



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNSAN OSTEOLAST HÜCRELERİNDE KADMIYUM İLE
OLUŞTURULAN TOKSİSİTEYE KARŞI D VİTAMİNİ VE
HORMONLARIN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYLİN DAL

**DANIŞMAN
PROF. DR. DİDEM TURGUT COŞAN**

2018



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNSAN OSTEOLAST HÜCRELERİNDE KADMIYUM İLE
OLUŞTURULAN TOKSİSİTEYE KARŞI D VİTAMİNİ VE
HORMONLARIN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYLİN DAL

**DANIŞMAN
PROF. DR. DİDEM TURGUT COŞAN**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Aylin DAL'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "İnsan Osteoblast Hücrelerinde Kadmiyum ile Oluşturulan Toksikiteye Karşı D Vitamini ve Hormonların Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "KABUL" edilmiştir.

22.05.2018

Üye : Prof.Dr. Didem TURGUT COŞAN

Üye : Prof.Dr. Hülyam KURT

Üye : Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER

Üye :Doç.Dr. Merih ÖZGEN

Üye : Doç.Dr. Filiz ÖZDEMİR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.05./2018 tarih ve 1195./5787. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü

Özet

Osteoporoz düşük kemik kitlesi gelişimine bağlı olarak kemik mikromimarisinde bozukluk, kemik fragilitesinde ve kırık riskinde artış ile karakterize edilen sistemik bir iskelet sistemi hastalığıdır. Patolojisinde genetik ve çevresel faktörler rol oynadığından dolayı multifaktöriyel bir hastalık olarak değerlendirilmektedir. Endüstri ve sanayide yaşanan gelişmeler hayatımızı kolaylaştırmasına rağmen akut-kronik maruziyetler sonucunda kalıcı ve kalıcı olmayan hasarlar ortaya çıkabilmektedir. Yapılan popülasyon çalışmaları sonucunda endüstrisi ve sanayisi gelişmiş ülkelerin ilerleyen yaş popülasyonlarında, osteoporoz görülme riskinin giderek arttığı görülmektedir.

Kadmiyum, fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı sanayi ve endüstride Sanayi Devrimi'nden bu yana kullanılan bir ağır metaldir. Sanayinin gelişmesine bağlı olarak atıkların çoğalması ve kontrolsüz olarak doğaya salınması kadmiyum maruziyet oranını arttırmaktadır. Çevresel maruziyet düşük dozda ve yavaş olarak gerçekleşirken, mesleki maruziyet yüksek dozda görülmektedir. Kadmiyum, toprak ve havaya kolaylıkla karışabildiğinden dolayı oral yolla veya inhalasyon yolu ile vücuda alınarak çeşitli moleküler mekanizmalarla akciğer, kemik ve böbrek gibi birçok vital organı etkilemektedir. Yapılan bu tez çalışmasında kadmiyumun hedef organları arasında yer alan kemik dokusu hücreleri olan osteoblast hücrelerinde gerçekleşen kadmiyum toksikasyonuna karşı hormonlar (androjen ve östrojen) ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamini etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yapılan çalışmada hFOB 1.19 osteoblast hücrelerine 72 saat CdCl_2 uygulanmasının ardından 72 saat boyunca gruplara 17β -estradiol, 5α -androstan, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamini ve 17β -estradiol+ 5α -androstan+ $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamini uygulanmıştır. Diğer gruplara da 72 saat boyunca 17β -estradiol, 5α -androstan, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamini ve 17β -estradiol+ 5α -androstan+ $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamini uygulanması sonrası 72 saat boyunca CdCl_2 uygulanmıştır. Ardından osteoblast hücrelerinde alkalen fosfataz, androjen reseptör, östrojen reseptör, vitamin D reseptör, osteokalsin ve osteoprotegerin miktarları ile adezyon ve proliferasyonu belirlemek üzere analizler gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonucunda osteoprotegerin ve osteokalsinin miktarlarına bakarak, Cd toksisitesine karşı, 17β -estradiol ve 5α -androstan ile $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitaminin osteoporozda koruyucu ve tedavi edici olabileceği belirlenmiştir. Ayrıca östrojen reseptör ve androjen reseptörün Cd toksisitesine bağlı osteoporoz gelişiminde önemli rol oynayabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelime: Osteoporoz, Kadmiyum, D vitamini, Hormonlar

Summary

Osteoporosis is a systemic skeletal system disease characterized by impaired bone microarchitecture, increased bone fragility and increased fracture risk due to low bone mass development. Because of the role of genetic and environmental factors in pathology, it is considered as a multifactorial disease. Although industrial developments facilitate our lives, permanent and non-permanent damage can occur as a result of acute-chronic exposures. As a result of population studies, the risk of osteoporosis is increasing in the aging populations of industrialized and industrialized countries.

Cadmium is a heavy metal that has been used since the Industrial Revolution in industry and industry due to its physical and chemical properties. Depending on the development of the industry, the proliferation of wastes and uncontrolled release into the environment increases the cadmium exposure rate. Occupational exposure is seen at high doses, while environmental exposure occurs at low doses and slowly. Since cadmium can easily mix with soil and air, it is taken orally or by inhalation to affect many vital organs such as lung, bone and kidney by various molecular mechanisms. In this thesis, it is aimed to evaluate the effects of 1,25 (OH) 2D vitamins and hormones (androgen and estrogen) against cadmium toxication in osteoblast cells, which are the bone tissue cells of cadmium target organs.

In the study, 17 β -estradiol, 5 α -androstane, 1,25(OH)₂D vitamin and 17 β -estradiol + 5 α -androstane + 1,25 (OH)₂D vitamin were administered to the groups for 72 hours after 72 hours of CdCl₂ administration to hFOB 1.19 osteoblast cells. Other groups received CdCl₂ for 72 hours after 17 β -estradiol, 5 α -androstane, 1,25(OH)₂D vitamin and 17 β -estradiol + 5 α -androstane + 1,25 (OH)₂D vitamin were administered for 72 hours. Subsequently, analyzes were performed to determine of adhesion and proliferation, alkaline phosphatase, androgen receptor, estrogen receptor, vitamin D receptor, osteocalcin and osteoprotegerin in osteoblast cells.

As a result of studies, it has been determined that 17 β -estradiol and 5 α -androstan and 1,25(OH)₂D vitamin, which are defined as sex steroids against Cd toxicity, may be protective and therapeutic in osteoporosis by considering the amounts of osteoprotegerin and osteocalcin which play important roles in bone metabolism. It has also been shown that estrogen receptor and androgen receptor may play an important role in the development of osteoporosis due to Cd toxicity.

Key words: Osteoporosis, Cadmium, Vitamin D, Hormones

İçindekiler

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ÖZET	iii
SUMMARY	iv
TABLO DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ	ix
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1- GİRİŞ VE AMAÇ	1
2- GENEL BİLGİLER	3
2.1 - Kemik Dokusu	3
2.2 - <i>Kemik Tipleri</i>	3
2.3 - Kemik Hücreleri.....	5
2.3.1 - <i>Osteoblast Hücreleri</i>	5
2.3.2 - <i>Osteosit Hücreleri</i>	6
2.3.3 - <i>Osteoklast Hücreleri</i>	7
2.4 - Kemik Matriksi	8
2.5 - Kemik Fizyolojisi	9
2.5.1 - <i>Kemik Yeniden Yapılanması ve Yapılanması (Bone Remodelling-Modelling)</i>	10
2.6 - Osteoporoz	11
2.7 - Osteoporoz ve D vitamini.....	11
2.8 - <i>Osteoporoz ve Hormonlar</i>	13
2.8.1 - <i>Osteoporoz ve Östrojen</i>	14
2.8.2 - <i>Östrojen ve Östrojen Reseptör</i>	16
2.8.3 - <i>Androjen ve Androjen Reseptör</i>	19
2.9 - Osteoporoz ve Osteoprotegerin.....	20
2.10 - Osteoporoz ve Alkalen Fosfataz.....	22
2.11 - Osteoporoz ve Osteokalsin	22
2.12 - Kadmiyum	23
2.13 - Kadmiyum ve Osteoporoz	25

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	28
3.1 - Gruplandırma Sistemi.....	28
3.2 - Sterilizasyon	29
3.3 - Besiyeri Hazırlanması ve Hücre Yetiştirilmesi	29
3.4 - hFOB 1.19 Hücrelerinin Standart Eğrilerinin Oluşturulması	29
3.5 - Uygulanan Maddelerin Hazırlanması	29
3.5.1 - <i>CdCl₂ Hazırlanması</i>	29
3.5.2 - <i>5α-androstan Hazırlanması</i>	31
3.5.3 - <i>17β-estradiol Hazırlanması</i>	32
3.5.4 - <i>1α,25 Dihidroksivitamin D Hazırlanması</i>	34
3.5.5 - <i>Maddelerin Uygulanış Yöntemleri</i>	35
3.6 - Proliferasyon ve Adezyon Belirlemesi	36
3.6.1 - <i>Proliferasyon Belirlemesi</i>	37
3.6.2 - <i>Adezyon Belirlemesi</i>	37
3.7 - ELISA Ölçümleri	37
3.7.1 - <i>ELISA Uygulaması ve Standart Hazırlanması</i>	37
3.8 - İstatiksel Analiz.....	40
4 - BULGULAR.....	40
4.1 - hFOB 1.19 Hücre Dizisi Standart Eğrisi.....	40
4.2 - Gruplandırma Sistemi	41
4.3 - hFOB 1.19 Görüntülenmesi	42
4.4 - Osteoprotegerin ELISA Bulguları	45
4.4.1 - <i>Osteoprotegerin Standart Eğrisi</i>	45
4.4.2 - <i>Osteoprotegerin ELISA Sonuçları</i>	45
4.5 - Osteokalsin ELISA Bulguları	46
4.5.1 - <i>Osteokalsin Standart Eğrisi</i>	46
4.5.2 - <i>Osteokalsin ELISA Sonuçları</i>	47
4.6 - Vitamin D Reseptör ELISA Bulguları.....	47
4.6.1 - <i>Vitamin D Reseptör Standart Eğrisi</i>	47
4.6.2 - <i>Vitamin D Reseptör ELISA Sonuçları</i>	48
4.7 - Östrojen Reseptör ELISA Bulguları	49

4.7.1 Östrojen Reseptör Standart Eğrisi	49
4.7.2 - Östrojen Reseptör ELISA Sonuçları	50
4.8 - Androjen Reseptör ELISA Bulguları	50
4.8.1 - Androjen Reseptör Standart Eğrisi	50
4.8.2 - Androjen Reseptör ELISA Sonuçları.....	51
4.9 - Kemik Alkalen Fosfataz ELISA Bulguları	52
4.9.1 - Kemik Alkalen Fosfataz Standart Eğrisi	52
4.9.2 - Kemik Alkalen Fosfataz ELISA Sonuçları	53
4.10 - Adezyon	53
4.11 - Proliferasyon	54
5 - TARTIŞMA	56
6 - SONUÇ VE ÖNERİLER	63
7 - KAYNAKLAR.....	64

Tablo Dizini

SAYFA

Tablo 3.1. Gruplandırma sistemi	28
Tablo 3.2 Maddelerin Uygulanış Yöntemleri	36
Tablo 3.3 ELISA Standart Dilüsyonları	38
Tablo 4.1 Gruplandırma Sistemi	41



Şekil Dizini

SAYFA

Şekil 2.1 Kortikal ve Trabeküler Kemik Yapısı	4
Şekil 2.2 Kemik Hücreleri	8
Şekil 2.3 Optimal Ve Suboptimal Yaşam Tarzı Davranışları İle Yaşam Boyu Kemik Kütlesi	14
Şekil 2.4 Estradiol (17β -estradiol) Yapısı	18
Şekil 2.5 Estriol Yapısı	18
Şekil 3.1 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 Saat $CdCl_2$ Uygulaması	30
Şekil 3.2 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 Saat $CdCl_2$ Uygulaması	30
Şekil 3.3 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 Saat $CdCl_2$ Uygulaması	31
Şekil 3.4 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 Saat 5α -androstan Uygulaması	31
Şekil 3.5 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 Saat 5α -androstan Uygulaması	32
Şekil 3.6 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 Saat 5α -androstan Uygulaması	32
Şekil 3.7 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 Saat 17β -estradiol Uygulaması	33
Şekil 3.8 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 Saat 17β -estradiol Uygulaması	33
Şekil 3.9 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 Saat 17β -estradiol Uygulaması	34
Şekil 3.10 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 Saat $1,25(OH)_2$ D Vitamini Uygulaması	34
Şekil 3.11 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 Saat $1,25(OH)_2$ D Vitamini Uygulaması	35
Şekil 3.12 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 Saat $1,25(OH)_2$ D Vitamini Uygulaması	35
Şekil 4.1 hFOB 1.19 Hücre Standart Eğrisi	41
Şekil 4.2 Besiyeri (Kontrol) Hücreleri	42
Şekil 4.3 $CdCl_2$ Kontrol Hücreleri	42
Şekil 4.4 $1,25(OH)_2$ D Vitamini Kontrol Hücreleri	43
Şekil 4.5 17β -estradiol Kontrol Hücreleri	43
Şekil 4.6 5α -androstan Kontrol Hücreleri	43

Şekil 4.7	CdCl ₂ +1,25(OH) ₂ D Vitamini Uygulanan Hücreler	43
Şekil 4.8	CdCl ₂ +17β-estradiol Uygulanan Hücreler	43
Şekil 4.9	CdCl ₂ +5α-androstan Uygulanan Hücreler	43
Şekil 4.10	1,25(OH) ₂ D+CdCl ₂ Uygulanan Hücreler	44
Şekil 4.11	17β-estradiol+ CdCl ₂ Uygulanan Hücreler	44
Şekil 4.12	5α-androstan+ CdCl ₂ Uygulanan Hücreler	44
Şekil 4.13	ÖAD+ CdCl ₂ Uygulanan Hücreler	44
Şekil 4.14	CdCl ₂ +ÖAD Uygulanan Hücreler	44
Şekil 4.15	Osteoprotegerin ELISA Standart Eğrisi	45
Şekil 4.16	Osteoprotegerin ELISA Sonuçları	46
Şekil 4.17	Osteokalsin ELISA Standart Eğrisi	46
Şekil 4.18	Osteokalsin ELISA Sonuçları	47
Şekil 4.19	Vitamin D Reseptör ELISA Standart Eğrisi	48
Şekil 4.20	Vitamin D Reseptör ELISA Sonuçları	49
Şekil 4.21	Östrojen Reseptör ELISA Standart Eğrisi	49
Şekil 4.22	Östrojen Reseptör ELISA Sonuçları	50
Şekil 4.23	Androjen Reseptör ELISA Standart Eğrisi	51
Şekil 4.24	Androjen Reseptör ELISA Sonuçları	52
Şekil 4.25	Kemik Alkalen Fosfataz ELISA Standart Eğrisi	52
Şekil 4.26	Alkalen Fosfataz ELISA Sonuçları	53
Şekil 4.27	Adezyon Sonuçları	54
Şekil 4.28	Proliferasyon Analiz Sonuçları	55

Simge ve Kısaltmalar Dizini

RANKL:	Reseptör Aktivatör Nfkb Ligand
bALP:	Kemik Spesifik Alkalen Fosfataz
PTH:	Paratiroid Hormon
1,25(OH)2D vitamini:	1,25-Dihidroksivitamin-D3
M-CSF:	Makrofaj Koloni-Stimüle Edici Faktör
OPG:	Osteoprotegerin
VDR:	Vitamin D Reseptör
ER:	Östrojen Reseptör
AR:	Anrojen Reseptör
OT:	Osteokalsin
Cd:	Kadmiyum
MT:	Metallothionein
CdCl₂ :	Kadmiyum Klorür

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşlı popülasyonun artmasına bağlı olarak osteoporoz görülme sıklığı gittikçe artmaktadır. Osteoporoz, kemik gücünün azalmasına bağlı olarak kırılabilirliğinin artması ile karakterize edilen iskelet sistemi hastalığıdır. Kemik dokusunda biyolojik ve çevresel faktörlere bağlı olarak, dengeli olarak sürekli yapım-yıkım gerçekleşmektedir. Yapılanma sürecindeki hassas denge kemik dokusunu korumaktadır. Osteoporoz patolojisinde yıkım sürecinde artış görülerek osteoblast sayısında azalma görülmekle birlikte kemik dokusu mineral ve matriks kaybı görülmektedir (Warriner & Saag, 2013; Rachner, Khosla vd., 2011).

Kadmiyum (Cd) sanayi ve endüstride yaygın olarak kullanılan, çevresel ve endüstriyel kirlenmeye neden olan ağır metaldir. Cd maruziyeti, çevresel veya mesleki olarak gerçekleşmektedir. Doğada yaygın olarak kadmiyum tuzları (CdCl₂ gibi) olarak bulunmaktadır. Vücuda, inhalasyon veya oral yolla girerek birçok doku ve organı etkilemektedir. Kronik maruziyeti başta akciğer, kemik ve böbrek olmak üzere birçok doku ve organda toksikasyona neden olmaktadır (James & Meliker, 2013).

Kemik dokusu Cd toksisitesinin görüldüğü oldukça önemli hedef organlar arasında yer almaktadır. Cd kemik dokusunda direkt veya dolaylı olaylı (böbrek üzerinden) toksik etki göstermektedir. Cd'nin kemik üzerinde etkisi çeşitli şekillerde gerçekleşmektedir. İlk olarak oksidatif stres oluşumuna neden olmaktadır. Cd, kemik dokusunda hidroksil radikallerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Kemik dokusunda diğer bir etkisi ise osteoklast veya osteoblast hücreleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Osteoklast hücrelerine olan etkisiyle matriks yıkımında artış; osteoblast hücrelerinde ise gen ekspresyon seviyesinde değişim görülmektedir. Üçüncü etkisi, renal toksisite aracılığıyla ortaya çıkmaktadır. Proksimal tübül toksikasyonu sonucunda D vitamini metabolizmasını etkiler ve aktif D vitamini oluşumunun azalmasına sebep olarak hiperkalsiüriye neden olmaktadır. Son olarak, kemik metabolizmasında rol oynayan hormonları etkileyerek kemik dokusunda indirekt toksik etki göstermektedir (Järup, Berglund vd., 1998; Uriu, Morimoto vd., 2000; Bhattacharyya, 2009; Nordberg, 2009; Ognjanović, Marković vd., 2010; Uchida, Kuratavd., 2010; Chen, Zhu vd., 2011; Arbon, Christensen vd., 2012; Chen, Wang vd., 2013; James & Meliker 2013).

Yapılan tez çalışmasında kemik dokusunda toksik etkiye sahip CdCl₂ 'nin hFOB 1.19 osteoblast hücrelerinde neden olabileceği toksik etkiye ek olarak osteoporoz oluşumuna neden oluşumuna olan potansiyel etkisi araştırılmıştır. Hücrelere 72 saat boyunca CdCl₂ uygulanmıştır. Ardından farklı gruplara aktif D vitamini formu olan 1,25(OH)₂D vitamini, 17β-estradiol ve 5α-androstan uygulanarak toksikasyon sonrası osteoporozdan korunma potansiyeli (tedavi

edici etkisi) araştırılmıştır. Aynı zamanda 72 saat boyunca 1,25(OH)₂D vitamini, 17β-estradiol ve 5α-androstan uygulanan farklı gruplara CdCl₂ uygulanarak osteoporozdan korunma potansiyelleri araştırılmıştır.



2- GENEL BİLGİLER

2.1 – Kemik Dokusu

Kemik dokusu, vücudun özel destek çerçevesini oluşturmasının yanında sağlamlık ve sertliğiyle karakterize edilmektedir. Yapısında, fibröz organik matriks, inorganik tuzlar ve dokuya spesifik hücreler bulunmaktadır. Diğer organlardan ayrılan en önemli özelliği ise sürekli ve koordineli bir şekilde kendini yenileyebilmesi, mineralize kollajen çatısı olarak özelleşmiş, dinamik bir bağ doku özelliğine sahip olmasıdır (Masi & Brandi, 2001; Stevenson & Marsh, 2007). Yeniden yapılanma (*bone remodeling*) ve yapılanma (*bone modeling*) kemik dokusunu diğer doku ve organlardan ayırmaktadır.

Kemik dokusunun çeşitli görevleri bulunmaktadır:

- Vücut postürünün korunmasını sağlamak,
- Kas sistemi ile birlikte hareketi gerçekleştirmek,
- Beyin, spinal kord gibi hayati organları korumak,
- Kalsiyum ve fosfor gibi birçok mineralin depolanması ve homeostazında rol oynamak,
- Büyüme faktörü ve sitokin depolamak,
- Kan hücresi üretimini sağlayan kemik iliğini barındırmak, (hematopoez).
- İmmun sistemin düzenlenmesinde rol oynamak,
- Asit-baz dengesinin korunmasını sağlamak (Taichman, 2005; Ralston 2017).

Kemik, yeniden yapılanma (*bone remodeling*) ve yapılanma (*bone modeling*) özelliğine sahip bağ dokudur. Kemik hücreleri, kemik matriksi olarak tanımlanan hücrelerarası sıvı içerisinde kalsifiye durumdadır. Kemikte dokuya spesifik üç hücre bulunmaktadır; laküna olarak adlandırılan boşluklarda yer alan osteosit hücreleri, matriksin organik bölgesinin sentezini gerçekleştiren osteoblast hücreleri ve kemik kavitelerinde bulunan osteosit hücreleri, matriks organik bölümünün gerçekleştiren osteoblast hücreleri ve kemik dokusunun rezorpsiyonunda ve yeniden modellenmesinde rol oynayan osteoklast hücreleri.

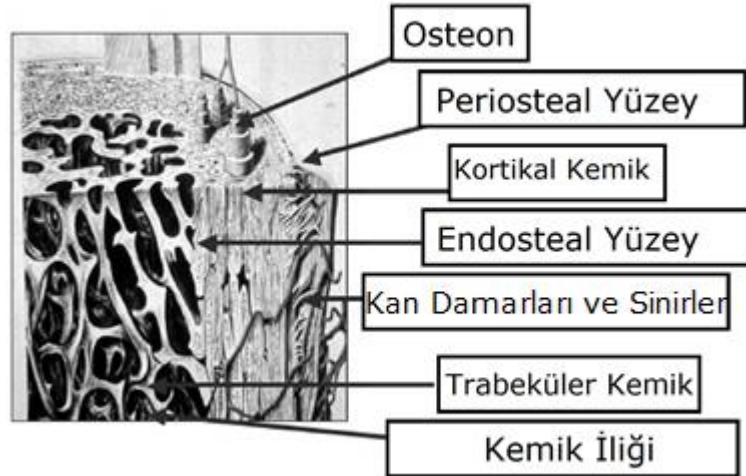
2.2 - Kemik Tipleri

Gebeliğin 9.-10. haftasında fetüste başlayan kemik oluşumu ve olgunlaşması ergenlik dönemine kadar (20-25 yaşına kadar) devam etmektedir. Embriyolojik gelişime göre kemik, endokondral ve membranöz olarak sınıflandırılmaktadır. Genellikle uzun kemiklerde görülen endokondral kemik, kıkırdak dokunun sertleşmesiyle oluşmaktadır. Membranöz kemik ise mezenkimal prekürsörlerin direkt olarak kemik dokuyu oluşturması süreci ile görülmektedir.

Yetişkin bir bireyde kemikler fonksiyonel olarak kortikal (kompakt) ve trabeküler (spongiöz, süngerimsi, kansellöz) kemik olarak ikiye ayrılmaktadır. Kortikal ve trabeküler kemik, aynı moleküler yapıya sahip olmalarına rağmen yapısal ve fonksiyonel olarak farklılık göstermektedir. Temel fonksiyonları ise mekanik olarak direnç sağlayarak kemiği korumaktır. Şiddetli veya uzun süreli mineral eksikliği meydana geldiği takdirde metabolik olarak aktif hale gelebilmektedir.

Kortikal kemik, iskelet sisteminin %80-90'nını oluşturur ve kalsifiye olmuş durumdadır (Şekil 2.1). Kemiğin düzgün ve güçlü dış yüzeyini oluşturmaktadır. Genel olarak yapısal bütünlüğü oluşturmanın yanında yapısında bulunan kavite içerisinde kemik iliği ve trabeküler kemiği içermektedir. Dış periosteal yüzey ile iç endosteal yüzeye sahiptir. Kan damarları, sinir lifleri, kemik hücreleri (osteoblastlar ve osteoklastlar) kortikal kemikte kemik oluşumunu koruyarak büyüme/kırık onarımında oldukça önemli rol oynamaktadır.

Hematolojik ve osteoblastik prekürsörler bakımından oldukça zengin olan trabeküler kemik, kortikal kemiğe iç destek sağlamanın yanında kemik iliği elementlerine çatı oluşturmaktadır. Trabeküler kemiğin %15-25'i kalsifiye durumdadır ve genellikle uzun kemiklerin distal uçları ile iç kısımlarında, vertebra korpuslarında, pelvis ve düz kemiklerin iç bölgelerinde bulunmaktadır. Kortikal kemiğe göre metabolik olarak daha aktif olan trabeküler kemik, mekanik destek sağlamanın yanında mineral eksikliği meydana geldiği durumlarda ilk kaynağı oluşturmaktadır (Baron, 1996; Stevenson & Marsh, 2007; Hsu vd., 2013) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Kortikal ve Trabeküler Kemik Yapısı (Russell & Espina, 2006)

2.3 – Kemik Hücreleri

2.3.1 – Osteoblast Hücreleri

Osteoblast hücreleri, kemik dış yüzeyinde yer alan ve kemik matriks organik bileşen sentezini sağlayan kemik hücreleridir. Yaygın olarak periosteum, endosteum ve kemik iliği stromasında yer almaktadır. Multipotansiyel mezenkimal hücrelerden kökenlenen osteoprogenitör hücrelerden oluşmaktadır. Osteoblast hücrelerinin komşu hücreleriyle temaslarını sağlayan sitoplazmik uzantıları bulunmaktadır.

