., Çelik, S., Uyanıkgil, S. (2025). Developmental anatomy and histology of the scalp and calvarium. In: Turgut, M., Akhaddar, A., Turgut, A. T., Walter, W. A. *Lesions of the Scalp and Cranial Vault: State-of-the-Art Concepts*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 41-67.
6. Turgut, A. Ç., Kılıç, K. D., Orif, S. E., Kılıç, E. M., Ercan, F., Nejat, F. (2025). Craniopagus conjoined twins. In: Turgut, M., Akhaddar, A., Turgut, A. T., Walter, W. A. *Lesions of the Scalp and Cranial Vault: State-of-the-Art Concepts*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 141-163.
7. Kılıç, K. D., Turgut, A. Ç., Özyazıcı, A. T. (2025). Relationship of melatonin with the hippocampus. In: Turgut, M., Acer, N., Turgut, A. T., Di Rocco, C. *The Human Hippocampus: Development, Neuroanatomy, Neurophysiology, Neuropathology and Surgery*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 269-305.
8. Turgut, A. Ç., Savaş, R. (2025). Kronik obstrüktif akciğer hastalığı radyolojisi. Şen, E., Polatlı, M. (Eds.), *KOAH'da Yeni Kavramlar ve Güncel Tartışmalar*, Türk Toraks Derneği, Sayı 43 (Ağustos), sayfa: 259-278.
9. Turgut, A. Ç., Eraslan, C., Tubbs, R. S. (2026). Neuroimaging of ligaments of the craniocervical junction. In: Turgut, M., Tubbs, R. S., Turgut, A. T., Iwanaga, J., Guo, F. *Ligaments of the Vertebral Column: Embryology, Neuroanatomy, Function, Imaging, and Management*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 113-138.
10. Turgut, A. Ç., Eraslan, C., Guo, F. (2026). Neuroimaging of ligaments of the subaxial cervical, thoracic and lumbosacral spine. In: Turgut, M., Tubbs, R. S., Turgut, A. T., Iwanaga, J., Guo, F. *Ligaments of the Vertebral Column: Embryology, Neuroanatomy, Function, Imaging, and Management*. Springer Nature Switzerland AG, pp. 139-165.

2. MAKALELER

1. Turgut, A. Ç., Turgut, Y. B., Turgut, M. (2016). Neurological disease of Şehzade Cihangir in the Ottoman history: spinal dysraphism. *Childs Nervous System*, 32(5), 765-767. doi: 10.1007/s00381-015-2965-2.
2. Turgut, A. Ç., Turgut, Y. B., Turgut, M. (2016). Murder of Şehzade Mustafa as an ordinary but very painful event in terms of the Ottoman history. *Childs Nervous System*, 32(8), 1345-8. doi: 10.1007/s00381-015-2882-4.
3. Turgut, A. Ç., Turgut, Y. B., Turgut, M. (2018). The legend of Medusa with snake hair in Didymaion, in Didyma, Turkey. *Childs Nervous System*, 34(12), 2341-2344. doi: 10.1007/s00381-017-3511-1.
4. Turgut, A. Ç., Tubbs, R. S., Turgut, M. (2019). Paul Hoffmann (1884-1962 AD) and Jules Tinel (1879-1952 AD), and their legacy to neuroscience: the Hoffmann-Tinel sign. *Childs Nervous System*, 35(5), 733-734. doi: 10.1007/s00381-018-3895-6.
5. Turgut, A. Ç., Tubbs, R. S., Turgut, M. (2019). André Léri (1875-1930 AD) and his legacy to neuroscience. *Childs Nervous System*, 35(8), 1267-1268. doi: 10.1007/s00381-018-3801-2.
6. Turgut, A. Ç., Tubbs, R. S., Turgut, M. (2020). French neurologists Charles Foix and Jean Alfred Émile Chavany and French pediatrician Julien Marie and the Foix-Chavany-Marie syndrome. *Childs Nervous System*, 36(11), 2597-2598. doi: 10.1007/s00381-019-04290-1.
7. Turgut, A. Ç., Hall, W. A., Turgut, M. (2021). Response to Galassi et al. concerning the paper by Turgut et al. "Three mythic giants for common foetal malformation called 'cyclopia': Polyphemus, Tepegöz and Grendel", *Childs Nervous System*, DOI 10.1007/s00381-019-04207-y. *Childs Nervous System*, 37(12), 3667. doi: 10.1007/s00381-021-05388-1.
8. Turgut, A. Ç., Hall, W. A., Turgut, M. (2021). Three mythic giants for common fetal malformation called "cyclopia": Polyphemus, Tepegöz, and Grendel. *Childs Nervous System*, 37(3), 725-726. doi: 10.1007/s00381-019-04207-y.
9. Turgut, A. Ç., Tubbs, R. S., Turgut, M. (2021). Georges Charles Guillain (1876-1961) and Pierre Mollaret (1898-1987) and their legacy to neuroanatomy: the forgotten triangle of Guillain-Mollaret. *Childs Nervous System*, 37(2), 349-350. doi: 10.1007/s00381-018-04033-8.