Organik matriks sekresyonu, kalsifiye olmuş kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast hücreleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu esnada, osteoblastlar en düşük seviyede protein sentezi gerçekleştirmektedir. Kemik organik matriks bileşenlerinden olan tip 1 kollajen, proteoglikan ve glikoprotein sentezinden osteoblast hücreleri sorumludur. Osteoblast hücreleri, kemik yüzeyinde epitel hücrelerine benzer şekilde, yan yana konumlanırlar. Matriks sentezi gerçekleştirdikleri esnada kübik şekilden prizmaya dönüşürler. Sentez faaliyetleri azaldığında ise yassılaşırlar ve bazofilik özelliklerinde azalma meydana gelir (Şekil 2). Osteoblast farklılaşması ve fonksiyonlarının düzenlenmesi ile ilgili yapılan araştırmalar sonucunda, osteokalsinin hücreysel tek özel organik matriks proteini olduğu belirlenmiştir (Karsenty, 1999).

Osteoblast hücrelerinin farklılaşma evreleri incelendiğinde, pre-osteoblast, olgun osteoblast, osteosit ve kemik astar hücreleri olarak dört farklı olgunlaşma basamağı olduğu belirlenmiştir. Osteoblast hücreleri yeni sentezlenmiş matrikse gömüldüğünde osteosit hücrelerine dönüşmektedir. Erişkin osteoblast hücrelerinin %10-20'si kalsifiye olmamış matrikse salınarak osteosit hücrelerini meydana getirir (Van der Plas, Aarden vd., 1994). Osteosit hücreleri ve sitoplazmik uzantılarının çevresinde matriksin kalsifiye olması ile birlikte laküna ve kanalcık yapıları belirgin hale gelir. Osteoblast hücreleri kutuplaşmış hücrelerdir. Matriks sekresyonu, kemik matriksiyle temas halindeki osteoblast yüzeylerinden gerçekleştirilmektedir. Böylelikle osteoblast hücreleriyle daha önce oluşmuş kemik matriksi arasında osteoid olarak adlandırılan kalsifiye olmamış matriks meydana gelir. Bu olaya kemik apozisyonu denir ve kalsiyum tuzlarının çökmesi ile kalsifikasyon süreci tamamlanır (Buser, Brogini vd., 2004). Osteoblast hücreleri, çevre osteoblastlarla ve osteositlerle *gap junction*lar aracılığıyla bağlantı kurmaktadır. Ekstrasellüler matriks oluşturabilen "kemik astar hücreleri" osteoblast hücreleri, yassı ve dormant hücrelerdir. Osteoprogenitör hücreler ile benzer yapıya sahip olmalarına rağmen, bölünebilme yetenekleri yoktur; uygun aktivatörlerle aktif osteoblast hücrelerine dönüşebilmektedir.

Ekstrasellüler matriks kalsifikasyonu, osteoblastlardan türevlenen matriks vezikülleri aracılığıyla gerçekleşmektedir (Karsenty, 1999; Anderson, Garimella vd., 2005). Tip I kollajen, kemik spesifik alkalen fosfataz (bALP-*bone specific alkaline phosphatase*), reseptör aktivatör NFκB ligand (RANKL-*receptor activator of nuclear factor-kappa B (NF-κB) ligand*), proteoglikanlar ve sitokinler osteoblastlar tarafından üretilerek ekstrasellüler matrikste birikmektedir. Osteoblast hücre membranı bALP bakımından zengindir ve aktif kemik oluşumu sırasında osteoblastlardan ALP salınımı artarak kandaki seviyesinin yükselmesine sebep olmaktadır.

Osteoblast hücreleri, yüzey reseptörleriyle paratiroid hormon (PTH), 1,25-dihidroksivitamin-D3 (1,25(OH)₂D vitamini) ve sitokinler de dahil olmak üzere parakrin ve endokrin uyarılara cevap oluşturmaktadır. Böylelikle kemik matriks oluşumu ve osteoklast farklılaşmasının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Fu, Jilka vd., 2002; Palmqvist, Persson vd., 2002). Özellikle PTH, reseptör aracılığıyla kemik rezorpsiyonunun hormonal regülasyonunda etkilidir (Sweeney, Opperman vd., 1995). Aynı zamanda osteoblast hücreleri, östrojen, androjen, progestin, glukokortikoid, prostanoid, IGF-1, IGF-2, TGF-α, TNF-β, IL-1, IL-3, IL-4, IL-8, IL-11 ve endotelin faktörlerine cevap oluşturmaktadır. Sonuç olarak hormonlar, büyüme faktörleri ve diğer uyarılar kemik dokusuna osteoblastlar aracılığıyla etki etmektedir (Harada & Rodan 2003).

2.3.2 - Osteosit Hücreleri

Osteosit hücreleri, osteoblast hücrelerinden kökenlenen ve laküna olarak adlandırılan kalsifiye olmuş kemik matriks içerisinde bulunan olgun kemik hücreleridir. Her laküna içerisinde sadece bir osteosit hücresi bulunmaktadır. Yetişkin iskelet sisteminde bulunan kemik hücrelerinin %90'ından fazlasını oluşturmaktadır.

Osteosit hücrelerinin sitoplazmik uzantıları ince, silindirik matriks kanalcıklarıyla sarılmıştır (Downey & Siegel 2006; Kini & Nandeesh 2012) (Şekil 2). Laküna içerisinde bulunan osteosit hücre gövdeleri, sitoplazmik uzantılar aracılığıyla kendi aralarında (kanalikül) ve Havers kanallarında yer alan hücreler ile iletişim kurmaktadır. Bu sistem ile besin ve artık madde geçişine ek olarak ekstrasellüler matriks içerisinde molekül alışverişi yaparak iyon dengesini sağlamaktadır. Osteosit hücreleri, lakünaların şekline uyum sağlamıştır; nükleusları yassılaştırmıştır ve sitoplazmalarında granüllü endoplazmik retikulum miktarı oldukça düşüktür; golgi kompleks yapıları az gelişmiştir. Osteosit hücreleri, inaktif hücreler gibi görünmelerine rağmen, kemik onarımı ve yeniden yapılanması için gerekli olan birçok mediyatörün serbestlenmesinde (cAMP, osteokalsin, IGF gibi) rol oynarlar. Osteosit hücreleri, kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol oynamaktadır. Osteosit

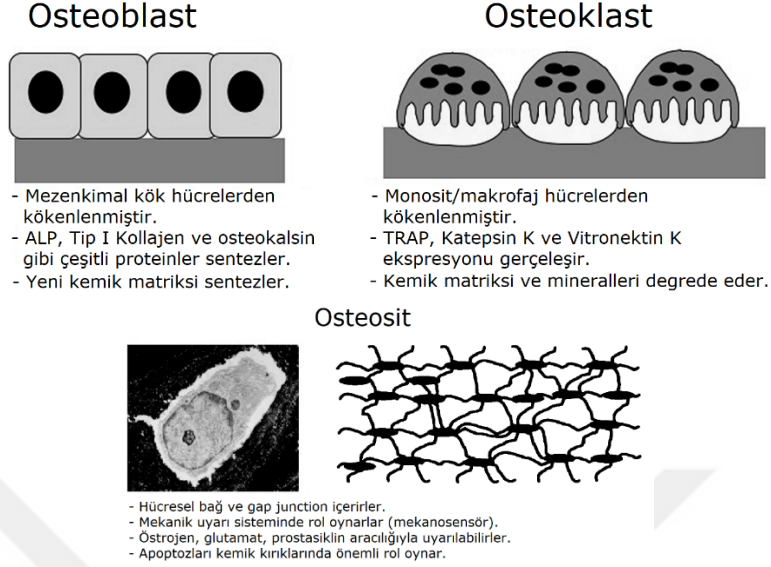
sayısı (yoğunluğu) hem kortikal hem de trabeküler kemiğin kütlesini belirler. Yaşlanma ile osteosit sayısı azaldıkça kemik kütlesi azalır ve mikro kırıkların onarılamaması nedeniyle kemik kalitesi bozulur (Clarke, 2008).

İskelet gelişimi esnasında kemikte, osteoblast, osteosit ve osteoklast hücreleri birlikte rol alır ve bu süreç "*modelling*" (yapılanma-şekillenme) olarak tanımlanır. Erişkin bireylerde, mekanik yük veya tramvaya bağlı olarak kemik dokularının yeniden oluşturularak şekillenmesi "*remodelling*" (yeniden yapılanma-yeniden şekillenme) olarak tanımlanmaktadır. Kemik yeniden şekillenme sürecinde osteoblast kemik sentezi ile osteoklastik rezorpsiyon aktivitesi daha yüksek olmasına rağmen aralarındaki kesin ilişki henüz ortaya konamamıştır. Yapılan bazı araştırmalarda, osteosit hücrelerinin kemik yeniden yapılanması sürecinde kritik role sahip olduğu belirlenmiştir (Nakashima, Hayashi vd., 2011, Atkins & Findlay 2012). Osteoblastlar aynı zamanda makrofaj koloni-stimüle edici faktör (M-CSF), RANKL, kalsitonin ve osteoprotegerin (OPG) gibi faktörler salgılayarak osteoklast farklılaşmasında da rol oynamaktadır.

2.3.3 – Osteoklast Hücreleri

Osteoklast hücreleri, oldukça büyük ve ileri derecede dallanmış, hareket edebilme yeteneğine sahip kemik dokusuna spesifik hücrelerdir (Novack & Faccio, 2011). Hücre gövdesinin geniş bölgesinde oldukça fazla miktarda (yaklaşık 5-50) nükleus bulunmaktadır (Şekil 2.2). Osteoklast hücreleri, kanda bulunan monositik makrofaj hücrelerinin füzyonu ile oluşmaktadır. Sitoplazmik içerikleri genellikle asidofiliktir. Aktifleşen hücrelerde kemik matriksine bakan yüzeylerde aktin filament bakımından zengin fırçamsı yapılar oluşmaktadır. Bu fırçamsı yüzeyler, "*podosome*" veya "*ruffled border*" olarak adlandırılır. Bu bölge osteoklast hücrelerinin kemik matriksine tutunmasını sağlamakla birlikte rezorpsiyon bölgesini oluşturmaktadır. Trabeküler kemiklerin yüzeyinde ve Howskip lakünasında bulunan osteoklastlar, kemik büyümesi, kırık onarımı, kalsiyum dengesinin sağlanması aşamasında oldukça önemli rol oynamaktadır (Mentaverri, Kamel vd., 2003).

Osteoklast hücrelerinde çok sayıda lizozom, granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri ve golgi kompleksi bulunmaktadır. Osteoklast hücreleri, kemik matriksinde asidik ortam sağlayan kollajenaz ve çeşitli proteolitik enzimleri serbestlemektedir (Bekker & Gay, 1990). Kemik rezorpsiyonu; osteoklast migrasyonu ve tutunması, membran polarizasyonu, hidroksiapatit kristalinin çözünmesi, organik matriks degradasyonu, ölü doku uzaklaştırılması ve hücresel inaktivasyon ve apoptoz aşamalarından oluşmaktadır. Böylelikle kalsifiye durumdaki kemiği parçalayarak kemik rezorpsiyonuna neden olmaktadır.



Şekil 2.2 Kemik Hücreleri (Kini & Nandeesh, 2012)

2.4 – Kemik Matrisi

Olgun, kalsifiye olmuş kemiğin %93'ü organik (%22) ve inorganik (%69) bileşenlerden (solid materyal), %7'si sudan meydana gelmektedir (Kini & Nandeesh, 2012).

Kemik inorganik komponentlerinin %90'lık bölümünden fazlası kalsiyum ve fosfattan meydana gelen hidroksiapatit kristallerinden; %10'luk bölümü ise karbonat, sitrat, magnezyum, sodyum, flor ve stronsiyum oluşturmaktadır (Baron, 1996; Kutlu & Odabaşı, 2004; Downey & Siegel, 2006). Hidroksiapatit kristalleri ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), sağlıklı yetişkin bireyin kemik hacminin yaklaşık yarısını ve kütleinin yaklaşık dörtte birini oluşturan kemik ana mineral bileşenidir. Bu kristaller, elektron mikroskopi çalışmalarında kemik kollajen fibriller boyunca ve yakın olarak konumlandığı belirlenmiştir.

Kemik matrisi, kollajen, kollajen olmayan fosfoproteinler ve proteoglikanlar gibi proteinlerden içermektedir. Matris içerik oranları, kalsifiye dokunun yenilenme ve yeniden şekillenme yeteneğini belirlemektedir. Kemikte en fazla bulunan protein, kemiğin primer iskeletini oluşturan tip I kollajendir ve organik matrisin yaklaşık %90'nı oluşturmaktadır. Ekstrasellüler matrisin %22'lik bölümünü oluşturan organik bileşenlerin %90'nı tip I kollajen ve %10'nu kollajen olmayan yapısal proteinlerden meydana gelmektedir. Tip I kollajen öncülleri (pre-tip I kollajen), osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir (Brodsky & Persikov, 2005). Tip I kollajen, kemik matrisi boyunca düzenli olarak yerleşmiştir ve hidroksiapatit kristalleri aralarına konumlanmaktadır. Kemik dokusunun sertliği ve sağlamlığı, hidroksiapatit

kristalleriyle tip I kollajen kompozisyona bağlıdır (Kini & Nandeesh, 2012; Morgan, Barnes vd., 2013).

Yapısal proteinler olan sitokinler, osteopontin, osteokalsin, osteonektin, kemik sialoprotein, proteoglikan gibi ekstrasellüler matriks proteinleri, fosfoproteinler ve fosfolipidler kemik metabolizmasında oldukça önemli rol oynayan büyüme faktörlerinden oluşmaktadır (Olszta, Cheng vd., 2007; Kini & Nandeesh, 2012; Ralston, 2017). Osteokalsin ve proteoglikanlar, osteoblast hücreleri tarafından üretilen kemik matriksinde en yüksek miktarda bulunan organik matriks mekanik ve biyokimyasal indikatörü moleküllerdir. Kemikte bulunan ana glikozillenmiş protein, kemik mineralizasyonunda henüz kesinleşmemiş bir rol oynayan alkalın fosfatazdır (Whyte, Landt vd., 1995).

Kemik dahil olmak üzere çeşitli dokularda eksprese olan kollajen yapıda olmayan 7 adet protein tanımlanmıştır;

-Alkalın Fosfataz: Osteoprogenitör hücrelerin migrasyon, adezyon ve farklılaşmasında rol alan bir metalloenzimdir. Aynı zamanda, ekstrasellüler matriks mineralizasyonunda önemli düzenleyici faktördür.

-Osteopontin: Fosforillenmiş bir glikoprotein olan osteopontin, kalsiyum bağlama özelliğine sahiptir ve osteoklast aktivasyonu ile ekstrasellüler matriks düzenlenmesinde rol almaktadır.

-Osteonektin: Fosforile glikoprotein olan osteonektin, kalsiyum ve tip I kollajen bağlama özelliğine sahiptir. Kalsiyum döngüsü, kemik yeniden şekillenmesi ve mineralizasyonun regülasyonunda rol oynamaktadır.

-Kemik Sialoprotein: Yapısal olarak osteopontine benzemesine rağmen, osteoblastlara ek olarak, osteosit ve hipertrofik kondrositlerden serbestlenmektedir. Fonksiyonu hakkında net kavramlar yer almamaktadır.

-Osteokalsin: Kemik Gla proteini olarak da bilinen mineral bağlayıcı protein, vitamin K bağımlı proteindir. Olgun ve post-mitotik osteoblastlardan salgılanmaktadır. Kalsiyum ve diğer minerallere karşı afinitesi oldukça yüksek olduğundan dolayı kemik mineralizasyonu ve kemik döngüsünde oldukça önemli rol oynamaktadır.

-Proteoglikanlar: Ekstrasellüler matriks yapısında yüksek miktarda bulunan proteoglikanlar, matriks düzenlenmesinde ve organizasyonunda rol oynamaktadır. Biglikan, en fazla üretilen proteoglikandır. Biglikan düşük konsantrasyonlarda hidroksiapatit destekleyicidir ve yüksek konsantrasyonlarda hidroksiapatit inhibitörüdür.

2.5 – Kemik Fizyolojisi

Vücutun mineral deposu olan kemik, kalsiyumun %99'unu, fosfatın %85'ini ve magnezyumun %50'sini depolamaktadır (Downey & Siegel, 2006). Kemik tip I kollajen, mineralize olabilmektedir. Aynı zamanda, sitokinler, osteonektin, osteokalsin, osteopontin, kemik sialoproteini, proteoglikanlar,

fosfoproteinler ve fosfolipidler kemik fizyolojisi için oldukça önem taşımaktadır (Clarke, 2008).

Kemik fizyolojisinin, oluşumunun ve bütünlüğünün korunmasında kemik yapılanması/yeniden yapılanmasında önemli rol oynamaktadır. Kemik yapılanması, iskeletin büyümesine neden olurken, kemik yeniden yapılanması erişkinlerde sağlıklı kemiğin korunmasından sorumludur (Teti, 2011).

2.5.1 - Kemik Yeniden Yapılanması ve Yapılanması (Bone Remodeling-Bone Modelling)

Kemik dokusu, kendi içerisinde yeniden yapılanma yeteneğine sahip biyolojik olarak aktif bir dokudur. Kemikte devamlı osteoklast hücrelerinin aktivite gösterdiği rezorpsiyon alanları ve osteoblast hücrelerinin kemik dokusunu tekrar yapılandırdığı "yeniden yapılanma" (*bone remodelling*) sürecini yaşamaktadır (Datta, Ng vd., 2008). Kemik matriksi içerisinde yer alan osteosit hücreleri veya farklılaşmış osteoblast hücreleri kemik yüzeyine doğru osteoklast hücrelerinin hareket etmesine sağlayan mediyatörler salgırlar. Kemik yapılanması, kemik yüzeyinde meydana gelmektedir. Osteoklast hücreleri kemik rezorpsiyonu aşamasında oldukça önemli role sahiptir. Rezorpsiyon yaklaşık 10 gün sürmektedir. Rezorpsiyon aşamasının ardından osteoblast hücreleri rezorpsiyon çukurunu doldurarak yeni kemik veya osteoid oluştururlar. Kemik oluşumu yaklaşık 3-4 ay sürer; osteoid mineralizasyonu 3 ay boyunca devam eder. Erişkin bireylerde ise kemik yapılanma döngüsü 4-6 ay sürmektedir (Datta, Ng vd., 2008).

Kemik yapılanması kemik büyümesi ve şekillenmesi süreçlerini içerir. İnsanlarda ve hayvanlarda doğumun ilk iki yılında, büyüme plakaları açık kaldığından dolayı oluşmaktadır. Yetişkin iskeletinde biyomekanik strese cevap olarak ortaya çıkar ve yaşa bağlı olarak azalmaktadır. Yapılanma, hasar (kırık) iyileşme sürecinin parçası olarak da gerçekleşmektedir. Kemik yapılanma süreci hem kemik oluşumu hem de rezorpsiyonu içermektedir.

Kemik döngüsü, osteoblast ve osteoklast hücrelerinin birlikte aktiviteleri sonucunda ortaya çıkan yıkım ve onarım döngüsüdür. Bu döngünün amacı, mikrohasarları gidermek, kemik şeklini ve yoğunluğunu korumak ve dışarıdan gelen streslere karşı adaptasyonunu sağlamaktır (Mundlos, Otto vd., 1997). Kemik dokusunun yeniden yapılanması, osteoklast hücrelerinin yaşlı kemik dokusunu yıkıma uğratması ile başlamaktadır. Ardından osteoblast hücreleri mineralize olmamış kemik dokusunu (osteoid) depolanmasını ve organik ekstrasellüler matriks mineralizasyonunu gerçekleştirir (Duque & Troen, 2008). Rezorpsiyon stimulatorlerinin osteoblastlardan türevlendiği düşünülmektedir. Osteoblast hücreleri, iç ve dış uyaranlara cevap olarak, osteoklastogenez için oldukça önemli olan M-CSF ve RANKL üretebilmektedir

(Duque & Troen 2008). Aynı zamanda osteoblastlardan türevlenen kemik yüzeysel hücreleri, PTH gibi kemik rezorpsiyonunda önemli rol oynayan hücre yüzey reseptörlerine sahiptir.

2.6 - Osteoporoz

Osteoporoz, kemik gücünde azalma sonucunda kırılma riskinde artışa neden olan, düşük kemik kütlesi, kemik mikro yapısında, kemik kalitesinde bozulma ve iskelet kırılabilirliğinde artış ile karakterize edilen iskelet sistemi sistemik hastalığıdır (Gaur, Lengner vd., 2005). Gelişen teknoloji ile birlikte daha öncede kırık oluşumu gözlenene kadar tanı konamazken günümüzde osteoporoz önlenabilir ve erken tedavi edilebilir hale gelmiştir.

Yaşam kalitesini düşüren osteoporoz, kemik yoğunluğunu düşürerek kemik kalitesini düşürmektedir. Kemik yoğunluğu, kemik birim alandaki (veya bir gram kemikteki) mineral miktarını belirtmektedir. Kemik kalitesi, kemik mimari yapısını tanımlamaktadır (Gass & Dawson-Hughes, 2006). Dünya Sağlık Örgütü, genç-erişkin popülasyonun Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY) ölçüm verilerine göre T-skor elde edilerek düşük kemik kütlesi ve osteoporoz tane eşikleri belirlenmiştir (Tabatabaei-Malazy, Salari vd., 2017). Genç erişkin bir bireye göre KMY ve kemik mineral içeriği 1 SD altında olması "Normal" olarak değerlendirilmektedir. BMD değerinin genç erişkin bireye göre -1,0 ile -2,5 SD arasında olması "Osteopeni" olarak; -2,5 SD'dan fazla olması "Osteoporoz" olarak tanımlanmıştır. -2,5 SD'dan fazla olması ve ek olarak bir veya daha fazla kırık bulunması ise "Yerleşmiş Osteoporoz" olarak bildirilmiştir (Kanis, 1994).

Osteoporoz en yaygın kemik bozukluğudur. Epidemiyolojik araştırmalar, iki kadından birinin 50 yaşın üstünde, beşinde birinde kırığa neden olduğunu göstermektedir (Lewiecki, Rudolph vd., 2006). Kadınlarda, menopoz döneminde östrojen kaybı, kemik kaybına yol açan önemli faktörler arasında yer almaktadır. Erkeklerdeki nedenler, cinsiyet hormonlarının biyoyararlanımının azalması, örneğin testosteron seviyelerinin azalması ve aromatisasyon yoluyla östrojenlere dönüştürülme hatalı olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, her iki cinsiyette de birçok faktör katkıda bulunmaktadır (Russell, Espina vd., 2006).

2.7 – Osteoporoz ve D Vitamini

D vitamininin, aktif formu 1,25-dihidroksivitamin D ($1,25(OH)_2D$), birçok etkiye sahip olmasına rağmen en büyük etkisi kemik metabolizması ve mineral homeostazı üzerinedir. D vitamini, bağırsaklardan kalsiyum ve fosfat emilimini arttırarak serumdaki seviyesinin ve kemik mineralizasyonunun korunmasına olanak sağlamaktadır. PTH sentezini ve salgılanmasını inhibe ederek kemik

döngüsünü baskılamaktadır (Stroud, Stilgoe vd., 2008). D vitamini ve kemik mineralizasyonu arasında doğrudan bir bağlantı bulunmamasına rağmen, kemik mineralizasyonunda azalmaya bağlı olmasından dolayı vitamin yetersizliği çocukluk çağında raşitizme neden olmaktadır. Serum kalsiyum ve fosfor seviyeleri mineralizasyonu desteklemek için yetersiz olmasına karşın diyetle alınan D vitamini dengenin korunmasını sağlamaktadır (Pike & Christakos, 2017).

D vitamini, kemik mineral metabolizmasında oldukça önemli rol oynayan, yağda eriyebilen vitamindir (Kochupillai, 2008). Steroid hormon aktivitesine benzer şekilde nükleer reseptörler aracılığı ile görev yaptığı için "sterol türevi" olarak adlandırılmaktadır. Biyolojik olarak aktif olmayan iki formu bulunmaktadır; D₂ formu (ergokalsiferol) bitkisel kökenlidir ve ergosterolden türevlenirken D₃ (kolekalsiferol) hayvansal gıdalarda bulunmakla birlikte büyük çoğunlukla deride sentezlenmektedir. Dolaşımında total D vitamininin (D₂ ve D₃ vitamini olarak) yaklaşık %1-3'ü serbest olarak bulunmaktadır. D vitamini, tüm formları serumda VDBP (D vitamini Bağlayıcı Protein) ile taşınmaktadır.

D₃ vitamini çoğunlukla, kolesterol türevi olan 7-dehidrokolesterolün (pro-vitamin D₃) güneş ışığındaki UVB radyasyonun 290-310 nm dalga boyu aralığında ciltten sentezlenmektedir. Daha sonra vücut ısısı ile D₃ vitamini sentezlenmektedir (Holick, 2007). D₃ vitamini karaciğerde 25-hidroksilaz ve daha sonra böbreklerde 1-hidroksilaz ile metabolize olur. D₂ formu da benzer şekilde metabolize edilir. Metabolik olarak aktif 1,25(OH)₂D tarafından aktive edilen VDR (Vitamin D Reseptörü)'nin etki ettiği dört önemli fizyolojik sistem bulunmaktadır; (i) bağışıklık sistemi (doğal ve uyarlanabilir); (ii) kardiyovasküler sistem; (iii) kas; (iv) pankreas ve metabolik homeostaz (Norman & Bouillon, 2010).

Vücutta birçok dokuda VDR bulunmaktadır. Nükleer hormon reseptör ailesinin üyesi olan VDR, vitaminin hormonal etkisinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. D vitamini, VDR ile vücutta sentezlenebildiğinden dolayı "hormon" olarak da nitelendirilmektedir. Osteoblast VDR ekspresyonu 1,25(OH)₂D vitamini ve PTH, glukokortikoidler, TGF-β ve EGF tarafından düzenlenmektedir (Pols, Birkenhäger vd., 1988; Pols, Van Leeuwen vd., 1988, Reinhardt & Horst, 1990; Van Leeuwen, Pols vd., 1991; Godschalk, Levy vd., 1992; Van Leeuwen, Birkenhäger vd., 1992; Van Leeuwen, Birkenhäger vd., 1992). Osteoblast hücrelerinde VDR, 1,25(OH)₂D aracılığıyla hücre büyümesini ve farklılaşmasını doğrudan regüle etmektedir. Aynı zamanda, osteoid mineralizasyonunu artırır ve olgun osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonuna neden olabilmektedir. Fakat meydana gelen bu etki dolaylı olarak osteoblastlara intrasellüler alımı ile aktivitesini ve monositik öncüllerin osteoklastlara kaynaşmasını gerektirmektedir. D vitamini, aynı zamanda

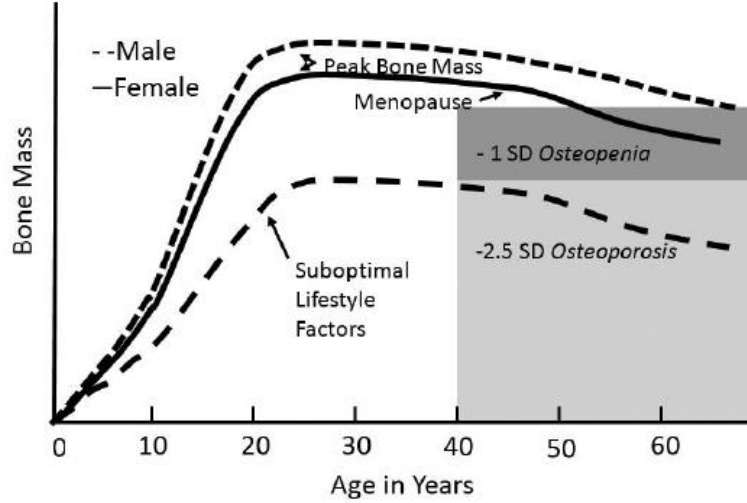
osteokalsin gibi, çeşitli kemik protein ekspresyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Osteokalsinin transkripsiyonunu destekler. Tip I kollajen ve ALP gen transkripsiyonu üzerinde çift yönlü etki gösterir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamininin biyolojik eylemlerine VDR aracılık eder ve kalsiyum homeostazı, hücrel farklılaşma ve bağışıklık fonksiyonunun düzenlenmesini içerir.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -reseptör etkileşimi gerçekleştiikten sonra, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ hedef hücre membranını katederek ilgili nükleer reseptörle etkileşime geçer ve retinoik asit X reseptörü ile bağlanır. Nükleusta " $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR- retinoik asit X reseptörü" kompleksi oluşur ve kromatine bağlanarak hedef dokuda cevap oluşmasını sağlar (Issa, Leong vd., 1998; Jones, Strugnell vd., 1998). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin kemik oluşum mekanizmasında böbrekte kalsiyum homeostazını sağlayarak dolaylı olarak veya osteoblast VDR aracılığıyla direkt olarak gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'ün insan osteoblastlarında kemik oluşumu ve mineralizasyonu stimüle ettiği ve insan mezenşimal kök/stromal hücrelerden osteojenik farklılaşmayı uyardığı belirlenmiştir (Ueno, Katayama vd., 1992; Prince, Banerjee vd., 2001; Jørgensen, Henriksen vd., 2004; van Driel, Koedam vd., 2006; van Driel, Koedam vd., 2006; Zhou, Glowacki vd., 2012; Woeckel, Van der Eerden vd., 2013). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, mineralizasyon sürecine dolaylı olarak etki etmektedir; ekstrasellüler matriksi mineralizasyonun hazırlanmasını sağlar. Bu aşamada, ekstrasellüler matriks proteinlerinden osteoblast farklılaşma belirteci ALP aktivitesinin, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tarafından indüklendiği belirlenmiştir (Anderson, 1995; Woeckel, Alves vd., 2010; Woeckel, Van der Eerden vd., 2013). Aynı zamanda $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, mineralizasyonu inhibe ettiği gösterilen osteopontini arttırmaktadır (Staal, Van Wijnen vd., 1996). Ayrıca çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler veya sinyal molekülleri varlığı veya yokluğu da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ etkisini sınırlayabilmektedir.

2.8 – Osteoporoz ve Hormonlar

Bireyler erişkinlik döneminde doruk kemik kitlesine ulaşırken yaşla birle her iki cinsiyette de azalma oluşur (Şekil 2.3). Postmenopozal kadınlarda osteoporoz gelişme riski daha yüksektir ve kadınlarda osteoporoz prevalansı, yumurtalık fonksiyonu kaybolduktan sonra postmenopozal popülasyonlarda önemli ölçüde artmaktadır ve postmenopozal dönem boyunca yaşla birlikte artmaya devam etmektedir. Östrojen ve androjen, yaşam boyunca kemik sağlığının korunmasında; kemik büyümesinde ve pik kemik kütlelerinin oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Seks steroidleri olarak da tanımlanan östrojen ve androjen kemik yeniden yapılanmasını azaltarak kemik kaybına karşı dokuyu korumaktadır. Aynı zamanda, yetişkinlik döneminde kemik homeostazı, dayanıklılığı ve bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunmaktadır. Volumetrik kemik mineral yoğunluğunun genç erişkin erkekler ve kadınlarda çok benzer olmasına rağmen erkeklerin daha büyük kemik

boyutuna sahip olması; kadınların kısmen daha kırılğan olması hormonların kemik üzerine olan etkilerini açıklamaktadır. Erkeklerde, östrojen eksikliği yetişkinlik döneminde gelişme ve homeostaz sırasında iskelet gelişimini olumsuz şekilde etkiler ve her iki cinsiyette de osteoporoz gelişimine katkıda bulunur.



Şekil 2.3. Optimal Ve Suboptimal Yaşam Tarzı Davranışları İle Yaşam Boyu Kemik Kütlesi (Janz and Francis 2015).

2.8.1 – Osteoporoz ve Östrojen

Östrojen, kalsitonin, PTH ve D vitamini üzerindeki etkileri dahil olmak üzere, kemik metabolizması üzerinde karmaşık etkileri bulunan hormonlardır. Östrojen, osteoklast apoptozunu artırarak, osteoklast formasyonunu azaltır ve kemik rezorpsiyonunu önler (Khalid & Krum, 2016). Aynı zamanda endojenik östrojen üretiminin azalması kemik dokusunda osteoklastik aktiviteyi artırarak kemik yıkımına sebep olmaktadır. Kemik metabolizmasında direkt etkiye sahip olan testosteronun vücutta eksik olmasının da osteoporozu neden olabileceği belirlenmiştir (Manolagas, Kousteni vd., 2002).

Östrojen, her iki cinsiyette büyüme plakalarının normal olarak kapanması için gereklidir. Bu nedenle erkeklerdeki östrojen direnci ve aromataz eksikliği, normal veya yüksek testosteron konsantrasyonlarına rağmen gecikmiş kemik yaşı ve boy uzatma ile ilişkilidir (Smith, Boyd vd., 1994; Morishima, Grumbach vd., 1997).

Diğer yaşlanma dokularında olduğu gibi, oksidatif stres, azalan otofaji, hücre yaşlanması, inflamasyon, endoplazmik retikulum stresi, uzamış katlanmamış protein yanıtı gibi kemik için yaşa bağlı mekanizmalar,

osteoporoz gelişiminde başlıca rol oynamaktadır (Manolagas, 2011; Onal, Piemontese vd., 2013). Yumurtalıklar, testisler ve adrenallerde yaşa bağlı değişiklikler ile yaşla birlikte büyüme faktörü düzeylerinin düşmesine neden olur. Menopoz döneminde östrojen seviyesinin belirgin bir şekilde düşmesi, kadın iskeletinin yaşa bağlı olarak gelişmesini hızlandırır ve kemik kütlesi, mimari bütünlük ve güç kaybına katkıda bulunur. Androjen seviyesinde meydana gelen yavaş azalma, geç başlangıçlı hipogonadizm gibi yaşlı erkeklerde osteoporoz gelişimine katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, androjenler yaşlı erkeklerde kemik sağlığının korunması için östrojenlerden daha az önemli olabilir.

Östrojenlerin ve androjenlerin kemik üzerindeki etkileri ligandların klasik nükleer hormon reseptörlerine-östrojen reseptörü (ER) α ve β 'ya ve androjen reseptörüne (AR) bağlanmasından kaynaklanır (Manolagas, O'brien vd., 2013). Ligandın ilgili reseptöre bağlanması, ligand ile aktive olan reseptör proteininin DNA veya diğer transkripsiyon faktörleri ile doğrudan etkileşimlerinden kaynaklanan hedef genlerin transkripsiyonunu uyarır. Reseptörüne bağlanan hormon, plazma zarında lokalize olan, siklik nükleotidlerin, kalsiyum akışını ve sitoplazmik kinazların üretimini tetikleyerek sitoplazmada sinyal iletim yollarını aktive eder. Kinaz aktivasyonu, cinsiyet steroidlerinin gen düzenleyici etkilerine aracılık eden transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonuna neden olur (Rai, Frolova vd., 2005). Yapılan çalışmalarda östrojen veya androjen yetersizliğiyle ilişkili artmış kemik rezorpsiyonundaki oksidatif stresin etkili olabileceği belirlenmiştir (Manolagas, 2011).

İnsanlarda yaşamın üçüncü on yılı boyunca pik kemik kütlesine ulaşılmasının hemen ardından, kemik oluşumu ile kemik rezorpsiyonu arasındaki denge hem kadınlarda hem de erkeklerde kademeli olarak azalmaya başlar (Şekil 2.3). Bu değişiklik, cinsel steroid düzeylerindeki herhangi bir değişiklikten önce ve bağımsız olarak başlamaktadır. Bununla birlikte, menopozda, trabeküler kemik kaybı hızlanır, bu da tüm trabeküllerin perforasyonuna ve trabeküller arasındaki bağlantının kaybolmasına neden olur. Kadınlarda kemik kaybı oranı, menopozdan sonra beş ila on yıl içinde yavaşlar; erkeklerde ise daha yavaş kemik kaybı evresi izler. Bu sonraki evre öncelikle kortikal kemiği etkiler ve bunun önemli bir kısmı artmış endokortikal rezorpsiyon ve intrakortikal gözeneklilikten kaynaklanır. Her iki cinsiyetteki bu sonraki evredeki histolojik özellik işareti, yaşlanmanın osteoblastların arzında bir düşüşe neden olduğu fikrine uygun olarak, osteoblast sayısındaki ve/veya işlevdeki azalmadır. Seks steroidine yeterli dişi ve erkek farelerde insanlara benzer şekilde, kemik kütlesi ve kuvvette yaşa bağlı ilerleyici bir düşüş yaşanmaktadır; yaklaşık dört aylıktan başlayarak kemik gücünün kaybı, kemik kütlesi kaybından önce gelir (Almeida, Han vd., 2007). Farelerde artan kemik kütlesi ve dayanıklılık kaybı, geçici olarak artmış oksidatif stresle ilişkilidir. En

önemlisi ise, oksidatif stresdeki özdeş değişiklikler, seks steroidleri kaybedildikten sonra her iki cinsiyet faresinde de keskin bir şekilde tekrarlanır. Ayrıca, cinsel steroid kaybının fare kemiğine etkisi, antioksidanların sistemik olarak uygulanmasıyla veya osteoklast mitokondriyumunda H₂O₂ üretimini genetik olarak azaltarak olumsuz etkilenebilir (Almeida, Han vd., 2007; Bartell, Kim vd., 2014).

İnsanlarda kemik kırıkları riski ilerleyen yaşla birlikte, kemik kütle kaybının da etkisiyle katlanarak artar. Aslında aynı BMD için, kırılma riski 55-75 yaş arasında altı kat artmaktadır (Hui, Slemenda vd., 1988). Oksidatif stres, azalan otofaji, hücre (osteosit) yaşlanmasını içeren kemik için yaşa bağlı mekanizmalar, involüsyonel osteoporozda başrol oynamaktadır ve yumurtalıklar ve adrenaller gibi diğer organların ve dokuların yaşla ilişkili değişiklikleri katkıda bulunuyor (Manolagas, 2011; Onal, Piemontese vd., 2013). Osteositlerde meydana gelen apoptoz veya fonksiyon kaybı, osteoblast fenotipine doğru kusurlu mezenkimal hücre farklılaşmasının, büyüme faktör üretiminin azalmasının, fiziksel aktivitenin azalmasının ve belki de azalan kas kütlelerinin, kemik kütlesi ve dayanıklılık azalması gibi önemli patogenetik mekanizmaların hepsinin devreye girmesine neden olabilmektedir (Manolagas, O'brien vd., 2013).

Apoptotik veya fonksiyon kaybı olan osteositler, sağlıklı çevre osteositler tarafından osteoklast üretimi ve sağkalımı için hız sınırlayıcı faktör olan RANKL salınımını artırır (O'Brien, 2010). Apoptotik osteositlerin kendileri ve hücresel artıkları, ayrıca, pro-inflamatuar bağışıklık tepkilerini tetikleyen "tehlike" (veya hasar) ilişkili moleküler olayları başlatabilir. Buna ek olarak, osteosit yaşlanması veya apoptozu, hidroksiapatitin kristal yapısını değiştirerek kemik sağlamlığını azaltarak muhtemel mekanizmaları ve kemik damarlanma oranını düşürür.

2.8.2 – Östrojen ve Östrojen Reseptör

Östrojen kadınlarda östrojen veya menstruel döngüyü kontrol eden, yumurtalıktan sentezlenen steroid hormondur. Sadece kadın üremesinde değil, aynı zamanda erkek üremesinde de nöroendokrin, iskelet ve bağışıklık sistemleri dahil olmak üzere birçok başka sistemde oldukça önemlidir. Östrojenin birçok fizyolojik süreç üzerindeki etkisi ile birlikte, obezite, metabolik bozukluk, kanser, osteoporoz, endometriyoz ve fibroidler gibi birçok farklı hastalıkta da rol oynamaktadır (Burns & Korcah, 2012; Deroo & Korach, 2006). Etkisi yaygın olarak, hedef organlardaki nükleer östrojen reseptörü (ER) aracılığıyla gerçekleşmektedir.

Östrojen, kadın cinsel gelişim ve üreme fizyolojisine rolüne ilaveten, kemik hücresi metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Östrojen, bir

kadının iskelet sisteminde kemik yoğunluğunu korunmasında ve güçlenmesine katkıda bulunur. Östrojen, kemik yeniden biçim vermeyi ve kemik rezorpsiyonunu engeller ve kemik oluşumunu artırır. Bunun tersine, menopoz veya cerrahi ooforektomiden ötürü meydana gelen östrojen kaybı, yeniden şekillendirme oranının artmasına ve eski kemik rezorpsiyonu ve oluşumu arasındaki dengeyi bozar. Menopoz sonrası dönemde kadınlarda östrojen eksikliği nedeniyle sıklıkla iskelet bozukluğu rahatsızlığı olan osteoporoz görülmektedir.

Östrojen reseptörü, transkripsiyon, DNA ve ligand bağlanması ile bağlantılı spesifik alanlara sahip geniş bir nükleer reseptör transkripsiyon faktörü aile üyesidir (Pike, Brzozowski vd., 1999). 12 heliks proteinden oluşan ER, hücrenin çekirdeğinde yer alan ve ligandla aktive edilmiş bir transkripsiyon regülatörü olarak işlev görmektedir. Reseptör, nükleusta bulunduğu için dolaylı olarak hücre zarından geçebilecek kadar küçük moleküller tarafından etkilenmektedir. ER, vücutta menopoza karşı ilaçların hedeflendiği ve bazı kanser türlerinin yer aldığı dokularda bulunmaktadır. Yaygın olarak, hipofiz, meme dokusu, karaciğer, uterus, vajina ve kemik dokusunda bulunmaktadır. Reseptörün yer aldığı doku ve organ reseptörün yanıtını etkilemektedir. ER'nin cevabını etkileyen diğer bir faktör, reseptöre bağlanan östrojen türüdür.

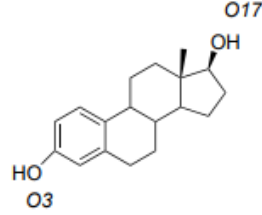
İki farklı ER bulunmaktadır; ER α ve ER β . ER α ve ER β farklı yanıtlar oluşturur ve farklı dokularda bulunmaktadır. Bir ligand, ER α için bir agonist ve ER β için bir antagonist olabilmektedir. ER α , karaciğer, rahim, vajina, kemik dokusu ve meme kanseri tümörlerinde bulunmaktadır. ER α 'nın yapısı, agonistin veya antagonistin kendisine bağlı olup olmamasına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. ER β , prostat, testis, yumurtalık ve beynin bazı bölgelerinde bulunmaktadır.

Birçok çalışma ER α ve ER β polimorfizmleri ile osteoporotik risk arasındaki olası bir ilişkiyi araştırmış olsa da, bu ilişki tartışmalıdır ve daha fazla araştırmayı gerektirmektedir (Gennari, Merlotti vd., 2005). ER α ve ER β , kültüre edilmiş insan osteoblast hücrelerinde ve kültüre edilmeyen osteoblast, osteoklast ve kemik iliği hücrelerinde tespit edilmiştir (Deroo & Korach, 2006).

Doku düzeyinde, östrojen kemik döngüsünü azaltmaktadır; hem direkt hem de dolaylı olarak kemik emilimini inhibe etmektedir. Bir steroid hormon olan östrojen, aromatisasyon yoluyla androjenik prekürsörlerden androstenedion ve testosterondan oluşmaktadır. Östrojenden doğal yollarla, etkisini gösterebilmek için 17 β -estradiol (estradiol) (E $_2$), estron (E $_1$) ve estriole (E $_3$) dönüşmektedir (Nelson, 2004).

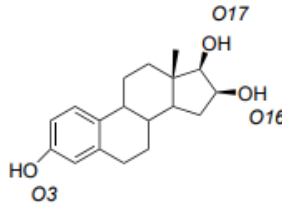
17 β -estradiol, ER için doğal agonisttir (Şekil 2.4). Estradiol, kolesterolden sentezlenir ve yumurtalıklar tarafından salgılanmaktadır. Üreme yolunun

büyümesini, gelişmesini, olgunlaşmasını ve işleyişini, ayrıca cinsel farklılaşmayı ve davranışı etkileyen ana üreme hormonudur (Balthazard, Cornil vd., 2009). Sadece kadınlarda değil; erkeklerde de bulunur ve testislerinden salgılanmaktadır. 17β -estradiol kadın seks hormonudur ve üreme endokrinolojisinde ve büyümede oldukça önemlidir. Menopoz döneminde kadınlarda estradiol üretiminin azalmasına bağlı olarak, kemik büyümesi ve gelişiminde azalma meydana gelmektedir (Raff, Strang vd., 2004).



Şekil 2.4 Estradiol (17β -estradiol) Yapısı

Estriol, hamilelik sırasında üretilen doğal östrojen türüdür (Şekil 2.5). Normal insan fetüsünde üretilen ana östrojendir. Estriolün estradiolden daha az karsinojenik olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2.5 Estriol Yapısı

Östrojenin kemik remodelingi üzerindeki ana etkisi, aktivasyon sıklığını azaltmak ve daha sonra osteoklast ve osteoblast sayısını azaltmaktır. Osteoklastlar üzerindeki etkileri esas olarak dolaylıdır ve osteoblast tarafından salgılanan ürünler aracılığı ile gerçekleşir. Bu ürünler RANKL, CSF-1 ve OPG'yi içerir. Osteoklast progenitörlerinin osteoklastlara farklılaşmasını düzenler ve daha sonra olgun osteoklastların aktivitesini modüle eder ve apoptoz oranını düzenlerler. Östrojen, pro-inflamatuar sitokinler IL-1, IL-6 ve TNF- α 'nın kemik iliği monosit hücrelerinden salınmasını azaltarak osteoblast hücrelerinden OPG ve RANKL üretimini azaltır. Böylece osteoklast üretim, aktivite ve sağkalımı oranı azalır (Riggs, Khosla vd., 2002). Östrojenin osteoklast soy hücreleri üzerinde doğrudan etkileri olduğuna dair kanıtlar da vardır. Bu hücrelerin apoptozunu indükler ve c-jun aktivitesinin azaltılması yoluyla RANKL/M-CSF kaynaklı AP-1'e bağlı kopyalamayı bloke ederek RANKL ile indüklenen

osteoklast farklılaşmasını bastırır (Srivastava, Toraldo vd., 2001). Dahası, östrojenin doğrudan, reseptör aracılı mekanizmalar yoluyla olgun osteoklastların aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Dahası, östrojenin doğrudan, reseptör aracılı mekanizmalar yoluyla olgun osteoklastların aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Nakamura ve ark. yaptıkları çalışmada, östrojenin ER- α aracılığıyla, osteoklastlarda Fas/FasL sisteminin aktivasyonu yoluyla apoptozu indüklediği ve bunun kısa yaşam süresini daha da kısaltarak kemik rezorpsiyonunun bastırılmasına yol açtığı bildirilmiştir (Nakamura, Imai vd., 2007).

2.8.3 – Androjen ve Androjen Reseptör

Androjenler (testosteron ve dihidrotestosteron (DHT), erkek üreme sisteminin ve ikincil cinsel özelliklerin geliştirilmesi için gerekli olan erkek seks hormonlarıdır (MacLean, Chu vd., 1993). Testosteron, biyolojik olarak aktif formları DHT'ye (5 α -redüktaz enzimiyle) ve estradiole (aromataz enzimiyle) dönüştürülebilir. Androjenler hem erkek hem de kadınlarda üreme sisteminin gelişimini ve fonksiyonlarını kontrol etmektedir.

Osteoporotik kalça kırıklarının üçte biri erkeklerde görülmektedir (Cooper, Campion vd., 1992). Özellikle yaşlı erkek bireyler için osteoporoz, önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir. Erkekler kadınlara oranla daha sağlam kemik dokusuna sahip olduğundan dolayı osteoporoza karşı daha çok korunmaktadır. Kemik arttıkça osteoporoz görülme riski azalmaktadır. Cinsiyetler arasındaki hormonal farklılıklar kemik kütlesindeki farklılıkların açıklamalarından biri olarak düşünülmektedir (Orwell & Klein, 1995). Androjenlerin ergenlik döneminde kemik kütlesinin kazanılmasında ve erkek iskeletin ergenliğinden sonra kemik kütlesinin korunmasında önemli bir rol oynadığı gittikçe daha açık hale gelmektedir (Stepan, Lanchman vd., 1989; Bonjour, Theintz vd., 1991).

Androjen reseptörü (AR), 100'den fazla üyeden oluşan ve büyümeye devam eden steroid ve nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesidir. Diğer steroid reseptörleri gibi, AR hücre içi transkripsiyon faktörü olarak işlev gören çözünür bir proteindir. AR fonksiyonu, reseptör-protein etkileşimlerini ve reseptör-DNA etkileşimlerini etkileyen reseptörün sıralı konformasyonel değişimlerini başlatan androjenlerin bağlanmasıyla düzenlenir.

In vitro ve *in situ* çalışmalarda AR' nin kadın ve erkek osteoblast hücrelerde bulunduğu aynı zamanda kemik homeostazında oldukça önemli olduğu önerilmiştir (Vanderschueren & Vandenput, 2000). Kortikal kemik trabeküler kemiğe göre daha fazla androjen reseptör içermektedir. Bu nedenle, erkeklerde daha yüksek androjen konsantrasyonları, kadınlara göre daha yüksek kortikal kemik kütlesi olduğunu düşündürmektedir.

2.9 – Osteoporoz ve Osteoprotegerin

Başlangıçta, kemik yeniden yapılanmasından BMU' nun sorumlu olduğu, osteoblast ve osteoklastların rol aldığı kemik rezorpsiyonu ile oluşumunun yeniden şekillenmeye katkıda bulunduğu düşünülmüştür (Martin & Seeman, 2008). İlerleyen dönemlerde yapılan çalışmalarda ise farklı biyolojik faktörlerin önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Bu hücrel düzenlemelerde en iyi anlaşılana ise osteoblast hücreleri tarafından üretilen RANKL ve OPG' dir (Kong, Yoshida vd., 1999). Aynı zamanda, osteoblast farklılaşmasının farklı aşamalarında, osteoklastların ve birbirlerinin aktivitelerinin düzenlenmesinde belirgin rol oynadığı belirlenmiştir. Osteositler ve osteoprogenitörler osteoklastogenez için gerekli olan RANKL'yi üreten kemik yeniden yapılanması döngüsünün başlatılması için oldukça önem taşımaktadır (Sims & Vrahnas, 2014).

OPG, mRNA seviyesinde kemik, kıkırdak, aorta, deri, akciğer, böbrek ve beyin gibi birçok dokuda bulunmaktadır. Hücrel seviyede ise osteoblast, stromal hücre, endotelial hücre, aort düz kasları, fibroblastlar, dentrit hücreleri ve lenfoid hücrelerinde ekspres olmaktadır (Lerner 2004). Osteoklast inhibitörü faktörü (OCIF) olarak da bilinen OPG, kemik koruyucu özelliğe sahiptir. Homodimer olarak salgılanır ve translasyon sonrası glikolize bir proteindir (Kohli & Kohli, 2011). Aynı zamanda OPG, RANK reseptörü ile rekabette RANKL'ye bağlanan çözünebilir bir tuzak reseptörüdür. Hem OPG hem de RANK, aynı ligand RANKL'ye afiniteyi gösteren reseptörlerdir (Simonet, Lacey vd., 1997; Pettit, Ji vd., 2001). OPG, antagonistik bir endojen reseptör özelliğe sahiptir ve RANKL ile bağlandığında osteoklastogenezini inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu engeller.