10. Turgut, A. Ç., Turgut, B. E., Turgut, Y. B. (2021). The Coronavirus (COVID-19) preventive measures proposed by the Fathers of Medicine Hippocrates of Kos (460-370 BC), Ibn Sina (980-1037) and Şerefeddin Sabuncuoğlu (1385-1468). *Childs Nervous System*, 37(12), 3663-3664. doi: 10.1007/s00381-021-05092-0.
11. Turgut, A. Ç., Turgut, B. E., Turgut, Y. B. (2022). Eight thousand-year-old endangered rock-painted drawings in the Sacred Latmos (Beşparmak) mountains hosting Herakleia Ancient City, Turkey and mystical story of Selene and Endymion. *Childs Nervous System*, 38(11), 2037-2042. doi: 10.1007/s00381-022-05462-2.
12. Akdoğan, I., Turgut, A. Ç., Akdoğan, H. D., Turgut, Y. B., Ural, H. A. (2024). The heritage of the children of Asclepius in modern medicine. *Childs Nervous System*, 40(2), 273-276. doi: 10.1007/s00381-023-06082-0.
13. Akdoğan, H. D., Turgut, A. Ç., Hall, W. A. (2024). German-American psychologist Heinrich Klüver (1897-1979) and American neurosurgeon and neuropathologist Paul Clancy Bucy (1904-1992), and their legacy to neurology: "Klüver-Bucy syndrome". *Childs Nervous System*, 40(3), 607-609. doi: 10.1007/s00381-023-06120-x.
14. Turgut, A. Ç., Eraslan, C. (2024). Pioneers of structural cytotectonic maps of the human brain: German anatomist Korbinian Brodmann (1868-1918) and Swedish-American anatomist Olof Larsell (1886-1964). *Childs Nervous System*, 40(6), 1637-1640. doi: 10.1007/s00381-023-06238-y.
15. Turgut, A. Ç., Kutlubay, R. (2024). Soranus of Ephesus (98-138 ad) and his contributions on human embryology, paediatrics and obstetric knowledge. *Childs Nervous System*, 40(4), 969-973. doi: 10.1007/s00381-023-06215-5.
16. Sağiroğlu, S., Şirin, C., Turgut, A. Ç., Tomruk, C., Tuzcu, A., Ertekin, E., Uyanıkgil, Y., Turgut, M. (2024). Investigation of the efficacy of bevacizumab treatment in an experimental rat model of chronic subdural hematoma. *World Neurosurgery*, 189, e272-e286. doi: 10.1016/j.wneu.2024.06.036.
17. Köse, Y., Şirin, C., Turgut, A. Ç., Tomruk, C., Uyanıkgil, Y., Turgut, M. (2024). The neuroprotective effect of exogen melatonin upon fetal hippocampus damage caused by high-dose caffeine administration in pregnant rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 84(3), 251-261. doi: 10.1002/jdn.10323.
18. Akdoğan, I., Akdoğan, H. D., Turgut, A. Ç., Turgut, Y. B. (2025). Can Asclepius in mythology be a role model for today's physicians? *Neurol India*, 73(5), 1104-1106. doi: 10.4103/neurol-india. Neurol-India-D-25-00160.