OPG-RANKL kompleksi, RANK-RANKL kompleksinin bağlanmasını engelleyerek kemik homeostazındaki en önemli rolü oynar (Simonet, Lacey vd., 1997; Suda, Nakamura vd., 1997; Abu-Amer, 2001). OPG geninin *knockdown* olduğu transgenik farelerde şiddetli osteoporozun hızla ortaya çıktığı belirlenmiştir. Hayvan modellerinde RANKL-RANK kompleksinin fazla oluşumu nedeniyle spontan kırıklar gözlenmiştir (Yasuda, Shima vd., 1998). Yapılan çalışmalar, RANKL-OPG kompleksinin ve RANKL-RANK kompleksinin oluşmasının, osteoklast farklılaşması ve aktivasyonundaki en önemli faktör olduğunu gösterdiğinden dolayı kümülatif kemik döngüsünü etkilemektedir. Yeniden yapılanma süreci yavaşlatılmak istendiği takdirde, RANKL yapımı azaltılarak ve OPG miktarı artırılarak RANK-RANKL bağlanmasını engellenebilmektedir (Harris & Bouloux, 2014). Osteoblast hücrelerinde, RANKL salınımı IL-1, IL-11 ve TNF- α sitokinlere ek olarak deksametazon, 1,25(OH) $_2$ D ve PTH tarafından da stimüle edilebilmektedir (Hofbauer, Khosla vd., 1999).

Kemik yenilemesi, osteoblastogenezin ve osteoklastogenezin her iki dönemini de kapsayan, siklik bir fizyolojik süreçtir. Çeşitli sistemik ve yerel faktörlerin yanı sıra, RANKL/RANK-OPG üçlü molekül kompleksi, kemik metabolizmasının düzenlenmesinde oldukça önemli rol oynamaktadır. RANKL/RANK ve OPG arasında meydana gelen dengesizlik kemik döngüsünde meydana gelen değişime bağlı olarak osteoporotik hastalıklara neden olabilmektedir. Bireylerde yaygın olarak, lokal ya da genel osteoliz odak alanlarında kemik rezorpsiyonu problemlerine neden olur.

OPG'nin protein seviyesinde ekspresyonu (mRNA) ve üretimi, sitokinler ve hormonlar tarafından kontrol edilebilmektedir. TGF- α ve TGF- β , interlökin-1 α ve 18 (IL-1 α ve IL-18), kemik morfojenetik proteinleri ile 17 β -estradiol tarafından arttırılabilmektedir. Glukokortikoid, siklosporin A, PTH, prostaglandin E ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ise OPG sentezini baskılayıcı faktörlerdir (Hofbauer, Khosla vd., 1999; Brändström, Björkman vd., 2001).

İnsanlardaki stromal hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda OPG'nin *in vitro* ekspresyonunun östrojen ile indüklendiği gösterilmiştir (Bucay, Sarosi vd., 1998; Hofbauer, Khosla vd., 1999). Östrojen, osteoblastlardan OPG sekresyonunu uyararak RANKL üretimini engellemektedir. Bu etki, östrojenin anti-resorpsiyon özelliğine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Aynı zamanda, östrojen eksikliği, olgun osteoklast aktivasyonunun artmasına ve apoptozunun azalmasına neden olmaktadır (Aubin & Bonnelye, 2000). Östrojen üretimi OPG salgısı ile orantılıdır. Bu nedenle, postmenopozal dişilerde östrojen üretimi azaldığında, OPG üretimi engellenmiş ve postmenopozal osteoporoz ortaya çıkmıştır. Karşı dengeleme olgusunun bir parçası olarak RANKL üretimi artırılması, OPG'nin rekabetçi inhibisyonu durdurulduğundan dolayı RANKL-RANK kompleksinin oluşumuna yol açmaktadır. Bu, daha büyük kemik rezorpsiyonuna ve kemik mineral yoğunluğunda azalmaya yol açar. Bu, postmenopozal osteoporozun immünopatojenezi için geçerli bir argüman oluşturur. Buna ek olarak, osteoporozlu bireylerde vasküler kalsifikasyonda bir artış vardır (Parhami & Demer 1997; Saika, Inoue vd., 2001). Ovariyektomize dişi fareler modelleri üzerinde yapılan çalışmalar bu teoriye güvenilirlik kazandırmaktadır (Abu-Amer, 2001). Bu hayvan modellerinde, rekombinant OPG enjeksiyonu üzerine, kemik yıkımında azalma vardı ve osteoporoz gelişimi gözlenmektedir. Bu nedenle, rekombinant OPG'nin postmenopozal osteoporoz için ve bir dereceye kadar osteoporoz için uygulanabilir bir gelecek tedavi imkânı olacağı öne sürülmüştür. Rekombinant OPG'nin bir terapötik madde biçiminde verilmesi, osteoklast aktivasyonunu ve buna bağlı olarak kemik yıkımını önlemeye yardımcı olacağı ileri sürülmektedir.

2.10 – Osteoporoz ve Alkalen Fosfataz

Alkalen fosfatazlar (ALP; ortofosforik monoester fosfohidrolaz) plazma membrana bağlı glikoprotein ailesidir (McComb, Bowers Jr vd., 2013). Bu enzim ailesi, bazı yüksek bitkiler hariç, prokaryotlar ve yüksek ökaryotlar da dahil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunur (Chang, Wang vd., 1994; Whyte, Landt vd., 1995; Calhau, Martel vd., 2000; Sadeghirizi & Yazdanparast, 2007). Genellikle hücre yüzeyi ile sınırlandırılmış geniş bir dimerik enzimlerdir ve inorganik fosfatın serbestlenmesi ile yüksek pH'da çeşitli monofosfat esterleri hidrolizlerler (Mornet, Stura vd., 2001; Sharma, Singh vd., 2012). İnsan ALP' leri, dört dokuya spesifik form veya izoenzime sınıflandırılmaktadır; (i) plasental ALP (PLALP or Regan izoenzim), (ii) karaciğer/kemik/böbrek ALP (L/B/K ALP), (iii) germ hücresi ALP (GCALP veya NAGAO izoenzimi), (iv) bağırsak ALP (IALP) olarak tanımlanır. Serumda büyük bir çoğunluğu kemiklerden salınmaktadır (Hannon & Eastell, 2006).

Serumda bulunan kemik alkalen fosfataz (bALP), kemik oluşumunun en sık kullanılan biyobelirtecidir. bALP, osteoid oluşumu ve kemik mineralizasyonunda önemli enzimdir. ALP, pirofosfat molekülünü hidrolizleyerek yeni sentezlenmiş olan osteoid dokuya hidroksiapatit kristallerinin konumlanmasını sağlamaktadır. Özellikle postmenopozal dönemde, yaşa bağlı olarak ALP aktivitesinde artış meydana gelmektedir (Singer & Eyre, 2008). Osteoblast hücre membranında bulunan bALP, kemik oluşumu sırasında kana salınmaktadır. Serumdaki bALP aktivitesi kemik mineralizasyonu ve formasyonunun belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Singer & Eyre 2008). Membrana bağlı osteoblast enzimi olan bALP, plazma zarında lokalize bir glikoproteindir. Osteosit oluşumu ve mineralleşmesinde rol oynamaktadır. Artmış serum bALP düzeyleri, postmenopozal dönemde osteoporozda aşırı kemik döngüsü ile karakterize edilmektedir (Ross & Knowlton, 1998). D₃ vitamini ve aktive edilmiş bir mineralizasyon şekli olan 1,25(OH)₂D, transkripsiyonal aktiviteyi arttırmak yerine ALP sentezlenmesini değil, ALP mRNA stabilitesinde artış ile post-transkripsiyonel modülasyon ile de teşvik eder (Kyeyune-Nyombi, Lau vd., 1991; Orimo & Shimada, 2006).

2.11 – Osteoporoz ve Osteokalsin

Osteoblast hücrelerinden sentezlenerek serbestlenen, matriks proteini olan osteokalsin, kemikte en yüksek miktarda bulunan spesifik nonkollajenöz proteindir. 5900 dalton moleküler ağırlığa sahiptir ve 49 aminoasitten meydana gelmiştir. Yapısında bulunan "Gla" hidroksiapatit kristallerine yüksek afinite ile bağlanmasına olanak sağlamaktadır. Osteokalsin, kalsiyum iyonunun kemik matriksine bağladığından dolayı kemik oluşumunda oldukça önemli rol oynamaktadır. D vitamini, osteokalsin sentezini osteoblastlarda stimule

etmektedir. Yapılan araştırmalarda, D vitamini eksikliği olan farelerde osteokalsin miktarının %50 azaldığı belirlenmiştir.

Non-kollajenöz proteinlerden olan osteokalsin, osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir. Serum osteokalsin seviyesi osteoblastik aktiviteyi yansıtmaktadır. Osteokalsin aynı zamanda kemikte mineral depolanması ve yeniden yapılanması sürecinin regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Osteokalsin, osteoblast hücrelerinden salgılanan kemik yapımı esnasında salgılanmaktadır. Postmenapozal dönemdeki bireylerde serum osteokalsin seviyesi oldukça değişiklik göstermektedir. Kemik döngüsünün düşmesine bağlı olarak osteokalsin seviyesi düşmektedir; yüksek döngülü bireyleri arttırmaktadır. Östrojen replasman tedavisi ise osteokalsin seviyesinin artmasını azaltmaktadır (Delmas, Eastell vd., 2000).

2.12 – Kadmiyum

İnorganik kadmiyum kayaların aşınması veya volkanik patlamalar gibi doğal süreçler ile çinko madenciliği ve rafine işlemleri sürecinde kurşun ve bakırın yan ürün olarak endüstriyel faaliyetler sonucunda ortaya çıkan kadmiyum (Cd), toksik bir ağır metaldir (Cancer & Cancer 1993; EFSA 2012). Akut ve kronik maruziyet sonucunda toksik etki meydana getirdiği bilinmektedir. Elementel formunda gümüş-beyaz ve yumuşak bir metaldir. Düşük erime sıcaklığı, yüksek iletkenlik ve korozyona karşı çok iyi direnç gibi bazı alanlarda yararlı olmasını sağlayan bazı özel niteliklere sahiptir (Bernhoft, 2013).

Rafine edilmiş Cd, korozyona dirençli olmasından dolayı sanayi ve endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır; nikel-kadmiyum pil yapımında, plastik ve seramik sanayisinde, kaplama, plastikler için alaşımlar ve stabilizatörler olarak kullanılmaktadır (Bernhoft, 2013). Genel olarak, besinler ve sigara kullanımı kadmiyumun başlıca kontaminasyon kaynağıdır. Kadmiyum kontaminasyonu genellikle yiyecekler aracılığıyla gerçekleşir; tarımsal ürünler maruziyetin büyük bir çoğunluğunu oluşturur. Tarımsal alanlar, Cd'nin havada, atık sularda birikmesi veya fosfat gübrelerinde kullanılmasıyla kirletilir (EFSA, 2012). Toprakta bulunan kadmiyum daha sonra bitkiler tarafında besin zincirine katılarak hayvan ve insan kontaminasyonuna neden olduğu bilinmektedir (Cancer & Cancer 1993). Sigara içmeyen kişilerde, kadmiyum maruziyetinin yaklaşık %90'ı besinlerden; %10'u ortam havasından ve içme suyundan kaynaklanmaktadır (EFSA, 2012). Mesleki maruziyet ise genellikle inhalasyon yoluyla gerçekleşir fakat kontamine olmuş toz ve yiyeceklerin sindirilmesi de mümkündür. Özellikle maruz kalma riskinde olan bireyler, kadmiyum üretiminde ve rafine endüstrisinde, nikel-kadmiyum pil sanayisinde, kadmiyum pigment ve alaşım, mekanik kaplama üretiminde,

çinko eritme makineleri ve polivinil klorür üreten endüstrilerdeki çalışanlardır (Cancer & Cancer 1993).

Cd, U.S.EPA tarafından öncelikli metal olmasına rağmen, Avrupa Komisyonu'na göre suçlu alanları tehdit eden tehlikeli madde listesinin başında yer almaktadır (Fairbrother, Wenstel vd., 2007). Ayrıca diğer ağır metallere oranla suda çözünürlüğü daha yüksek olmasından dolayı, Cd ve Cd bileşikleri Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından 1. sınıf kanserojen olarak raporlanmıştır (Cancer & Cancer, 1993). En toksik çevre kirleticilerden olan Cd, çözünürlüğü yüksek olması sebebiyle, organizmaların yapısında kolaylıkla katılarak, toprak veya suda birikerek besinler aracılığıyla hayvan veya insanlara geçmektedir. Kadmiyum ve kadmiyum bileşikleri, Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı tarafından insanlara karşı Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (Cancer & Cancer, 1993).

Kadmiyum inhalasyonun ardından, %10-50'si akciğerler tarafından absorbe edilir. Besinler maruz kalındığı takdirde ise %3-5'i bağırsaklar tarafından emilir (Järup, Berglund vd., 1998; EFSA, 2012). Ayrıca, düşük demir depolarına sahip olan bireylerde emilim oranlarının yüksek olması sebebiyle kadmiyum maruziyeti yüksektir (Berglund, Akesson vd., 1994; Järup, Berglund vd., 1998; Åkesson, Julin vd., 2008). Aynı zamanda kalsiyum ve çinko alımı düşük olan bireylerde de kadmiyum emiliminin yüksek olduğu belirlenmiştir (Nordberg, 2009).

Cd maruziyeti gerçekleşikten sonra kana geçiş olur. Kandaki Cd'nin çoğu kırmızı kan hücrelerinde bulunur (Järup, Berglund vd., 1998). Büyük ölçüde albumin gibi yüksek molekül ağırlıklı proteinlere bağlanarak dolaşım sistemi aracılığıyla karaciğere taşınır ve burada metallothionein proteini ile kompleks (Cd-MT) oluşturur (Järup, Berglund vd., 1998; Sabolić, Breljak vd., 2010). Ayrıca kadmiyum kan dolaşımında küçük miktarda MT'ye ve tiyol içeren aminositlere veya peptitlere bağlanabilir (Sabolić, Breljak vd., 2010; Yang & Shu, 2015). Cd-MT kompleksi ayrıca kan yoluyla birçok doku ve organa taşınabilir. Kadmiyumun kandaki yarı ömrü yaklaşık 2-3 aydır (Järup, Berglund vd., 1998). Böbrekte, Cd-MT glomerüllerde filtrelenmesinin ardından kadmiyum iyonlarının serbest bırakılması gerçekleşir ve toksik etkilerin ortaya çıktığı proksimal tüplerde tekrar emilir (Järup, Berglund vd., 1998; Nordberg, 2009). Kadmiyum, daha sonra esas olarak 10-30 yıllık uzun bir biyolojik yarılanma ömrüne sahip olan böbrek korteksinde; karaciğer, kas ve kemikte biriktirilir (Järup, Berglund vd., 1998; EFSA, 2012; Akerstrom, Barregard vd., 2013). Cd'nin vücut yükünün yaklaşık %0.01-0.02'si her gün idrar ve dışkı yoluyla atılır (Nordberg, 2009; Akerstrom, Barregard vd., 2013).

Cd, insanlar için önemli olmayan bir metaldir ve başta böbrek, testis ve kemik olmak üzere birçok organa toksiktir. Kadmiyum içeren parlatma tozuna

maruz kalan işçiler gastrointestinal sistemden akut semptomlar geliştirdikleri ve solunum yollarındaki semptomları geçirdikleri ilk kez 1858 yılında bildirilmiştir (Nordberg, 2009). 1940'larda, kontamine besinler ve içeceklerin oral alımının ardından akut gastrointestinal semptomların ortaya çıkabileceği bildirilmiştir ve mesleki maruziyet sonrasında osteomalazi, amfizem ve proteinüri vakaları gözlenmiştir (Friberg, 1950; Nordberg, 2009). 1950'lerde osteomalazi, osteoporoz ve kırıklarla ek olarak böbrek yetmezliği karakterize Japonya'daki Itai-itai hastalığı, pirinç tarlalarının kirli suyla sulaması sonucunda çok kirli pirinçlerde kadmiyumun neden olduğu bir hastalık olarak tanımlandı (Nordberg, 2009). Böbrekte uzun süreli kadmiyum maruziyetinin ilk bulgusu olarak idrarda artan protein atılımı olarak düşünülmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda, genel popülasyonda bulunan seviyelerde osteoporoz ve kırık riskine odaklanarak düşük seviyeli kadmiyum maruziyetinin kemik üzerindeki etkileri araştırılmaktadır (Åkesson, Barregard; 2014). Yapılan çalışmalarda, kadmiyum maruziyeti akciğer kanseri başta olmak üzere, prostat ve böbrek, endometriyum, mesane kanserleri ile ilişkili bulunmuştur (Cancer & Cancer, 1993; Åkesson, Julin vd., 2008; Julin, Wolk vd., 2012).

2.13 – Kadmiyum ve Osteoporoz

Kemik, osteoklastik rezorpsiyon, kemik matriksinin osteoblastik formasyonu ve mineralizasyonundan oluşan sürekli yeniden yapılanma geçiren metabolik olarak aktif bir dokudur (Wauquier, Leotoing vd., 2009). Oksidatif/indirgeyici süreçler, kemik yeniden yapılanma sürecinde oldukça önemlidir ve kemik dokusunun oksidatif/antioksidatif durumu fizyolojisi ve patolojisinde oldukça önemlidir (Wauquier, Leotoing vd., 2009). Reaktif oksijen türevleri (ROS), kemik resorpsiyonunu artırarak kemik yeniden yapılanmasında rol oynamaktadır. Bu süreçte osteoklast hücreleri, aşırı birikerek kemik oluşumunu baskılar ve rezorpsiyonu uyarır; yüksek miktarda ROS üretime ve birikimine neden olur. Böylece, antioksidan savunma ve kemik dokusunda ROS birikimi arasındaki dengenin bozulması, kemik metabolizmasında ve kemik gücünde bozukluklara neden olur. Osteoporotik hastalarda oksidatif/antioksidatif denge ile BMD ve kırık oranı arasında bir ilişki olduğu ve kemik hastalıklarının gelişimine oksidatif stresin katkıda bulunduğu belirlenmiştir (Baek, Oh vd., 2010).

Cd, yer kabuğunda, hava, yiyecek ve suda bulunur. Bu nedenle, maruziyeti ortam havasından, içme suyundan, yiyeceklerden, tütün dumanından ve çalışma ortamından kaynaklanabilir (Schutte, Nawrot vd., 2008). Oksidatif strese yol açan hidroksil radikal (OH), süperoksit anyonu (O₂) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi ROS üretimini ve karaciğer, böbrek, beyin, testis gibi çeşitli organlara zarar veren pro-oksidan bir ajandır (Ognjanović, Marković vd., 2010). Bu metal, antioksidatif enzim aktivitesinin inhibisyonu

yoluyla enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif bariyerin bozulması ve tiyol bakımından zengin bileşikler gibi enzimatik olmayan antioksidanların tükenmesi yoluyla dolaylı olarak oksidatif stresi indüklemekte, ancak doğrudan ROS üretememektedir (Ognjanović, Marković vd., 2010). Yapılan çalışmalarda, artmış Cd maruziyetinin azalmış KMY ve artmış kemik kırık insidansı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Järup & Åkesson 2009).

Kadmiyumun kemik üzerindeki etkilerinin arkasındaki mekanizma(lar) hala belirsiz olmasına karşın, kadmiyumun PTH üzerindeki etkisi veya böbrekte vitamin D aktivasyonu, bağırsakta kalsiyum emilimine etkisi, renal tübüllerde kalsiyumun yeniden emiliminde bozulma veya kemik dokusuna direkt etkisi olabileceği bildirilmiştir (Buchet, Lauwerys vd., 1990; Kjellström 1991; Järup, Berglund vd., 1998; Kazantzis 2004; Schutte, Nawrot vd., 2008; Nawrot, Geusens vd., 2010; Urbschat, Obermüller vd., 2011). Kemik hücre kültürü çalışmalarında, kadmiyumun kemik hücreleri üzerindeki doğrudan etkisi olduğu ve hem kemik oluşumunda azalma hem de kemik rezorpsiyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir.

Cd, doğada geniş çapta bulunan ve insan vücudunda uzun bir biyolojik yarı ömre sahip olan zehirli bir maddedir. Böbrek, karaciğer, kemik ve kardiyovasküler sistem Cd toksisitesi için en önemli hedef organlardır (IPCS, 1992). Yapılan çalışmalar sonucunda Cd'ye kronik maruz kalmanın kemik hasarına neden olduğunu belirtilmiştir (Godt, Scheidig vd., 2006). Cd'ye çevresel maruziyet, iskeletin demineralizasyonuna ve artmış kemik kırılabilirliğine neden olmaktadır.

Kadmiyuma yüksek seviyede maruz kalınması osteomalazi, osteoporoz ve kırıklarla ile Itai-Itai hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Tam olarak (Järup, Hellström vd., 2000)moleküler mekanizması açıklanamamasına rağmen, yapılan çalışmalarla genel popülasyonda kadmiyum maruziyeti ile artan osteoporoz ve kemik kırık riski arasındaki ilişki ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Åkesson, Bjellerup vd., 2006; Wu, Magnus vd., 2010; Engström, Michaëlsson vd., 2011; Thomas, Michaëlsson vd., 2011; Engström, Michaëlsson vd., 2012; James & Meliker 2013; Åkesson, Barregard vd., 2014; Dahl, Sogaard vd., 2014; Sommar, Pettersson-Kymmer vd., 2014). Bu, kadmiyuma uzun süreli beslenme ile sığınlar üzerinde yapılan deneysel araştırmalarla desteklenmekte ve kemik mineral yoğunluğunda azalma ve kemik kırılabilirliğinde artışa neden olmaktadır (Callan, Devine vd., 2015).

Kemik üzerindeki Cd toksisitesinin mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır, ancak birkaç model önerilmiştir. Kemik üzerindeki Cd kaynaklı etkiler renal tübüler disfonksiyon yoluyla sağlanabilir (Jin, Nordberg vd., 2004). Cd, vitamin D'nin normal aktivasyonunu azaltabilir ve bağırsaklardan azalan Ca emilimine ve kemik mineralizasyonunun bozulmasına yol

açabilmektedir (Brzóska, Majewska vd., 2005). Kemik üzerindeki Cd etkilerinin iki ana yolu önerilmiştir (Kjellström, 1992). İlk yol, kemik lezyonları, Cd'nin neden olduğu böbrek ve gastrointestinal sistem hasarına karşı ikincil yanıt olarak ortaya çıkmaktadır. Cd maruziyetinden dolayı böbreklerde Ca ve D vitamini metabolizmasında oluşan bozukluk ile bağlantılı olan dolaylı mekanizmadır (Kjellström, 1992). İkinci yol, kemik rezorpsiyonunu arttırarak ve kemik oluşumunu azaltarak Cd'nin kemik hücreleri üzerindeki doğrudan etkisini içermektedir (Regunathan, Glesne vd., 2003). Bununla birlikte, bazı araştırmacılar, Cd'nin, böbrek fonksiyonunu bozmayan maruziyet seviyelerindeki Cd'den dolayı iskelet hasarını göstermiş ve Cd'nin doğrudan kemik üzerinde etkili olduğuna dair kanıtlar sağlamıştır (Honda, Tsuritani vd., 2003). *In vitro* çalışmalar, Cd'nin Ca^{+2} iyonları ile Cd^{+2} iyonları arasındaki rekabet yoluyla hidroksiapatit oluşumu üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Blumenthal, Cosma vd., 1995). Elde edilen bulgular sonucunda, iskelet sistemindeki Cd birikiminin, kalsiyumun kemiğe karışmasına engel olabileceğinden dolayı kemik matriks mineralizasyonunda çeşitli sorunlara neden olabileceği belirtilmiştir (Regunathan, Glesne vd., 2003).

Yapılan çalışmalar sonucunda Cd maruziyetinin serum $1,25(OH)_2D$ seviyesinde anlamlı azalmaya neden olduğunu belirlenmiştir (Brzóska, Majewska vd., 2005; Uchida, Teranishi vd., 2007). Kadmiyum, böbreklerde fonksiyonuna neden olmaktadır. Direkt olarak neden olduğu toksisite sonucunda $1,25(OH)_2D$ biyosentezi gerçekleşmemektedir ve serumdaki miktarı düşmektedir (Youness, Mohammed vd., 2012). Dişi sıçanların Cd'ye maruz kalması sonucunda serum bALP aktivitesinde anlamlı azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Youness, Mohammed vd., 2012). Cd'ye maruz kalmanın insan plazmasındaki bALP aktivitesini önemli ölçüde azalttığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (El-Demerdash, Yousef vd., 2004). bALP aktivitesindeki azalma, enzim sentezi ve bozunması arasındaki dengeye ek olarak osteoblast plazma membranının geçirgenliğindeki değişikliklere bağlı olarak gerçekleşebileceği önerilmiştir. bALP inhibisyonunun, membran taşıma sisteminin parçalanması ve hücre büyümesi ve proliferasyonu üzerindeki bir inhibitör etkiye bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (Rana, Singh vd., 1996). Serum ve kemik formunda total ALP'nin azalmış aktivitesi 24 ay boyunca Cd'ye maruz kalan kadınlarda gösterilmiştir. Cd'nin osteoblastik hücre aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak kemik metabolizması süreçlerini inhibe ettiğini göstermektedir.

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 - Gruplandırma Sistemi

Tez çalışması süresince Tablo 1' de belirtilen gruplandırma sistemi kullanılmıştır.

Tablo 3.1 Gruplandırma Sistemi

Grup-1	Besiyeri	Grup-8	CdCl ₂ +5α-androstan
Grup-2	CdCl ₂ Kontrol	Grup-9	1,25(OH) ₂ D vitamini+ CdCl ₂
Grup-3	1,25(OH) ₂ D vitamini Kontrol	Grup-10	17β-estradiol+ CdCl ₂
Grup-4	17β-estradiol Kontrol	Grup-11	5α-androstan+ CdCl ₂
Grup-5	5α-androstan Kontrol	Grup-12	ÖAD*+ CdCl ₂
Grup-6	CdCl ₂ +1,25(OH) ₂ D vitamini	Grup-13	CdCl ₂ + ÖAD*
Grup-7	CdCl ₂ +17β-estradiol		

*ÖAD (Östrojen, Androjen ve D Vitamini): 17β-estradiol, 5α-androstan ve 1,25(OH)₂D vitamini kombine uygulamasıdır.

3.2 - Sterilizasyon

Hücre kültürü aşamasında kullanılan tüm materyaller (besiyeri, plate, plastik malzemeler, pipet uçları vb.) steril tercih edilmiştir. Cam malzemeler, 160°C'de 60-90 dakika boyunca otoklavlanarak steril edilmiştir. Sıvı ajanlar, 0.22 µm porlu filtrelerden geçirilerek partiküllerden arındırılmıştır.

Laminar kabin içerisinde yapılan araştırmaların öncesinde ve sonrasında %70 alkol ile sterilizasyon sağlanmıştır. Aynı zamanda periyodik olarak haftada bir kez UV ışık ile laminar kabin genel sterilizasyonu yapılmıştır. Tüm işlemler sırasında tek kullanımlık steril eldivenler kullanılmıştır. Kullanılan inkübatörlerin sterilizasyonları düzenli olarak cihaz sterilizasyon protokollerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.3 - Besiyeri Hazırlanması ve Hücre Yetiştirilmesi

İnsan osteoblast hücre dizisi hFOB 1.19 (ATCC-Washington D.C., USA) hücreleri 34,5°C %5 CO₂ inkübatörde 25 veya 75 cm²'lik flasklar (Greiner, Cellstar, Germany) içerisinde, %10 Fetal Bovin Serum (FBS; Gibco, UK), %1 Penisilin/Streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium-F12, HEPES (DMEM/F12, HEPES) (Gibco, UK) besiyeri kullanılarak laboratuvarımızda çoğaltılmıştır. Araştırma boyunca 5-10 pasaj arasındaki hücreler tercih edilmiştir. Uygulamalarda kullanılan tüm besiyeri bileşenleri, kullanım öncesince su banyosunda 37°C'de bekletilmiştir.

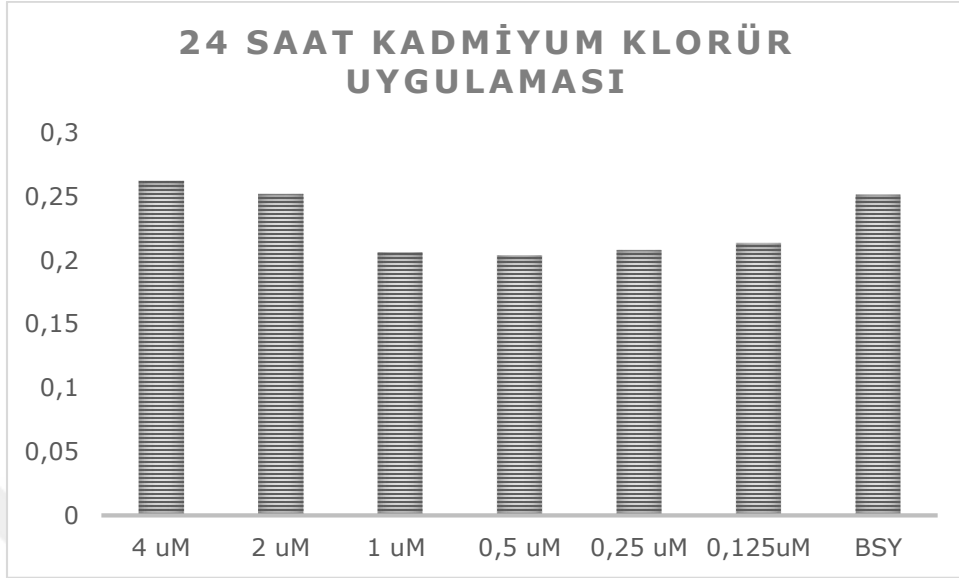
3.4 – hFOB 1.19 Hücrelerinin Standart Eğrilerinin Oluşturulması

Yeterli sayıya ulaşan hFOB 1.19 hücreleri, Tripsin (Gibco, UK) ile tutundukları yüzeyden kaldırıldıktan sonra Neubauer lamında (Marienfeld, Germany) sayılmıştır. Daha sonra her kuyucukta 48x10³, 24x10³, 12x10³, 6x10³, 3x10³, 1,5x10³, 0,75x10³ ve 0 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu well-platelere (Orange Scientific, Braine l'Alleud, Belgium) her biri 6 tekrarlı olacak şekilde ekim yapılmıştır. Ardından toplam hacim besiyeri ile 100 µl'ye tamamlandıktan sonra 34,5°C' de %5 CO₂'de 8 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 50 µl aktivatör eklenmiş XTT solüsyonu (Biological Industries, Israel) eklenerek 540 nm'de Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer cihazında absorbans belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda standart eğri çizilerek absorbans değerlerine göre hücre sayısını belirten denklemler oluşturulmuştur.

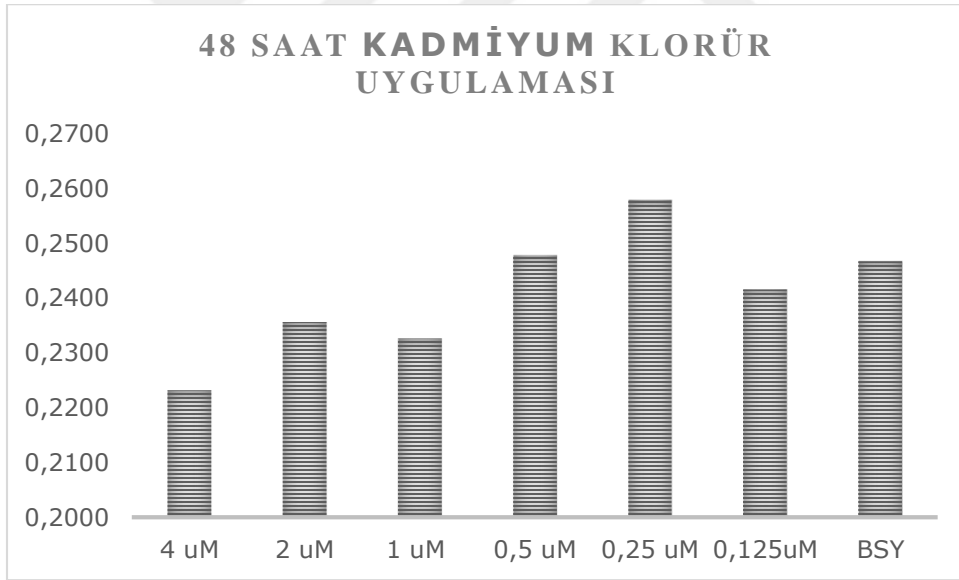
3.5 – Uygulanan Maddelerin Hazırlanması

3.5.1 - CdCl₂ Hazırlanması

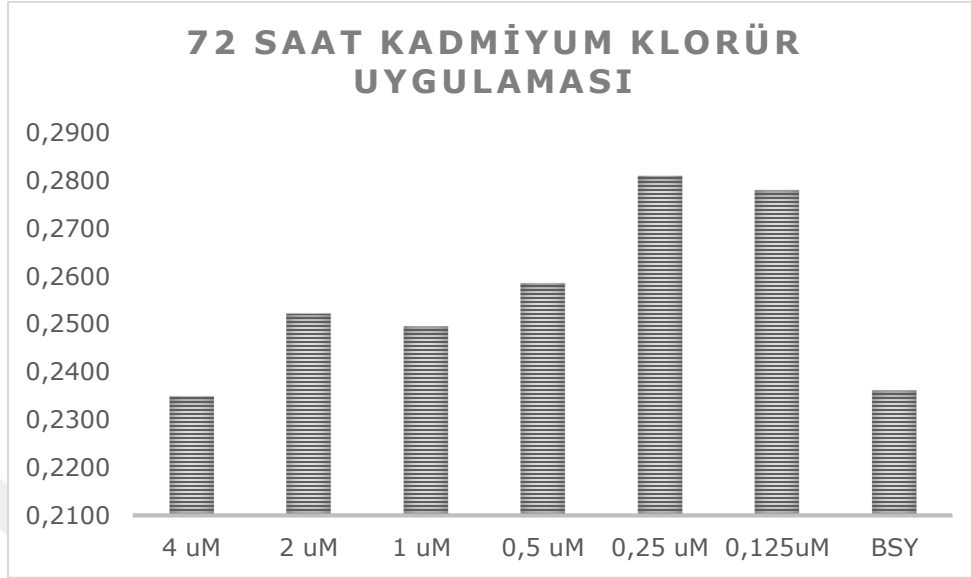
Ticari olarak alınan moleküler ağırlığı 110.98 g/mol olan CdCl₂ (Sigma Aldrich, ABD) serum fizyolojik içerisinde 1M stok solüsyon hazırlanmıştır. Ardından hücrelerin yetiştirilmesinde kullanılan DMEM-F12 (%10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin) besiyeri ile 4 µM, 2 µM, 1 µM, 0,5 µM, 0,25 µM, 0,125 µM konsantrasyonlarda CdCl₂ hazırlanarak 24, 48 ve 72 saat boyunca hFOB 1.19 hücrelerine uygulanmıştır (Şekil 3.1, 3.2, 3.3). Uygulamanın ardından 72 saat boyunca 1 µM CdCl₂ dozu ile tez çalışmasına devam edilmiştir.



Şekil 3.1 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 saat CdCl₂ Uygulaması



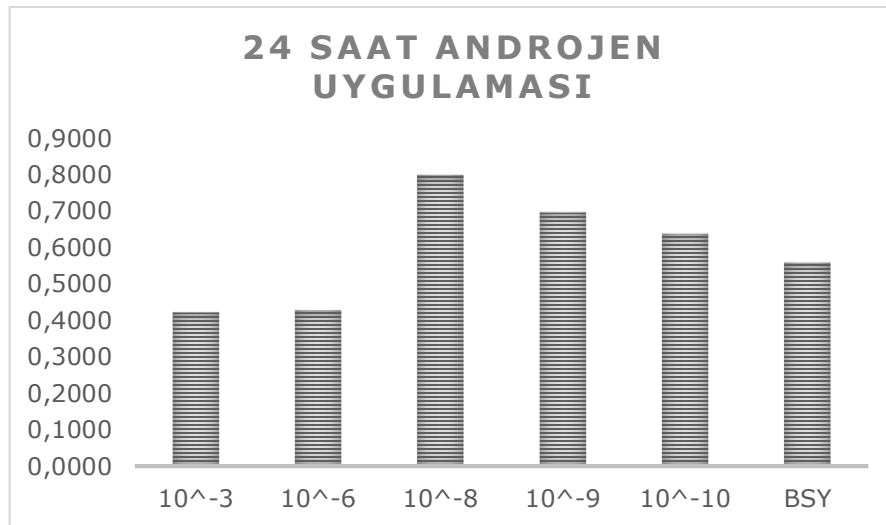
Şekil 3.2 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 saat CdCl₂ Uygulaması



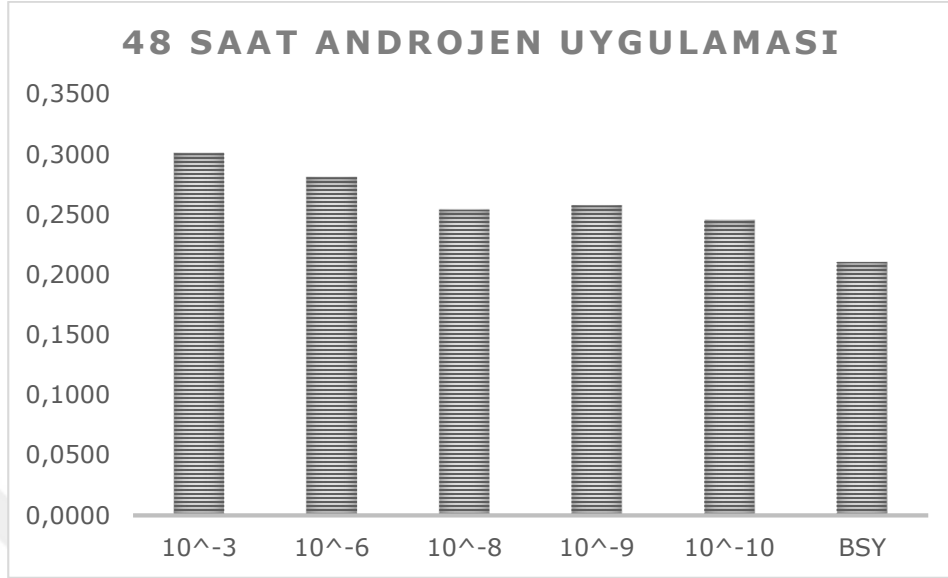
Şekil 3.3 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 saat CdCl₂ Uygulaması

3.5.2 - 5 α -androstan Hazırlanması

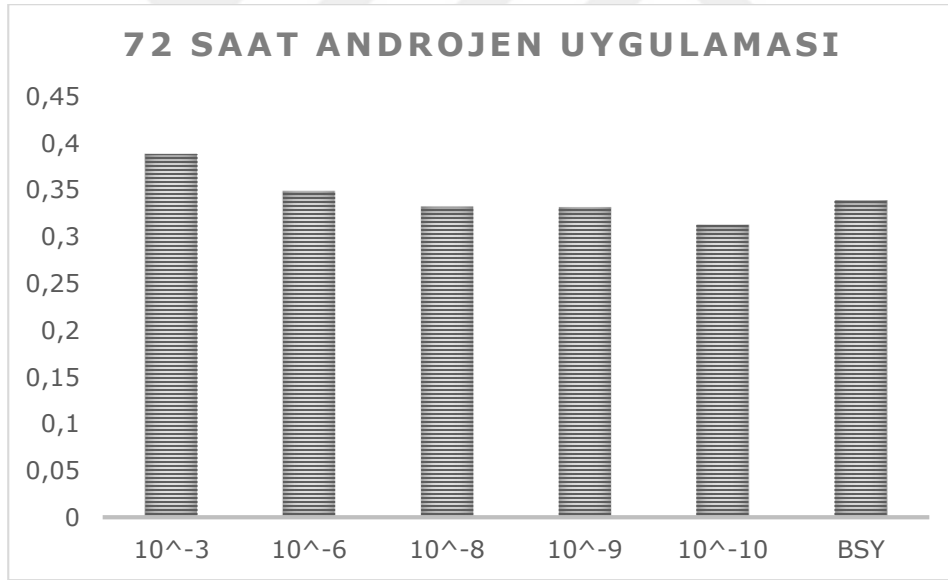
Ticari olarak alınan moleküler ağırlığı 260.5 AMU (*Atomic Mass Unit*) olan 5 α -androstan (Sigma Aldrich, ABD) etanol içerisinde 1M stok solüsyon hazırlanmıştır. Ardından hücrelerin yetiştirilmesinde kullanılan DMEM-F12 (%10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin) besiyeri ile 10⁻³M, 10⁻⁶M, 10⁻⁸M, 10⁻⁹M ve 10⁻¹⁰M konsantrasyonlarda 5 α -androstan hazırlanarak 24, 48 ve 72 saat boyunca hFOB 1.19 hücrelerine uygulanmıştır (Şekil 3.4, 3.5, 3.6). Uygulamanın ardından 72 saat boyunca 10⁻⁹M 5 α -androstan ile tez çalışmasına devam edilmiştir.



Şekil 3.4 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 saat 5 α -androstan Uygulaması



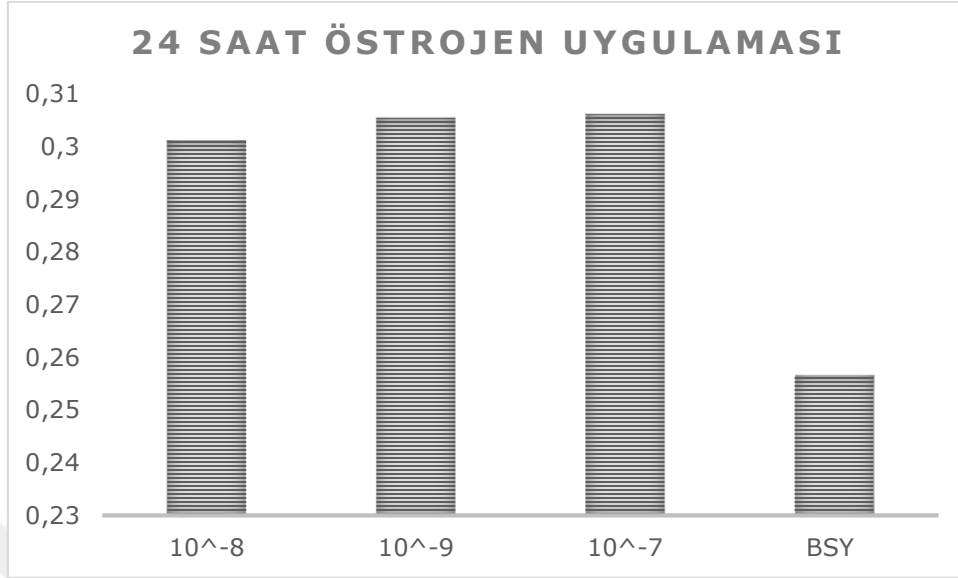
Şekil 3.5 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 saat 5 α -androstan Uygulaması



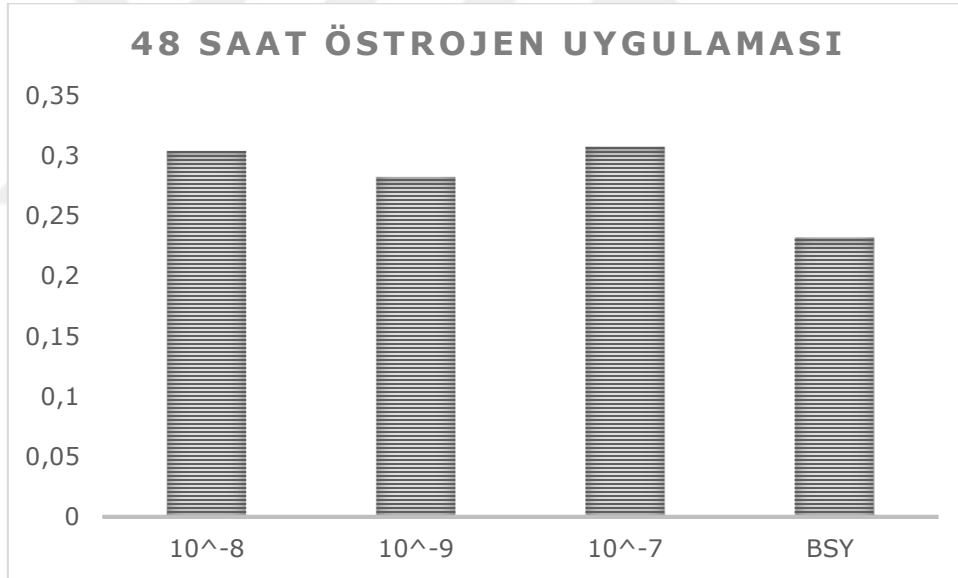
Şekil 3.6 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 saat 5 α -androstan Uygulaması

3.5.3 - 17 β -estrodioil Hazırlanması

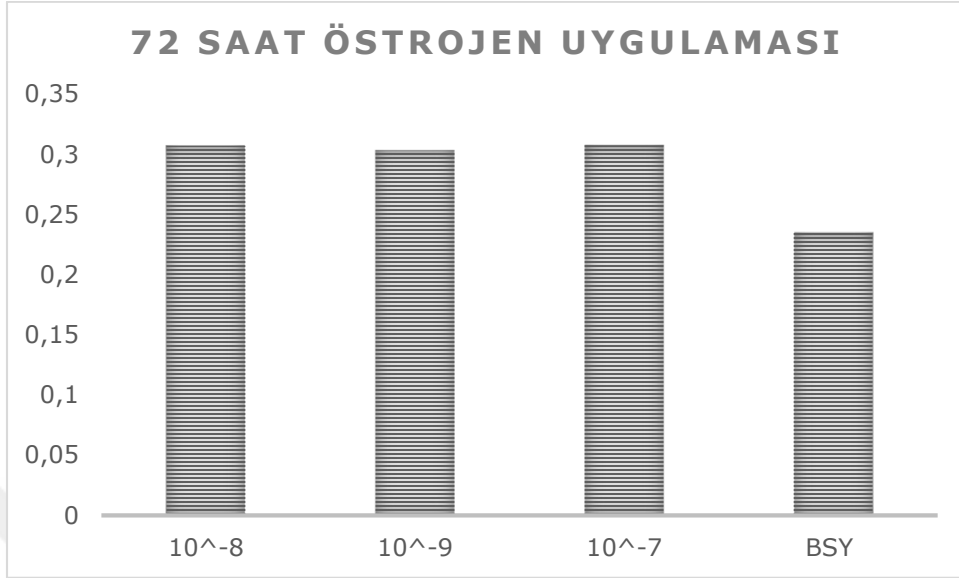
Moleküler ağırlığı 272.38 g/mol olan 17 β estrodioil (Sigma Aldrich, ABD) etanol içerisinde 1M stok solüsyon hazırlanmıştır. Ardından hücrelerin yetiştirilmesinde kullanılan DMEM-F12 (%10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin) besiyeri ile 10⁻⁷M, 10⁻⁸M ve 10⁻⁹M konsantrasyonlarda 17 β -estradioil hazırlanarak 24, 48 ve 72 saat boyunca hFOB 1.19 hücrelerine uygulanmıştır (Şekil 3.7, 3.8, 3.9). Uygulamanın ardından 72 saat boyunca 10⁻⁷M 17 β -estradioil ile tez çalışmasına devam edilmiştir.



Şekil 3.7 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 saat 17β -estradiol Uygulaması



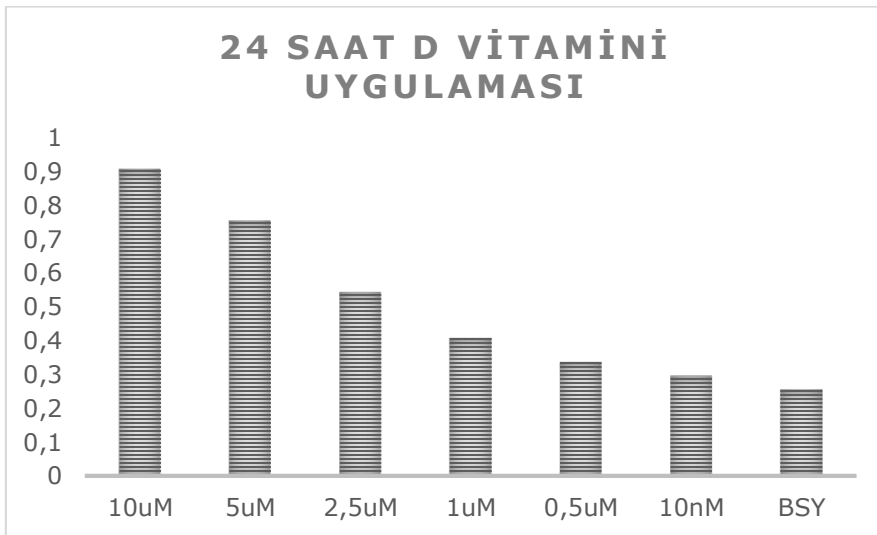
Şekil 3.8 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 saat 17β -estradiol Uygulaması



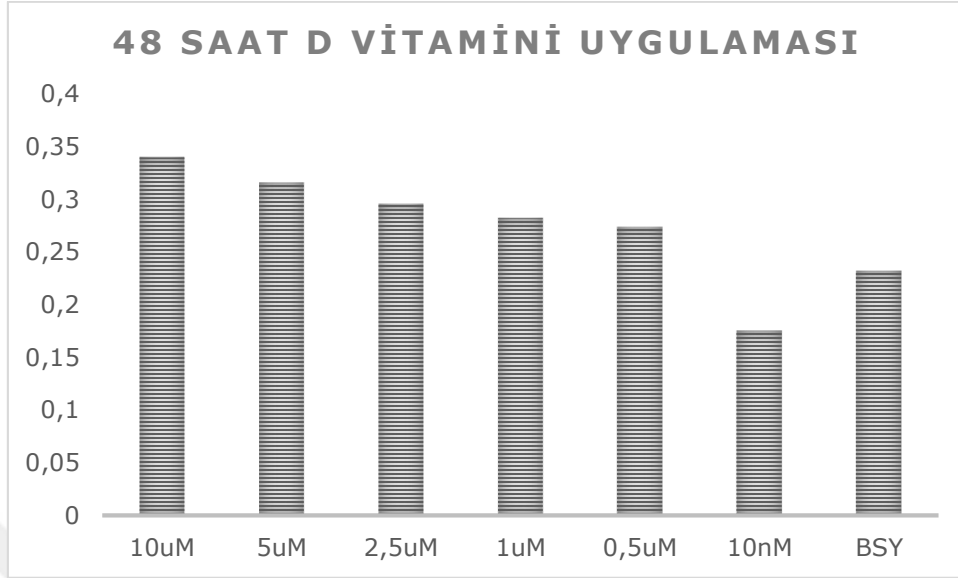
Şekil 3.9 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 saat 17 β -estradiol Uygulaması

3.5.4 - 1 α ,25-Dihidroksivitamin D Hazırlanması

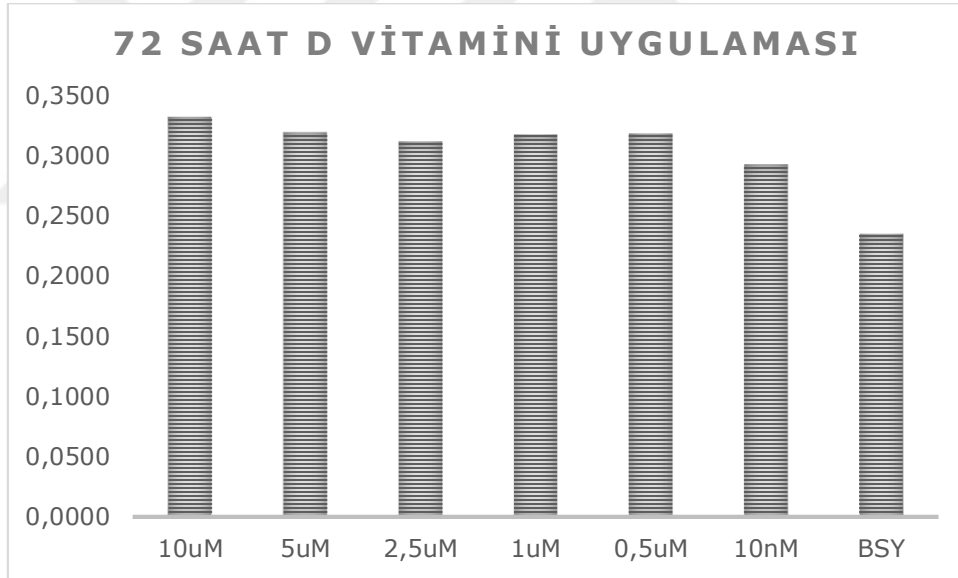
Moleküler ağırlığı 416,64 g/mol olan 1,25(OH)₂D vitamini (Sigma Aldrich, ABD) DMSO içerisinde 1M stok solüsyon hazırlanmıştır. Ardından hücrelerin yetiştirilmesinde kullanılan DMEM-F12 (%10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin) besiyeri ile 10 μ M, 5 μ M, 2,5 μ M, 1 μ M, 0,5 μ M VE 10 nm konsantrasyonlarda 1,25(OH)₂ D vitamini hazırlanarak 24, 48 ve 72 saat boyunca hFOB 1.19 hücrelerine uygulanmıştır (Şekil 3.10, 3.11, 3.12). Uygulamanın ardından 72 saat boyunca 10 μ M 1,25(OH)₂ D vitamini ile tez çalışmasına devam edilmiştir.