19. Akdoğan, H. D., Akdoğan, I., Turgut, Y. B., Turgut, A. Ç. (2024). Historical and ethical origin of the medical symbol: Which is the staff and how many snakes? *International Journal of Medical Science and Dental Research*, 7(6):1-7. ISSN: 2581-902X. <https://www.ijmsdr.org>
20. Akdoğan, I., Turgut, A. Ç., Turgut, Y. B., Akdoğan, H. D. (2025). An anatomist Şemseddîn-i Itâki in the seventeenth century and his illustrated handwritten anatomy book: Traditional review. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Ethics*, 33(2), 93-102. doi:10.5336/mdethic.2024-105021.
21. Akdoğan, H. D., Turgut, Y. B., Turgut, A. Ç., Akdoğan, I. (2025). Ancient era hospitals “Asclepions” and their heritage to the day. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 15(1), 14-28. doi:10.31020/mutftd.1483020.
22. Akdoğan, H. D., Turgut, A. Ç., Akdoğan, I. (2025). Were the founders of ancient hospitals asclepions aware of the definition of current health? *International Journal of Research and Review*, 12(11), 64-76. doi: 10.52403/ijrr.20251108.
23. Wang, F., Wei, M., Xu, D., Wang, Z., Yang, J., Lou, Y., Hui, L., Yue, S., Liu, Y., Yang, Z., Zhang, Y., Wei, Y., Gao, Y., Wang, Q., Zhao, S., Guo, X., Wu, J., Wei, Q., Jian, Y., Ji, K., Shan, Q., Liu, J., Jian, L., You, H., Yao, Q., Yao, J., Feng, S., Feng, Q., Fang, D., An, Y., Du, Y., Zhang, M., Zhang, K., Fang, J., Feng, M., Li, M., Song, D., Wang, B., Yin, K., Hu, Y., Zuo, Y., Yu, B., Wang, W., Yuan, R., Turgut, A. Ç., Eraslan, C., Zhang, J., Lazareff, J. A., Guo, F. (2025). Cohort analysis of surgically managed Chiari malformation type 1: real-world data from multi-centres. *Neurosurgical Review*, 49(1), 55. doi: 10.1007/s10143-025-03987-z.
24. Karabulut, A. K., Koska, İ. Ö., Turgut, A. Ç., Kumbaraci, B. S., Kizilay, F., Guler, E. (2026). Radiomics-augmented MRI clear cell likelihood score for reproducible classification of clear cell renal cell carcinoma. *Japanese Journal of Radiology*, (submitted).

3. PROJELER

-

4. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

1. Sağıroğlu, S., Şirin, C., Turgut, A. Ç., Tomruk, C., Tuzcu, A., Ertekin, E., Uyanıkgil, Y., Turgut, M. (2023). Investigation of the efficacy of bevacizumab treatment in an

- experimental rat model of chronic subdural hematoma (abstract). Abstract Book | 18th World Congress of Neurosurgery | Cape Town, South Africa | 4-8 Dec 2023 | Page 42.
2. Turgut, A. Ç. (2025). Spinal dysraphism: Embryology & imaging (oral presentation). Conference Book | The 2025 Annual Meeting of Committee for Nervous System Malformation of Henan Preventive Medicine Association-The Third International Conference of Nervous System Malformation | Luo Yang city, Henan Province, PR China | June 21, 2025 |.
 3. Ekizalioğlu, D. D., Koska, Ö. I., Turgut, A. Ç., Koska, C., Nart, D., Yılmaz Barbet, F., Uğuz, A., Güler, E. Assessment of extrapancreatic perineural invasion in pancreatic ductal adenocarcinoma: Correlation of CT and radiomic features with histopathology and prognostic implications. The Radiological Society of North America (RSNA) 2025 Annual Meeting, Chicago, IL, USA (accepted for presentation).