Şekil 3.10 hFOB 1.19 Hücrelerine 24 saat 1,25(OH)₂ D vitamini Uygulaması



Şekil 3.11 hFOB 1.19 Hücrelerine 48 saat 1,25(OH)₂ D vitamini Uygulaması



Şekil 3.12 hFOB 1.19 Hücrelerine 72 saat 1,25(OH)₂ D vitamini Uygulaması

3.5.5. – Maddelerin Uygulanış Yöntemleri

25 ve 75 cm²' lik flaslara ekim yapılan ve yeterli miktara ulaşan hücelere gruplara Tablo 3.2' de belirtilen miktar ve zamanlarda uygulama yapılmıştır.

Tablo 3.2 Maddelerin Uygulanış Yöntemleri

Grup 1	Hücreler, 72 saat boyunca besiyeri ile muamele edilmiştir. Süre sonunda besiyeri değişikliği yapılmıştır.
Grup 2	Hücelere 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulanmıştır.
Grup 3	Hücelere 72 saat boyunca 1,25(OH) ₂ D vitamini uygulanmıştır.
Grup 4	Hücelere 72 saat boyunca 17β-estradiol uygulanmıştır.
Grup 5	Hücelere 72 saat boyunca 5α-androstan uygulanmıştır.
Grup 6	Hücelere 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulamasının ardından 72 saat boyunca 1,25(OH) ₂ D uygulanmıştır.
Grup 7	Hücelere 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulamasının ardından 72 saat boyunca 17β-estradiol uygulanmıştır.
Grup 8	Hücelere 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulamasının ardından 72 saat boyunca 5α-androstan uygulanmıştır.
Grup 9	Hücelere 72 saat boyunca 1,25(OH) ₂ D uygulamasının ardından 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulanmıştır.
Grup 10	Hücelere 72 saat boyunca 17β-estradiol uygulamasının ardından 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulanmıştır.
Grup 11	Hücelere 72 saat boyunca 5α-androstan uygulamasının ardından 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulanmıştır.
Grup 12	Hücelere 72 saat boyunca 1,25(OH) ₂ D+17β-estradiol+5α-androstan uygulamasının ardından 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulanmıştır.
Grup 13	Hücelere 72 saat boyunca CdCl ₂ uygulamasının ardından 72 saat boyunca 1,25(OH) ₂ D+17β-estradiol+5α-androstan uygulanmıştır.

Uygulama süresinin tamamlanmasının ardından gruplar ayrı ayrı tripsin ile kaldırılarak analizler için hazır hale getirilmiştir.

3.6 – Proliferasyon ve Adezyon Belirlemesi

Plate tabanından Tripsin ile kaldırılarak Neubauer lamında sayılan hücreler, her bir kuyucukta 7x10³ hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır.

Ardından toplam hacim besiyeri ile 100 µl'ye tamamlanarak 48 saat 34,5°C ve %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin dolmasının ardından proliferasyon ve adezyon analizleri yapılmıştır.

3.6.1 - Proliferasyon Belirlemesi

Hücrelerde meydana gelen proliferasyon değişimi, XTT analizi ile belirlenmiştir. XTT analizi, tetrazolium tuzuna dayalı bir analiz yöntemidir ve kolorometrik olarak hücre proliferasyonunun kantitatif olarak belirlenmesine olanak sağlar. Proliferasyon analizi için, 96 well-plate içerisinde bulunan hücrelerin üzerine 50 µl aktivatör eklenmiş XTT solüsyonu eklenmesinin ardından 2 saat 34,5°C ve %5 CO₂'de inkübasyondan sonra 540 nm'de Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer cihazında absorbans değerleri belirlenmiştir.

3.6.2 – Adezyon Belirlemesi

Adezyon analizinde 96-well plate içerisinde bulunan hücreler 3 kez besiyeri ile yıkanmıştır. 100 µl taze besiyeri eklendikten sonra 50 µl aktivatör-XTT solüsyonu eklenmiştir. 2 saat 34,5°C ve %5 CO₂'de inkübasyonun ardından 540 nm'de Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer cihazında absorbans değerleri belirlendi.

3.7 – ELISA Ölçümleri

Vitamin D reseptör, osteoprotegerin, osteokalsin, kemik alkalin fosfat, östrojen reseptör ve androjen reseptör belirlemelerinde uygun ELISA kitleri kullanılmıştır. ELISA kit protokolleri ortak olup, her analiz için protokollere uygun standartlar hazırlanmıştır. Bu standartların belirlenmesi için kullanılan farklı konsantrasyonlar kit prosedüründekine uygun olarak belirlenmiştir ve standart eğriler oluşturulmuştur.

3.7.1 - ELISA Uygulaması ve Standart Hazırlanması

Tez araştırması sırasında kullanılan hFOB 1.19 hücrelerinde konsantrasyon ve aktivite değişimleri için sandaviç ELISA (SunRed Bio. Tech., China) analizleri yapılmıştır. Kit protokolüne uygun olarak aşağıdaki çalışma basamakları takip edilmiştir;

1. Deney gerçekleştirilme süresine kadar 2-8°C' de saklanan kitler, deneye başlamadan önce ortam sıcaklığına uyum sağlaması için 30 dakika bekletilmiştir.

2. hFOB 1.19 osteoblast hücreleri, 20 dakika 2500 rpm de santrifüj edildikten sonra pelletin üzerine pH 7.2-7.4 PBS eklenmiştir. Hücre konsantrasyonu 1 milyon/ml olmasını sağlandıktan sonra pipetleme yapılarak

intrasellüler komponentlerin supernatanta karışması sağlanmıştır. Ardından 20 dakika 2500 rpm’de santrifüj edilerek ve supernatant uzaklaştırılmıştır.

3. Osteoblast hücre ELISA analizlerinde standart dilüsyonlar yapılan analizlere göre hazırlanmıştır (Tablo 3.3). Hazırlanan standartlar kuyucuklarda duplike olarak çalışılmıştır.

Tablo 3.3 ELISA Standart Dilüsyonları

ANDROJEN RESEPTÖR STANDART DİLUSYONU		
40 ng/mL	St. No 5	120 µl Orijinal St. + 120 µl Diluent
20 ng/mL	St. No 4	120 µl St. No 5 + 120 µl Diluent
10 ng/mL	St. No 3	120 µl St. No 4 + 120 µl Diluent
5 ng/mL	St. No 2	120 µl St. No 3 + 120 µl Diluent
2.5 ng/mL	St. No 1	120 µl St. No 2 + 120 µl Diluent
ÖSTROJEN RESEPTÖR STANDART DİLUSYONU		
96 ng/mL	St. No 5	120 µl Orijinal St. + 120 µl Diluent
48 ng/mL	St. No 4	120 µl St. No 5 + 120 µl Diluent
24 ng/mL	St. No 3	120 µl St. No 4 + 120 µl Diluent
12 ng/mL	St. No 2	120 µl St. No 3 + 120 µl Diluent
6 ng/mL	St. No 1	120 µl St. No 2 + 120 µl Diluent
VİTAMİN D RESEPTÖR STANDART DİLUSYONU		
120 ng/mL	St. No 5	120 µl Orijinal St. + 120 µl Diluent
60 ng/mL	St. No 4	120 µl St. No 5 + 120 µl Diluent
30 ng/mL	St. No 3	120 µl St. No 4 + 120 µl Diluent
15 ng/mL	St. No 2	120 µl St. No 3 + 120 µl Diluent
7.5 ng/mL	St. No 1	120 µl St. No 2 + 120 µl Diluent
KEMİK ALKALEN FOSFATAZ		
480 U/L	St. No 5	120 µl Orijinal St. + 120 µl Diluent
240 U/L	St. No 4	120 µl St. No 5 + 120 µl Diluent
120 U/L	St. No 3	120 µl St. No 4 + 120 µl Diluent

60 U/L	St. No 2	120 µl St. No 3 + 120 µl Diluent
30 U/L	St. No 1	120 µl St. No 2 + 120 µl Diluent
OSTEOKALSİN STANDART DİLUSYONU		
80 ng/mL	St. No 5	120 µl Orijinal St. + 120 µl Diluent
40 ng/mL	St. No 4	120 µl St. No 5 + 120 µl Diluent
20 ng/mL	St. No 3	120 µl St. No 4 + 120 µl Diluent
10 ng/mL	St. No 2	120 µl St. No 3 + 120 µl Diluent
5 ng/mL	St. No 1	120 µl St. No 2 + 120 µl Diluent
OSTEOPROTEGERİN STANDART DİLUSYONU		
400 ng/mL	St. No 5	120 µl Orijinal St. + 120 µl Diluent
200 ng/mL	St. No 4	120 µl St. No 5 + 120 µl Diluent
100 ng/mL	St. No 3	120 µl St. No 4 + 120 µl Diluent
50 ng/mL	St. No 2	120 µl St. No 3 + 120 µl Diluent
25 ng/mL	St. No 1	120 µl St. No 2 + 120 µl Diluent

4. Blank kuyucuğuna sadece Chromogen solution A ve B ile Stop Solution eklenmiştir.

5. Standart kuyucuklarına 50 µl hazırlanan standart solüsyonları, Streptavidin-HRP 50 ul eklenmiştir.

6. Analiz kuyucuklarına 40 µl osteoblast hücre, 10 µl analiz için spesifik antikor ve Streptavidin-HRP 50 µl eklenmesinin ardında sızdırmazlık membranını kapatarak ve hafifçe çalkalanmıştır. Ardından, karanlık ortamda 60 dakika 37 ° C'de inkübe edilmiştir.

7. 30X "Washing Buffer"ı 30 kez distile su ile dilue edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından membranı dikkatli bir şekilde uzaklaştırarak içerisinde karışım boşaltılmıştır. Ardından dilue edilen "Washing Buffer" ile 8 kez yıkama işlemi tekrar edilmiştir.

8. Her kuyucuğa 50 µl Chromogen Solution A ekledikten sonra Chromogen Solution B' den 50 µl eklenmiştir. Yavaşça karıştırılarak 10 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir.

9. İnkübasyon süresinin ardından 50 µl Stop Solüsyonu eklenmiştir. Stop solüsyonu ilave edildikten 15 dakika içinde 450 nm dalga boyundaki OD ölçülmüştür.

10. OD değerleri elde edildikten sonra, hesaplama aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada elde edilen standartlara göre horizontal bir grafik

çizilerek denklem elde edilmiştir ve elde edilen denklemden örneklerin protein konsantrasyonları hesaplanmıştır.

3.8 – İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler, IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu, Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak; normal dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları ise tek yönlü varyans analizi (OneWay ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar, Tukey HSD Testi ile gerçekleştirilmiştir. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar Dunn test kullanılarak değerlendirilmiştir.

4- BULGULAR

4.1 - hFOB 1.19 Hücre Dizisi Standart Eğrisi

Hücrelerin standart eğrilerinden elde edilen formülizasyon ile adezyon ve proliferasyon analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1 hFOB 1.19 Hücre Standart Eğrisi

4.2 – Gruplandırma Sistemi

Tez çalışmasının bulgularının değerlendirilmesinde aşağıdaki tablo kullanılmıştır.

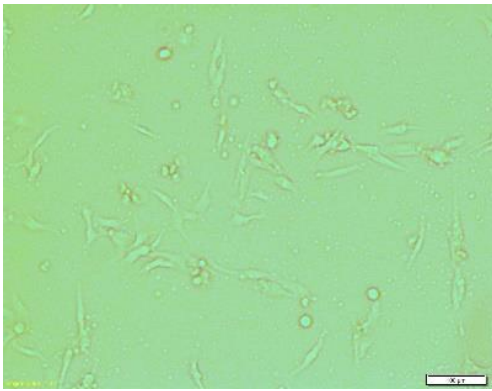
Tablo 4.1 Gruplandırma Sistemi

Grup-1	Besiyeri	Grup-8	CdCl ₂ +5α-androstan
Grup-2	CdCl ₂ Kontrol	Grup-9	1,25(OH) ₂ D vitamini+ CdCl ₂
Grup-3	1,25(OH) ₂ D vitamini Kontrol	Grup-10	17β-estradiol+ CdCl ₂
Grup-4	17β-estradiol Kontrol	Grup-11	5α-androstan+ CdCl ₂
Grup-5	5α-androstan Kontrol	Grup-12	ÖAD*+ CdCl ₂
Grup-6	CdCl ₂ +1,25(OH) ₂ D vitamini	Grup-13	CdCl ₂ + ÖAD*
Grup-7	CdCl ₂ +17β-estradiol		

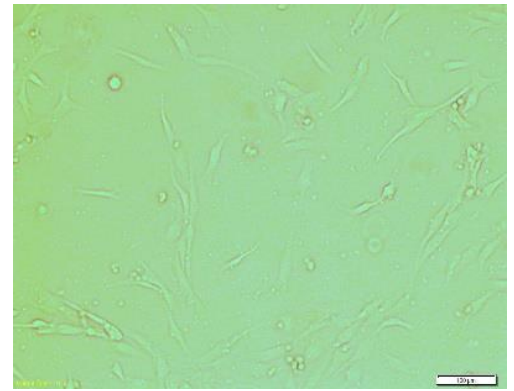
4.3 - hFOB 1.19 Görüntülemesi

Uygulama sürelerinin dolmasının ardından hücreler, Olympus BX40 marka mikroskop kullanılarak fotoğraflanmıştır.

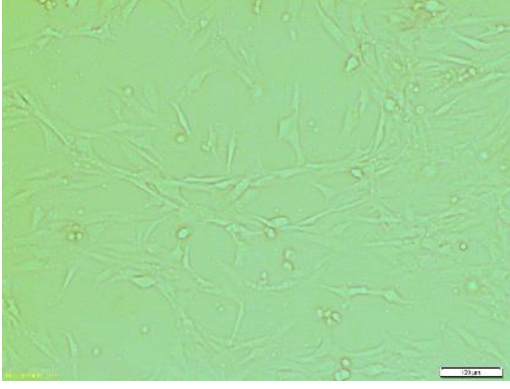
Şekil 4.2’de besiyerinde 72 saat boyunca yetiştirilmiş hFOB 1.19 hücreleri görülmektedir. Şekil 4.3’de 72 saat boyunca $CdCl_2$ uygulanmış hücreler görüntülenmiştir. Osteoblast hücre sayılarında azalma meydana gelmiştir (ölen hücreler tutundukları yüzeyden kalkmış, yuvarlak olarak görülmektedir). Aynı zamanda hücreler bir arada kalma eğiliminden çok birbiri ardına çoğalma (düz bir çizgi halinde) eğilim gösterdiği belirlenmiştir. Şekil 4.4’de $1,25(OH)_2 D$ vitamini uygulamasına bağlı olarak hücre sayılarında artış olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.5’de ise hFOB 1.19 hücrelerinde östrojen uygulamasına bağlı olarak hücre sayılarında artış gözlenmiştir. Ayrıca, hücreler daha büyüktür. Şekil 4.6 osteoblast hücrelerinde 5α -androstan uygulamasına bağlı olarak hücre sayılarında kısmi olarak artış meydana gelmiştir. Şekil 4.7’de görülen osteoblast hücrelerinde $CdCl_2$ toksisitesinin ardından $1,25(OH)_2D$ vitamininin etkisi gözlenmiştir. Hücre sayısında kısmi artış ve toksisite etkisine bağlı olarak morfolojik değişim meydana geldiği tespit edilmiştir. Şekil 4.8 ve şekil 4.9’da osteoblast hücrelerinde $CdCl_2$ toksisitesinin ardından seks hormonlarının olumlu etkisi görülmüştür; hücre sayısında artış görülmektedir. Şekil 4.10 hücrelerinde $1,25(OH)_2 D$ vitaminini morfolojisine bağlı olarak hücrelerde irileşmenin yanında $CdCl_2$ toksisitesine bağlı olarak hücre sayısında azalma meydana gelmiştir. Şekil 4.11 ve şekil 4.12’de osteoblast hücrelerinde sırasıyla östrojen ve androjenin etkisiyle hücre sayısında kısmi artış meydana geldiği görülmektedir. Şekil 4.13’de ÖAD’ nin $CdCl_2$ toksisitesine karşı koruyucu ve şekil 4.14’de ÖAD’ nin $CdCl_2$ toksisitesine karşı tedavi edici etkisi açıkça gözlenmektedir. Osteoblast hücrelerinde meydana gelen sayı artışı gözlenmektedir.



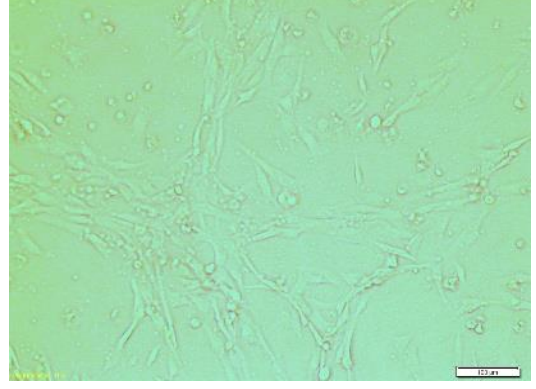
Şekil 4.2 Besiyeri (Kontrol) Hücreleri



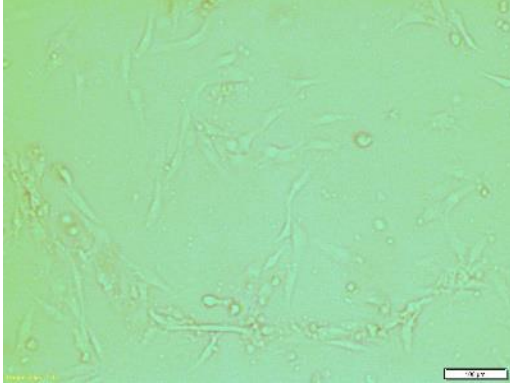
Şekil 4.3 $CdCl_2$ Kontrol Hücreleri



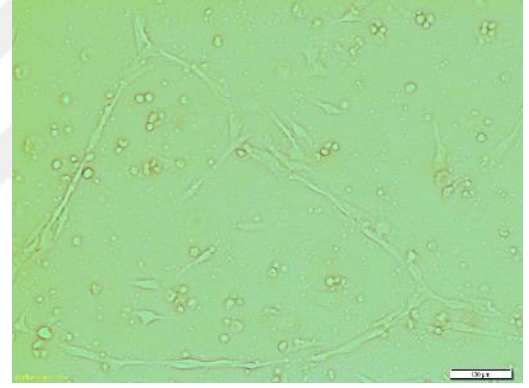
Şekil 4.4. 1,25(OH)₂ D Vitamini Kontrol Hücreleri



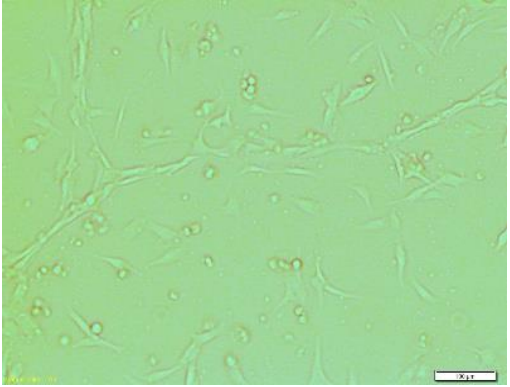
Şekil 4.5. 17β-estradiol Kontrol Hücreleri



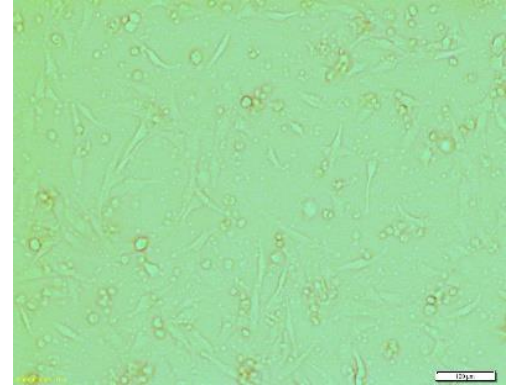
Şekil 4.6 5α-androstan Kontrol Hücreleri



Şekil 4.7. CdCl₂+1,25(OH)₂D Vitamini Uygulanan Hücreler



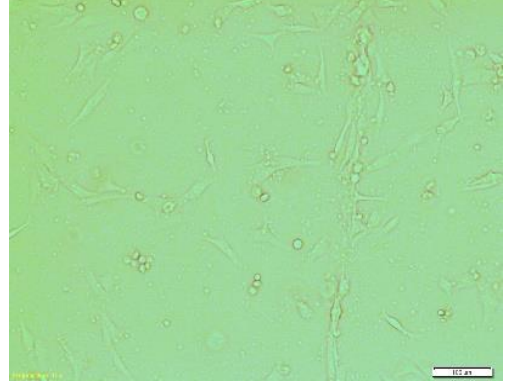
Şekil 4.8. CdCl₂+17β-estradiol Uygulanan Hücreler



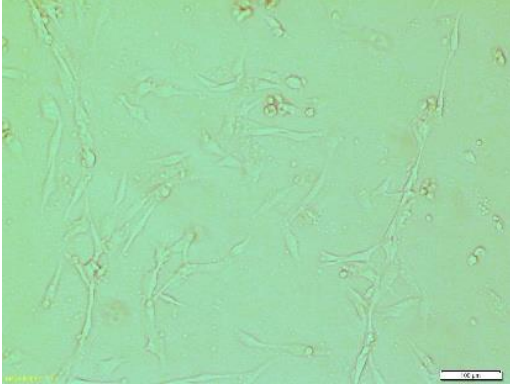
Şekil 4.9. CdCl₂+5α-androstan Uygulanan Hücreler



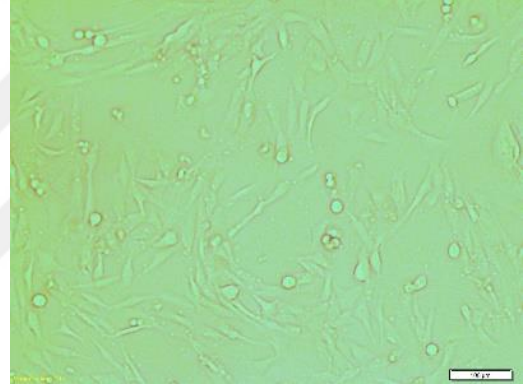
Şekil 4.10 1,25(OH)₂D+CdCl₂
Uygulanan Hücreler



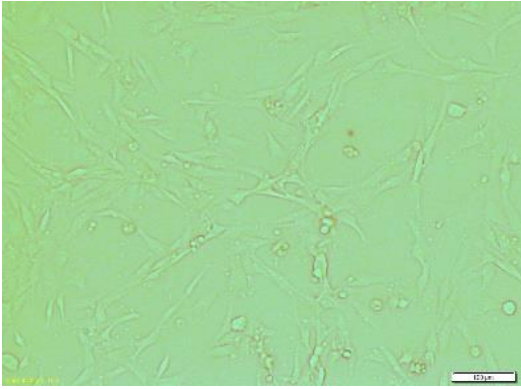
Şekil 4.11 17β-estradiol+ CdCl₂
Uygulanan Hücreler



Şekil 4.12 5α-androstan+ CdCl₂
Uygulanan Hücreler



Şekil 4.13 ÖAD+ CdCl₂ Uygulanan Hücreler

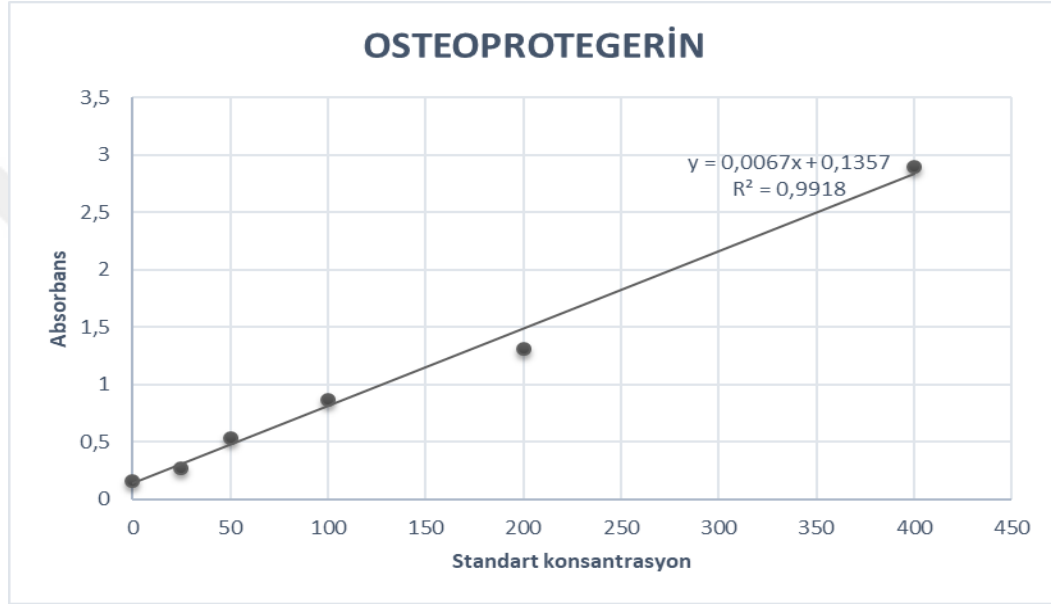


Şekil 4.14 CdCl₂+ÖAD Uygulanan Hücreler

4.4 – Osteoprotegerin ELISA Bulguları

4.4.1 – Osteoprotegerin Standart Eğrisi

hFOB 1.19 hücreleri ile yapılan tez çalışması sonucunda 450 nm’de standart eğri oluşturulmuştur (Şekil 4.15). Elde edilen grafikten oluşan formül, istatikselsel verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

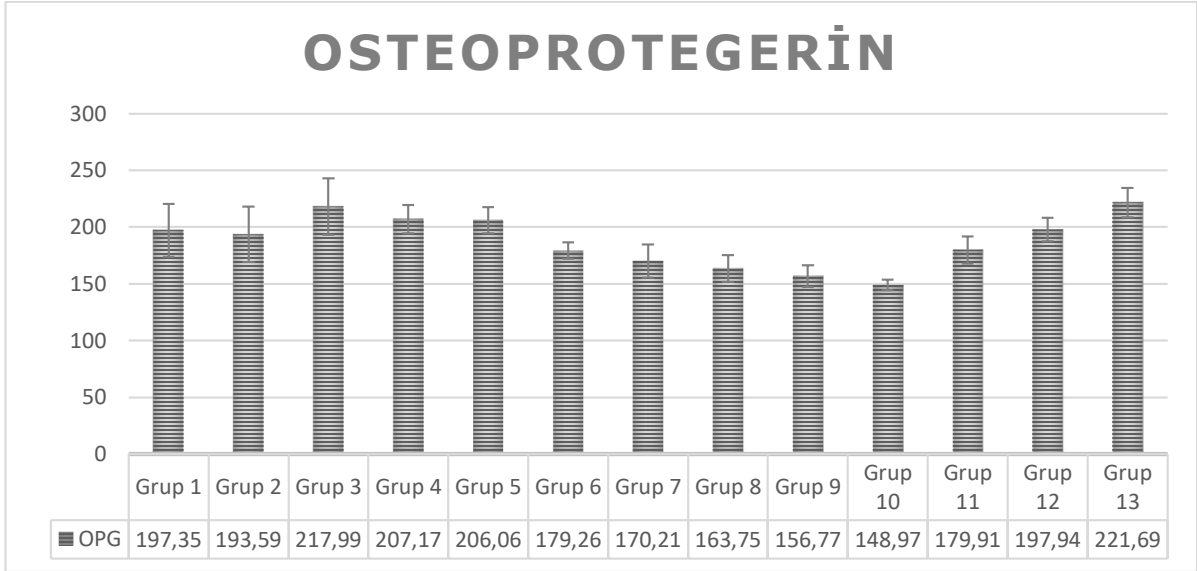


Şekil 4.15 Osteoprotegerin ELISA Standart Eğrisi

4.4.2 – Osteoprotegerin ELISA Sonuçları

Osteoprotegerin (OPG) ELISA testi sonuçları, post Hoc Testi istatikselsel analizi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0$) (Şekil 4.16).

Grup 6’ya göre, grup 3 ($p < 0.01$) ve grup 13 ($p < 0$) artış göstermiştir. Grup 7’ye göre, grup 3 ($p < 0$), grup 4 ($p < 0.01$) ile grup 5 ($p < 0.01$) artmıştır. Grup 8 karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0.05$), grup 3 ($p < 0$), grup 4 ($p < 0$) ve grup 5’de ($p < 0.01$) artış belirlenmiştir. Grup 9 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0.01$), grup 2 ($p < 0.01$), grup 3 ($p < 0$) ile grup 5 ($p < 0$) artmıştır. Grup 10’ a göre, grup 1 ($p < 0$), grup 2 ($p < 0$) ve grup 3 ($p < 0$), grup 4 ($p < 0$) ve grup 5 ($p < 0$), grup 11 ($p < 0.05$), grup 12 ($p < 0$) ve grup 13 ($p < 0$) grupları artış göstermiştir. Grup 11 ile karşılaştırıldığında grup 3 ($p < 0.01$), grup 13 ($p < 0.001$) artmasına karşın grup 10 ($p < 0.05$) azalmıştır. Grup 12 ile karşılaştırıldığında grup 8 ($p < 0.05$), grup 9 ($p < 0.001$) ve grup 10’ da ($p < 0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 13 verilerine göre grup 6 ($p < 0$), grup 7 ($p < 0$), grup 8 ($p < 0$), grup 9 ($p < 0$), grup 10 ($p < 0$) ve grup 11 ($p < 0.001$) azalmıştır.

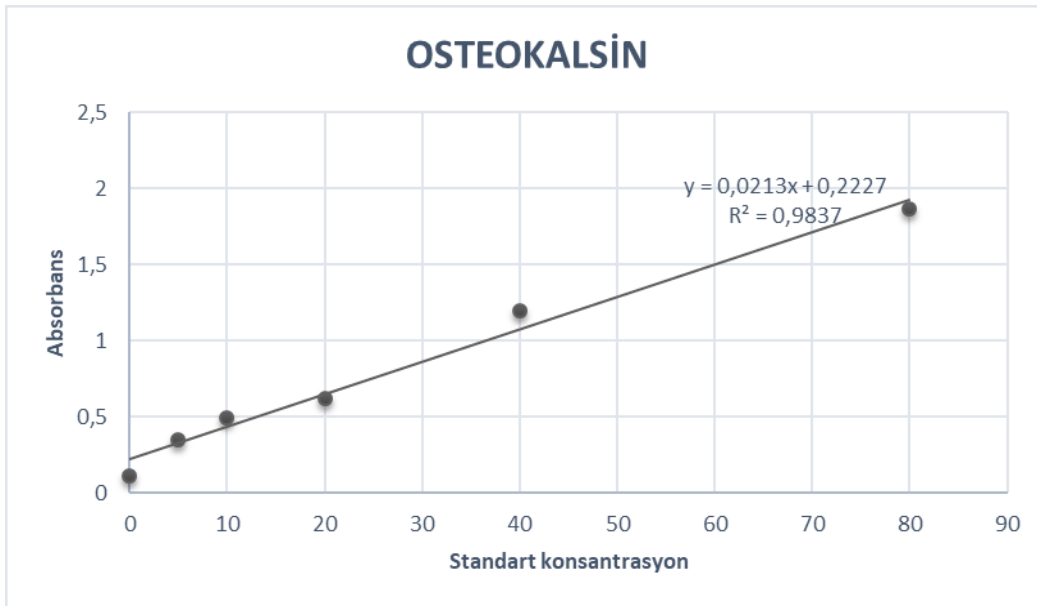


Şekil 4.16 Osteoprotegerin ELISA Sonuçları

4.5 - Osteokalsin ELISA Bulguları

4.5.1 - Osteokalsin Standart Eğrisi

hFOB 1.19 hücreleri ile yapılan tez çalışması sonucunda 450 nm'de standart eğri oluşturulmuştur (Şekil 4.17). Elde edilen grafikten oluşan formül, istatikselsel verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

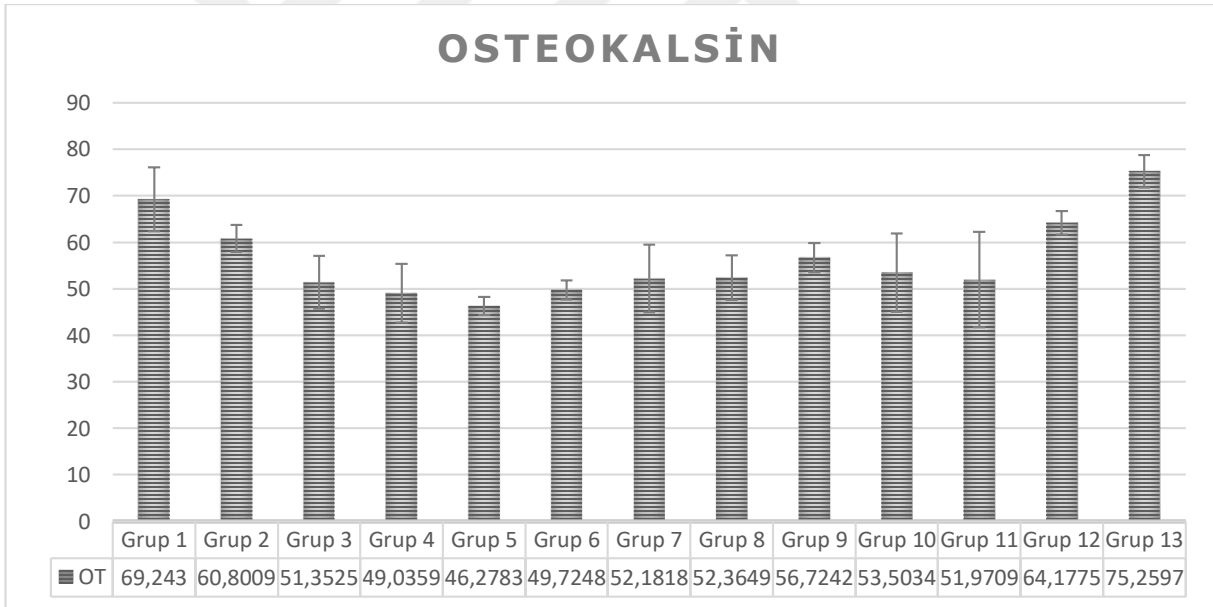


Şekil 4.17 Osteokalsin ELISA Standart Eğrisi

4.5.2 – Osteokalsin ELISA Sonuçları

Osteokalsin (OT) ELISA testleri, post Hoc Testi istatistiksel analizleri sonucunda gruplar arasında istatistiksel fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0$) (Şekil 4.18).

Grup 6 ile karşılaştırıldığında, grup 1 ($p < 0$), grup 2 ($p < 0.05$), grup 12 ($p < 0$) ve grup 13’de ($p < 0$) artış analiz edilmiştir. Grup 7’ye göre grup 1 ($p < 0$), grup 12 ($p < 0.01$) ve grup 13 ($p < 0$) artmıştır. Grup 8 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0$), grup 12 ($p < 0.01$) ve grup 13’de ($p < 0$) artış gözlenmiştir. Grup 9 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0.01$) ve grup 13 ($p < 0$) artmasına karşın grup 5 ($p < 0.05$) azalmıştır. Grup 10 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0$), grup 12 ($p < 0.05$) ve grup 13 ($p < 0$) artmıştır. Grup 11’e göre grup 1 ($p < 0$), grup 12 ($p < 0.01$) ve grup 13 ($p < 0$) artış göstermiştir. Grup 12 ile karşılaştırıldığında, grup 13 ($p < 0.05$) artmıştır.

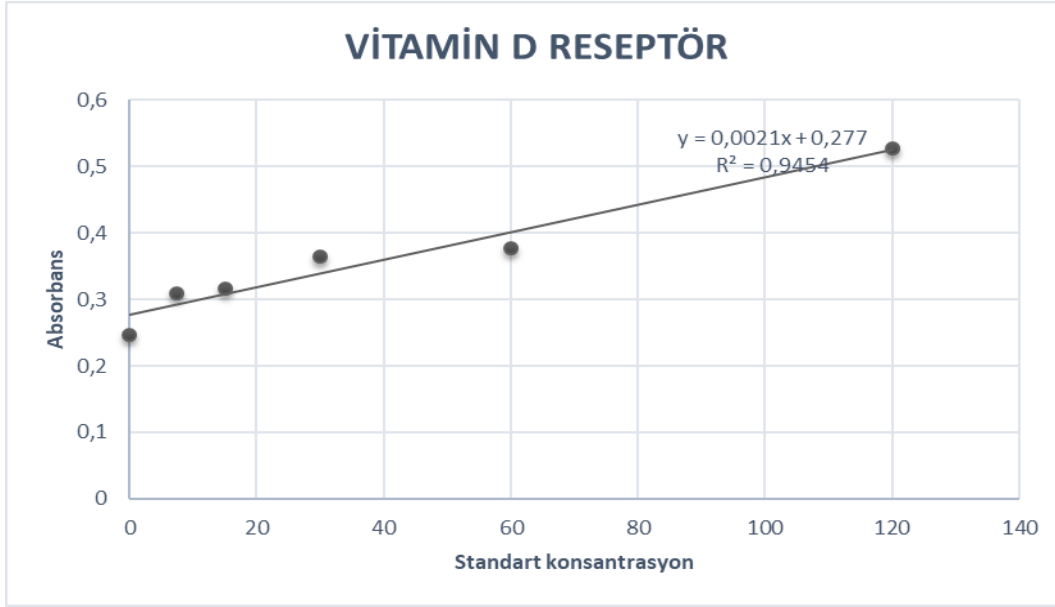


Şekil 4.18 Osteokalsin ELISA Sonuçları

4.6 – Vitamin D Reseptör ELISA Bulguları

4.6.1 - Vitamin D Reseptör Standart Eğrisi

hFOB 1.19 hücreleri ile yapılan tez çalışması sonucunda 450 nm’de standart eğri oluşturulmuştur (Şekil 4.19). Elde edilen grafikten oluşan formül, istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

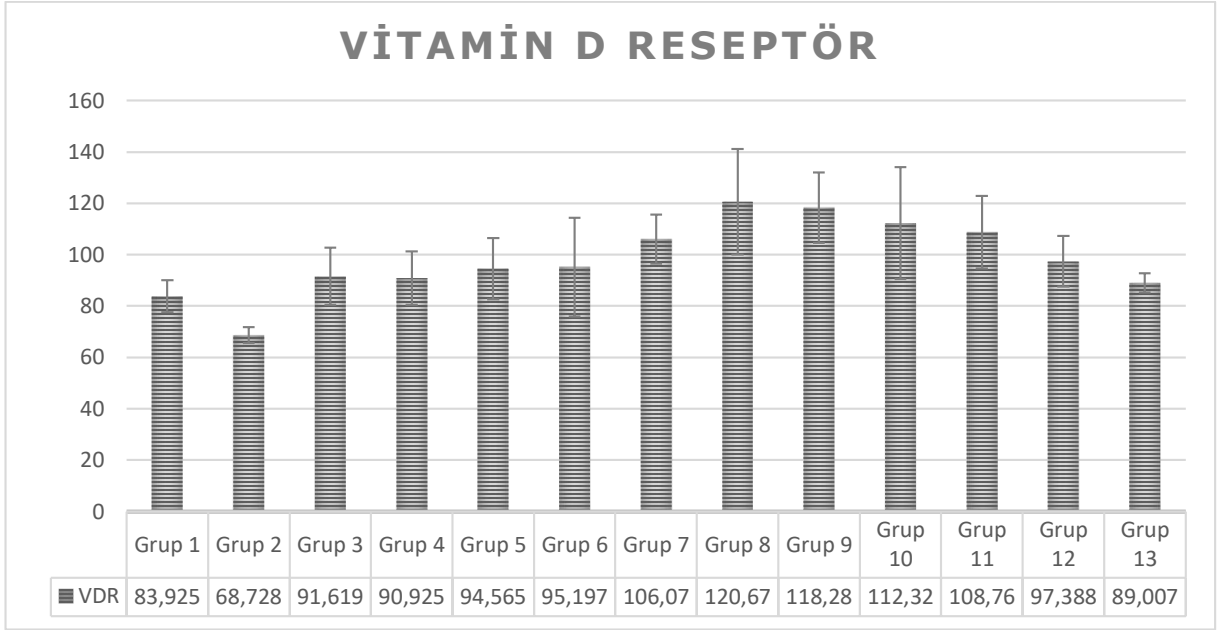


Şekil 4.19 Vitamin D Reseptör ELISA Standart Eğrisi

4.6.2 - Vitamin D Reseptör ELISA Sonuçları

Vitamin D reseptör (VDR) ELISA testi post Hoc Testi istatistiksel analizleri sonucunda gruplar arasında istatistiksel fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0$) (Şekil 4.20).

Grup 6 ile karşılaştırıldığında grup 2 ($p < 0.05$) azalmasına karşın grup 8 ($p < 0.05$) artmıştır. Grup 7'ye göre grup 2 ($p < 0$) azalma göstermiştir. Grup 8 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0$), grup 2 ($p < 0$) ve grup 3 ($p < 0.01$) ile grup 4 ($p < 0.01$) ve grup 5 ($p < 0.05$) azalmıştır. Ayrıca, grup 6 ($p < 0.05$) ve grup 13'de ($p < 0.01$) de benzer şekilde azalma tespit edilmiştir. Grup 9 karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0.01$), grup 2 ($p < 0$), grup 3 ($p < 0.05$) ve grup 4 ($p < 0.05$) ile grup 13 ($p < 0.01$) azalmıştır. Grup 10'a göre grup 1 ($p < 0.05$) ve grup 2'de ($p < 0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 11 ile grup 2 karşılaştırıldığında azalma ($p < 0$) tespit edilmiştir. Grup 12'ye göre grup 2 ($p < 0$) azalmıştır. Grup 13 ile karşılaştırıldığında grup 8 ($p < 0.01$) ve grup 9'da ($p < 0.01$) azalma belirlenmiştir.

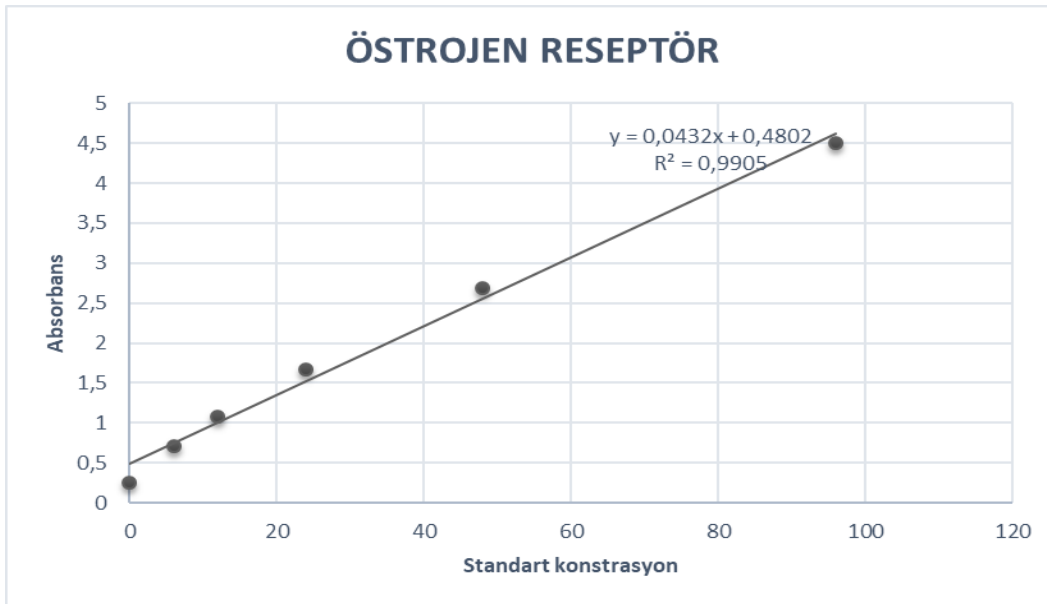


Şekil 4.20 Vitamin D Reseptör ELISA Sonuçları

4.7 – Östrojen Reseptör ELISA Bulguları

4.7.1 – Östrojen Reseptör Standart Eğrisi

hFOB 1.19 hücreleri ile yapılan tez çalışması sonucunda 450 nm’de standart eğri oluşturulmuştur (Şekil 4.21). Elde edilen grafikten oluşan formül, istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

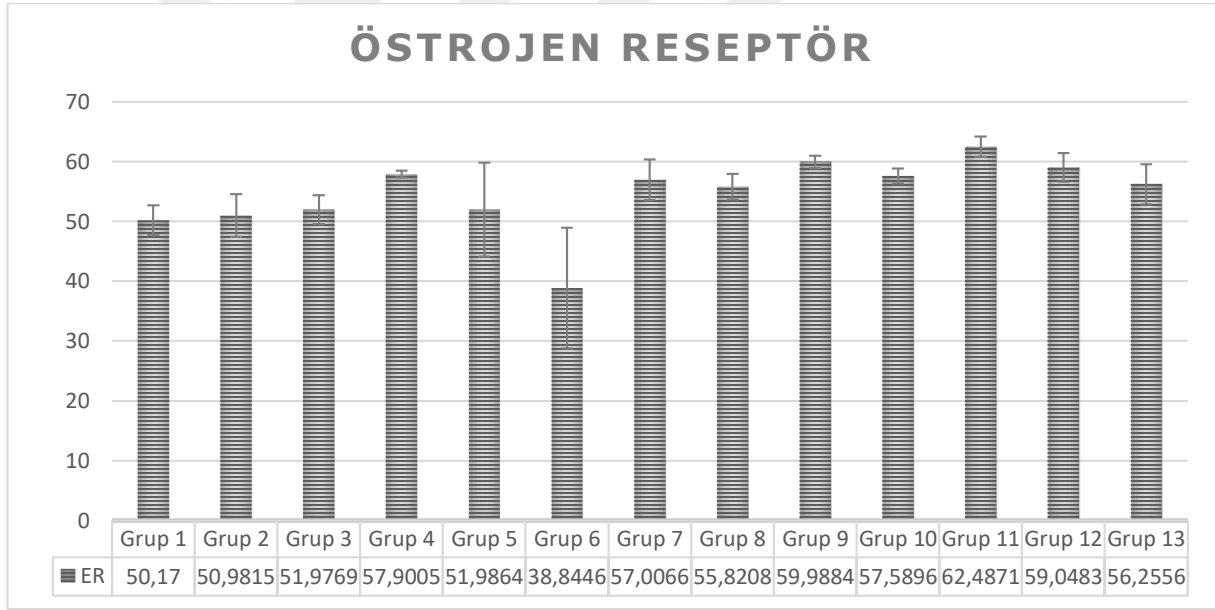


Şekil 4.21 Östrojen Reseptör ELISA Standart Eğrisi

4.7.2 - Östrojen Reseptör ELISA Sonuçları

Östrojen reseptör (ER) ELISA testi post Hoc Testi istatiksels analizleri sonucunda gruplar arasında istatiksels fark olduğu belirlenmiştir (p<0) (Şekil 4.22).

Grup 6'ya göre değerlendirildiğinde, grup 1 (p<0), grup 2 (p<0), grup 3 (p<0) ve grup 4 (p<0) ile grup 5 (p<0) artış göstermiştir. Aynı zamanda grup 9, grup 10, grup 11 ve grup 12'de (her birinde p<0) artış tespit edilmiştir. Grup 7 ile karşılaştırıldığında grup 6'da (p<0) azalma tespit edilmiştir. Grup 8'e göre grup 6 (p<0) azalmıştır. Grup 9 ile karşılaştırıldığında grup 1 (p<0.001), grup 2 (p<0.01), grup 3 (p<0.05) ve grup 5 (p<0.05) azalma göstermiştir. Grup 11'e göre değerlendirildiğinde grup 1 (p<0), grup 2 (p<0) ve grup 3 (p<0) ile grup 4 (p<0) ve grup 5 (p<0) azalmıştır. Grup 12 ile karşılaştırıldığında grup 1 (p<0) ve grup 2 (p<0) azalmıştır.