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

1. Turgut, A. Ç., İpek, E. D., Yurttaş, C., Başaloğlu, H., Çağımın, P., Turgut, M. (2016). Morphometric analysis of atlas and clinical importance. Anatomy 10 (Suppl 2): S184, P-150, 2016 (17th National Anatomy Congress with International Participation, 5-9 September 2016, Eskişehir, Turkey).
4. Cinkooglu, A., Turgut, A. Ç., Bayraktaroglu, S., Ufuk, F., Unat, Ö. S., Köse, T., Savaş, R., Bishop, N. M. (2023). Reduced CT-derived erector spinae muscle area: a poor prognostic factor for short- and long-term outcomes in idiopathic pulmonary fibrosis patients (abstract). Abstract Book| 44th National Congress of Radiology | Antalya, Turkey | 21-25 Dec 2023 | Page 181.
5. Turgut, A. Ç., Yanbol, C., Çınar, C. (2024). Malignite dışı sebeplere bağlı baş-boyun vasküler yaralanmalarında endovasküler tedavi (SS-109). 45. Ulusal Radyoloji Kongresi-TÜRKRAD 2024, Belek, Antalya, Türkiye. 12-16 Kasım 2024.
6. Çınar C, Yanbol C, Turgut AÇ. Malign baş boyun tümörlerine sekonder vasküler yaralanmalarda endovasküler tedavi (SS-108). 45. Ulusal Radyoloji Kongresi-TÜRKRAD 2024, Belek, Antalya, Türkiye. 12-16 Kasım 2024.
7. Ekizalioğlu, D. D., Koska, Ö. I., Turgut, A. Ç., Koska, C., Nart, D., Yılmaz Barbet, F., Uğuz, A., Güler, E. (2025). Pankreas duktal adenokarsinomlu olgularda ekstrapankreatik perinöral invazyonun saptanmasında bilgisayarlı tomografi ve radyomik bulguların histopatolojik bulgular ile korelasyonu ve prognostik rolü. 46.

Ulusal Radyoloji Kongresi-TÜRKRAD 2025, Belek, Antalya, Türkiye. 16 Aralık - 20 Aralık 2025.

5. KATILDIĞI ULUSAL/ULUSLARARASI KONGRELER VEYA KURSLAR

1. “Volume Calculation and Three-Dimensional Modeling in Brain MR Images”, Online course organized by Professor Niyazi Acer, September 20, 2020.
2. “International Symposium of Cellular Therapies and Regenerative Medicine: From Lab Bench to Clinic”, Online Meeting organized by Ege University, 19-20 May 2021, İzmir-Turkey.
3. “International Symposium of Cellular Therapies and Regenerative Medicine: From Lab Bench to Clinic”, Online Meeting organized by Ege University, 21-22 May 2021, İzmir-Turkey.
4. “Medical Malpractice Symposium”, Online Meeting organized by Ordu University and Turaz Scientific Society, 11 December 2021.
5. Online EDIR Training Evaluation of European Board of Radiology (EBR), April, 2022.
6. “International Symposium of Cancer and Stem Cell”, Online Meeting organized by Ege University, 2 December 2023, İzmir-Turkey.
7. Turkish Society of Radiology 44th National Radiology Congress, 21-25 December 2023, Antalya-Turkey.
8. Turkish Society of Radiology 45th National Radiology Congress, 12-16 November 2024, Antalya-Turkey.
9. XIX Balkan Congress of Radiology, October 23-26, 2024, Çeşme, İzmir-Turkey.
10. The 13th European Society of Urogenital Radiology (ESUR)’s Prostate MRI Course, Cambridge, United Kingdom, June 12-14, 2025.
11. Focal Course 2025-International Prostate Imaging and Focal Therapy Course, May 24-25, 2025, Ankara, Turkey.
12. The 2025 Annual Meeting of Committee for Nervous System Malformation of Henan Preventive Medicine Association-The Third International Conference of Nervous System Malformation, 20-24 June, 2025, Luo Yang city, Henan Province, PR China.