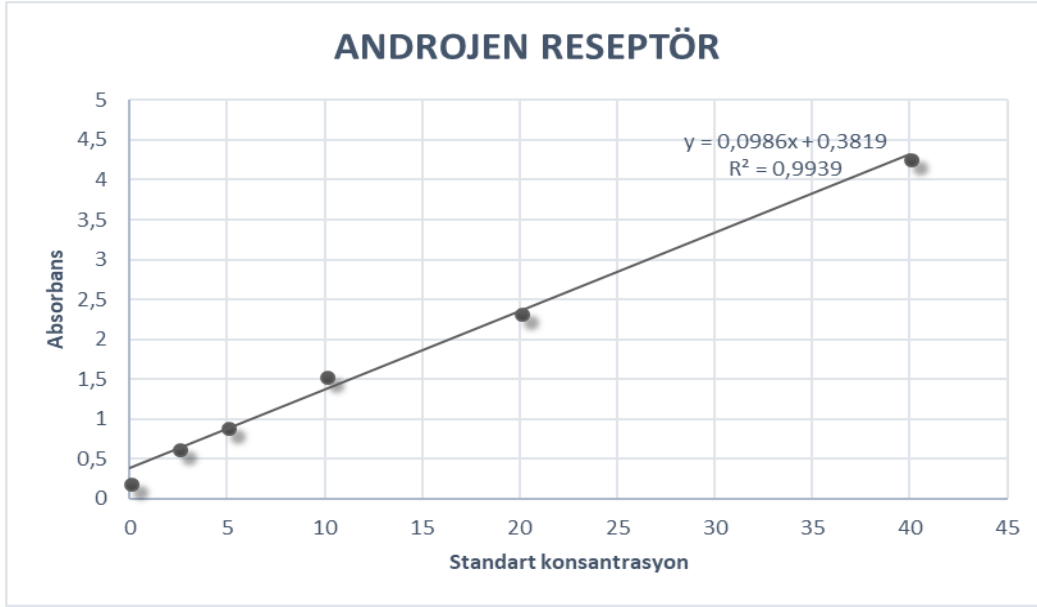


Şekil 4.22 Östrojen Reseptör ELISA Sonuçları

4.8 - Androjen Reseptör (AR) ELISA Bulguları

4.8.1 - Androjen Reseptör Standart Eğrisi

hFOB 1.19 hücreleri ile yapılan tez çalışması sonucunda 450 nm'de standart eğri oluşturulmuştur (Şekil 4.23). Elde edilen grafikten oluşan formül, istatiksels verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

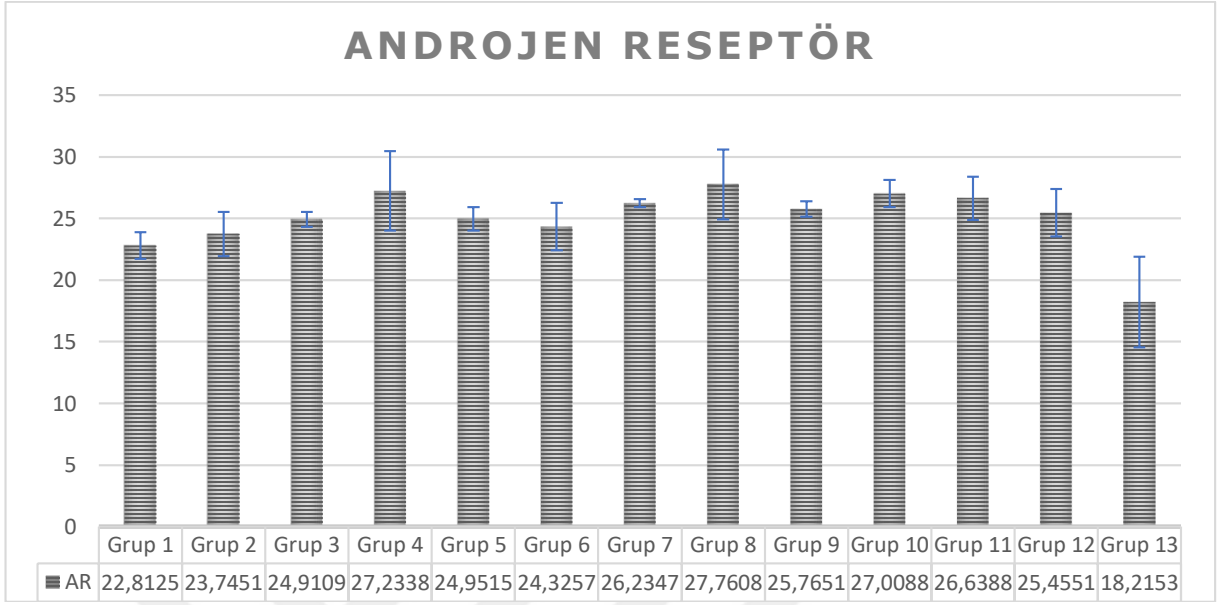


Şekil 4.23 Androjen Reseptör ELISA Standart Eğrisi

4.8.2 – Androjen Reseptör ELISA Sonuçları

Androjen reseptör (AR) ELISA testi post Hoc Testi istatistiksel sonuçları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0$) (Şekil 4.24).

Grup 6 ve grup 7 ile karşılaştırıldığında grup 13 ($p < 0$) azalmıştır. Grup 8'e göre grup 1 ($p < 0.01$), grup 2 ($p < 0.05$) artmasına karşın; grup 13'de ($p < 0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 9'a göre grup 13 ($p < 0$) azalmıştır. Grup 10 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0.05$), grup 13'de ($p < 0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 11 ile karşılaştırıldığında grup 13 ($p < 0$) azalmıştır. Grup 12'ye göre grup 13 ($p < 0$) azalmıştır. Grup 13 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p < 0.01$), grup 2 ($p < 0$) ve grup 3 ($p < 0$) ile grup 4 ($p < 0$) ve grup 5 ($p < 0$) artış göstermiştir.

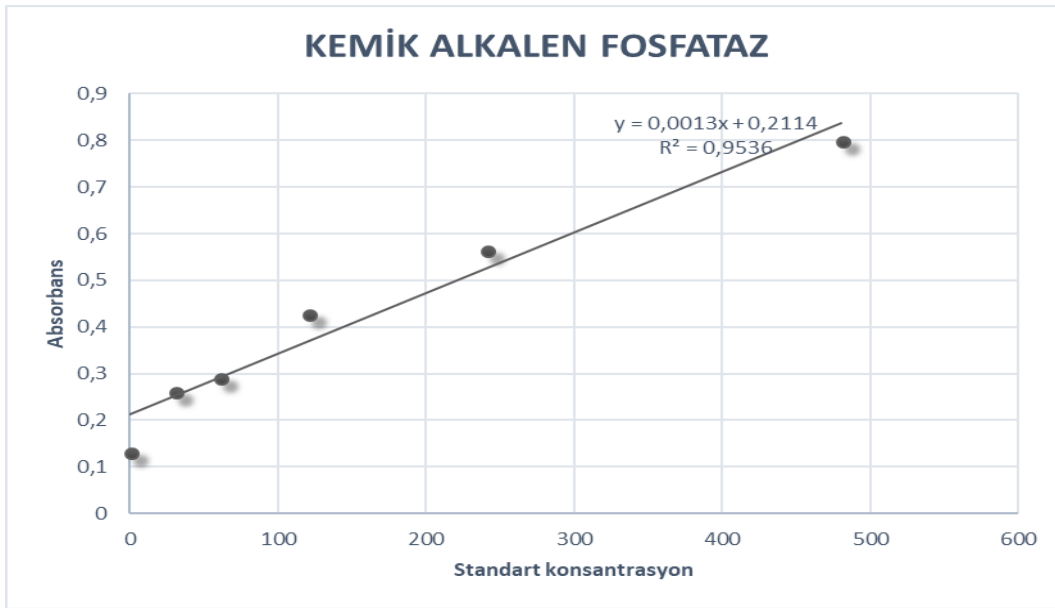


Şekil 4.24 Androjen Reseptör ELISA Sonuçları

4.9 – Kemik Alkalen Fosfataz ELISA Bulguları

4.9.1 – Kemik Alkalen Fosfataz Standart Eğrisi

hFOB 1.19 hücreleri ile yapılan tez çalışması sonucunda 450 nm’de standart eğri oluşturulmuştur (Şekil 4.25). Elde edilen grafikten oluşan formül, istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

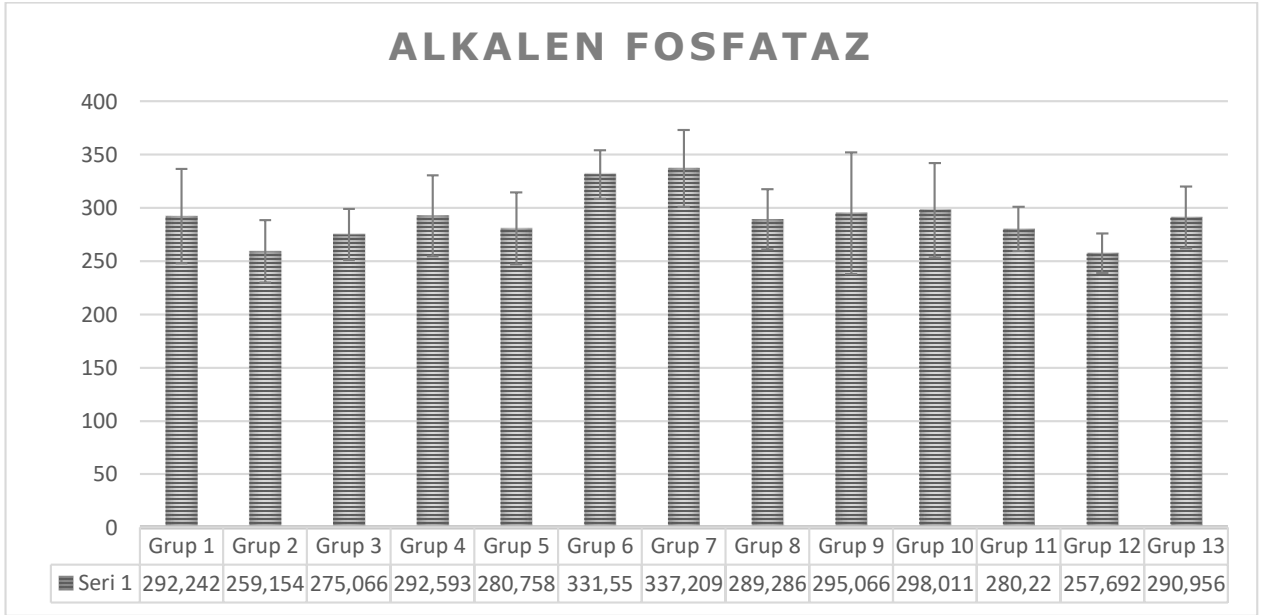


Şekil 4.25 Kemik Alkalen Fosfataz ELISA Standart Eğrisi

4.9.2 – Kemik Alkale Fosfataz ELISA Sonuçları

Kemik alkale fosfataz (bALP) ELISA testi post Hoc Testi istatiksels sonuçları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatiksels fark olduğu belirlenmiştir ($p<0$) (Şekil 4.26).

Grup 6 ile karşılaştırıldığında grup 2 ($p<0.01$) ve grup 12 ($p<0.01$) azalmıştır. Grup 7'ye göre grup 2 ($p<0.01$) ve grup 3 ($p<0.05$) ile grup 12 ($p<0.001$) azalmıştır. Grup 12 ile karşılaştırıldığında grup 6 ($p<0.01$) ve grup 7'de ($p<0.001$) artış belirlenmiştir.



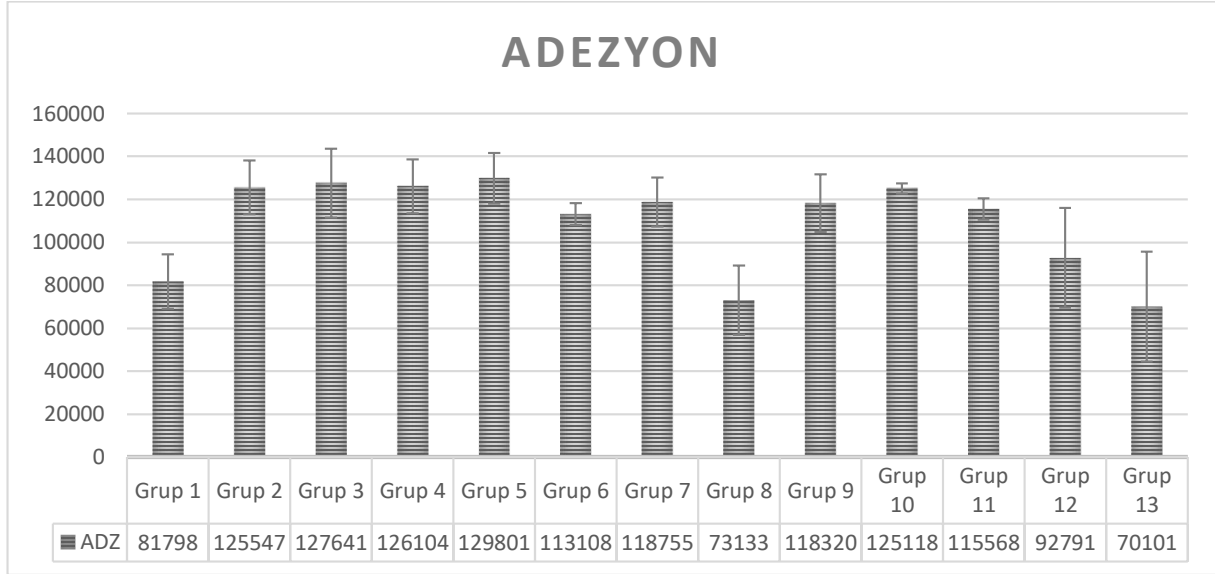
Şekil 4.26 Alkale Fosfataz ELISA Sonuçları

4.10 – Adezyon

Adezyon, post Hoc Testi istatiksels analizi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında istatiksels fark olduğu belirlenmiştir ($p<0$) (Şekil 4.27).

Grup 6'ya göre değerlendirildiğinde grup 1 ($p<0.05$), grup 8 ($p<0$) ve grup 13'de ($p<0$) azalma belirlenmiştir. Grup 7 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p<0.001$), grup 8 ($p<0$) ve grup 13 ($p<0$) azalmıştır. Grup 8'e göre grup 2 ($p<0$) ve grup 3 ($p<0$) ile grup 4 ($p<0$) ve grup 5'de ($p<0$) artış belirlenmiştir. Grup 9'a göre değerlendirildiğinde grup 1 ($p<0.001$), grup 8 ($p<0$) ve grup 13'de ($p<0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 10'a göre değerlendirildiğinde grup 1 ($p<0$), grup 2 ($p<0$) grup 12 ($p<0.01$) ve grup 13 ($p<0$) azalmıştır. Grup 11'e göre değerlendirildiğinde grup 1 ($p=0.005$), grup 8 ($p<0$) ve grup 13'de ($p<0$) azalma belirlenmiştir. Grup 12'ye göre grup 2 ($p<0.01$) ve grup 3 ($p<0.01$) ile grup 4 ($p<0.01$) ve grup 5 ($p<0.001$) artış göstermiştir. Grup

13'e göre grup 2 ($p<0$) ve grup 3 ($p<0$) ile grup 4 ($p<0$) ve grup 5 ($p<0$) artmıştır.

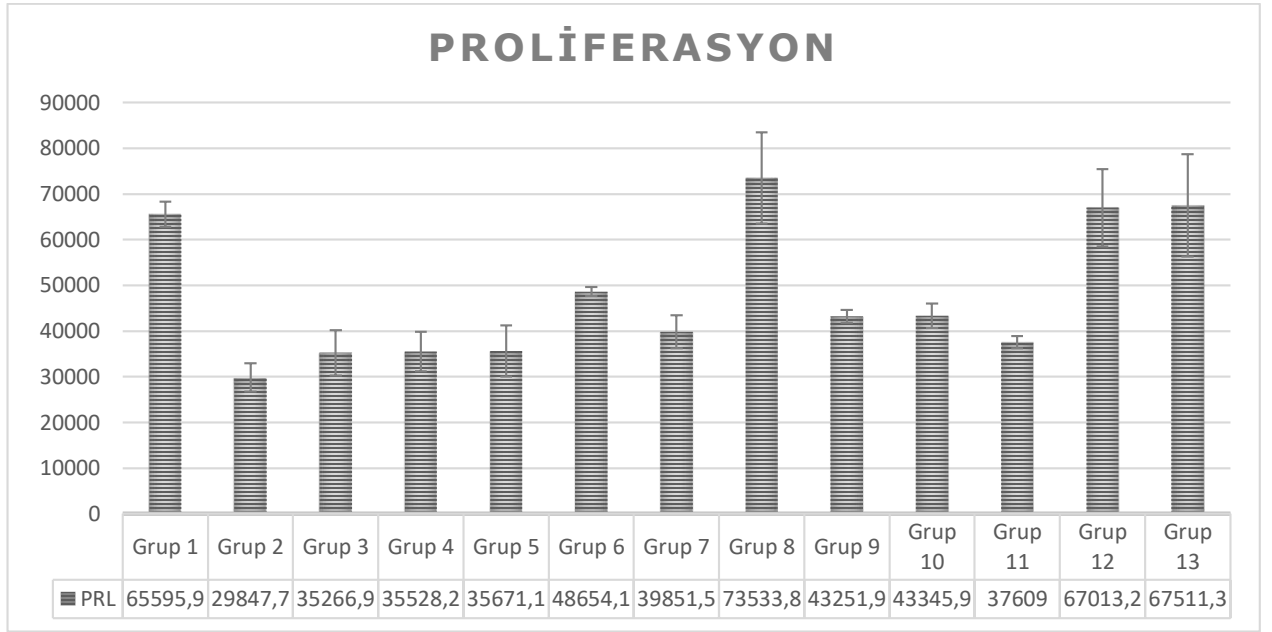


Şekil 4.27 Adezyon Sonuçları

4.11 – Proliferasyon

Proliferasyon, post Hoc Testi istatistiksel sonuçları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel fark olduğu belirlenmiştir ($p<0$) (Şekil 4.28).

Grup 6'ya göre grup 1 ($p<0$) artmasına rağmen grup 2 ($p<0$) ve grup 3 ($p<0.01$) ile grup 4 ($p<0.01$) ve grup 5 ($p<0.01$) azalmıştır. Grup 7'ye göre grup 1 ($p<0$), grup 8 ($p<0$), grup 12 ($p<0$) ve grup 13 ($p<0$) artış göstermiştir. Grup 8'e göre grup 1 ($p<0$), grup 2 ($p<0$) ve grup 3 ($p<0.01$) ile grup 4 ($p<0.01$), grup 6 ($p<0$) ve grup 5 ($p<0.01$) azalmıştır. Grup 9 ile karşılaştırıldığında grup 1 ($p<0$), grup 8 ($p<0$), grup 12 ($p<0$) ve grup 13 ($p<0$) artmasına rağmen grup 2'de ($p<0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 10'a göre grup 1 ($p<0$), grup 8 ($p<0$), grup 12 ($p<0$) ve grup 13 ($p<0$) artmasına rağmen, grup 2'de ($p<0$) azalma tespit edilmiştir. Grup 11'e göre grup 1 ($p<0$), grup 8 ($p<0$), grup 6 ($p<0$), grup 12 ($p<0$) ve grup 13 ($p<0$) artmasına rağmen, grup 2 ($p<0$) azalmıştır. Grup 12'ye göre grup 2 ($p<0$) ve grup 3 ($p<0$) ile grup 4 ($p<0$) ve grup 5 ($p<0$), grup 6 ($p<0$) azalmasına rağmen grup 8'de ($p<0$) artma belirlenmiştir. Grup 13 ile karşılaştırıldığında grup 2 ($p<0$) ve grup 3 ($p<0$) ile grup 4 ($p<0$), grup 5 ($p<0$) ve grup 6'da ($p<0$) azalma tespit edilmiştir. Fakat, grup 8'de ($p<0$) artma belirlenmiştir.



Şekil 4.28 Proliferasyon Analiz Sonuçları

5- TARTIŞMA

Osteoporoz düşük kemik kitle gelişimine bağlı olarak kemik mikromimarisinde bozukluk, kemik fragilitesinde ve kırık riskinde artış ile karakterize edilen sistemik iskelet sistemi hastalığıdır. Yaygın olarak postmenopozal kadınlarda görülmektedir. Kemik kaybı, rezorpsiyonda artış veya kemik yapımında azalma sonucunda görülmektedir. Trabeküler kemikte kayıp ve kortikal kemik yapısında porozitede artışa neden olmaktadır (Warriner & Saag, 2013). Günümüzde ve gelecekte, endüstrisi ve sanayisi gelişmiş ülkelerin ilerleyen yaş popülasyonlarında, osteoporoz görülme riski giderek artmaktadır (Rachner, Khosla vd., 2011).

Endüstri ve sanayide yaygın olarak kullanılan ağır metallerin maruziyeti sonucunda çevresel ve mesleki kontaminasyon ortaya çıkabilmektedir. Çevresel olarak düşük dozda ve yavaş maruziyet; mesleki olarak yüksek dozda maruziyet görülmektedir. Sanayinin gelişmesine bağlı olarak ağır metallerin mesleki ve çevresel (atıklar yoluyla) kontaminasyonunda artış meydana gelmektedir. Oral veya inhalasyon yoluyla vücuda alınan ağır metaller akut veya kronik dönem içerisinde çeşitli doku ve organlar üzerinde toksik etki oluşturmaktadır. Özellikle kronik dönemde kemik dokuda birikmesine rağmen yol açtığı toksisitenin moleküler mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Kemik üzerinde direkt ve dolaylı (böbrekler üzerinden) olarak etki göstermektedir.

Kadmiyum (Cd) sanayi ve endüstride yaygın olarak kullanılan, çevresel ve endüstriyel kirlenmeye neden olan ağır metaldir. Cd maruziyeti, çevresel veya mesleki olarak gerçekleşmektedir. Ayrıca, sigara da oldukça önemli Cd kaynaklarından biridir. Doğada yaygın olarak bileşik (CdO, CdCl₂ gibi) halinde bulunmaktadır. Cd bileşikleri vücuda solunum sistemi (inhalasyon) ve gastrointestinal sistemden (oral) alınmaktadır. Vücuda giriş yaptıktan sonra yaklaşık 10-30 yıl yarılanma ömrüne sahiptir. Kronik inhalasyonu başta akciğer, kemik ve böbrek olmak üzere birçok doku ve organda toksikasyona neden olmaktadır (James & Meliker, 2013).

Cd'nin kronik maruziyeti sonucunda kemik dokusunda depolanma meydana gelir ve mineralizasyon bozuklukları oluşur. Kemik dokusu Cd toksisitesinin görüldüğü oldukça önemli hedef organlar arasında yer almaktadır. Cd'nin kemik üzerinde etkisi çeşitli şekillerde gerçekleşmektedir. İlk olarak oksidatif stres oluşumuna neden olmaktadır. Özellikle kemik dokusunda hidroksil radikallerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Kemik dokusunda diğer bir etkisi ise osteoklast veya osteoblast hücreleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Osteoklast hücrelerine olan etkisiyle matriks yıkımında artış; osteoblast hücrelerinde ise gen ekspresyon seviyesinde değişim görülmektedir. Üçüncü etkisi, renal toksisite aracılığıyla ortaya çıkmaktadır. Cd

proksimal tübül toksikasyonu sonucunda D vitamini metabolizmasını etkileyerek, aktif D vitamini oluşumunu azaltıp hiperkalsirye neden olmaktadır. Son olarak, kemik metabolizmasında rol oynayan hormonları etkileyerek kemik dokusunda indirekt toksik etki göstermektedir (Jrup, Berglund vd., 1998; Uriu, Morimoto vd., 2000; Bhattacharyya, 2009; Nordberg, 2009; Ognjanovi, Markovi vd., 2010; Uchida, Kuratavd., 2010; Chen, Zhu vd., 2011; Arbon, Christensen vd., 2012; Chen, Wang vd., 2013; James & Meliker 2013).

1955 yılında kontamine piriç tüketen Japon popülasyonunda kemik hastalığı olan osteoporoz patolojisi gösteren Itai-Itai hastalığının nedeni olarak raporlanmıştır (Nordberg, 2004). 1950'lerden bu yana, birçok çalışmada kadmiyumun kemik yoğunluğunu azalttığı ve osteoporoz riskini doğrudan osteotoksik etki ile artırdığı ile ilgili çalışma bulunmaktadır (Kido, Nogawa vd., 1989; Jrup, Berglund vd., 1998; Alfvn, Elinder vd., 2000; Wang, Zhu vd., 2003; Jrup & Alfvn, 2004; Nambunmee, Honda vd., 2010; Shin, Paek vd., 2011; Thomas, Michalsson vd., 2011; Engström, Michalsson vd., 2012). Popülasyon çalışmalarında, kadmiyum maruziyetinin kemik yapısı üzerinde direkt ve dolaylı (böbrek üzerinden) toksik potansiyel etkileri gösterilmiştir (Staessen, Roels vd., 1999; Brzska, Majewska vd., 2005; Åkesson, Bjellerup vd., 2006; Coonse, Coonts vd., 2007; Engström, Michalsson vd., 2012). Kadmiyumun neden olduğu kemik demineralizasyonunun moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Literatürde evresel ve mesleki kadmiyum maruziyeti sonucu oluşan osteoporoz ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır (Chakraborty, Dutta vd., 2013; Wallin, Sallsten vd., 2013).

Besinler aracılığıyla ve güneşten alınan D vitamini, esas olarak böbrekte aktif formda $1,25(OH)_2$ D vitaminine dönüştürülmektedir. $1,25(OH)_2$ D vitamininin kalsiyum metabolizması üzerindeki başlıca etkileri, kalsiyum ve fosfatın bağırsak emilimini arttırmak ve kemik mineral matriksinin geri emilimini arttırmaktır. Yapılan alışmalarda, Cd toksikasyonu sonucunda renal tübüler hasarını takiben aktif formdaki $1,25(OH)_2$ D vitamininin hidrokillenmesinde azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Kjellström, 1992). Cd'nin yol açtığı renal tübüler hasara bağlı vitamin D aktivite azalmasının, Cd'nin kemik üzerinde dolaylı toksik etki göstermesine neden olabileceği belirlenmiştir.

Yapılan tez çalışmasında, 72 saat boyunca Cd uygulamasının ardından 72 saatlik $1,25(OH)_2$ D vitamini uygulanması sonucunda hFOB1.19 osteoblast hücrelerinde vitamin D reseptör miktarının arttığı belirlenmiştir. Literatür araştırmalarında, vitamin D reseptör ve Cd ilişkisi ile ilgili yeterli araştırma olmadığı belirlenmiştir. İnsanlarda ağır metallerin kemik metabolizmasını vitamin D reseptörleri aracılığı ile etkilediğine ilişkin veriler bulunmaktadır. Jiao ve ark. yaptıkları çalışmada Cd ve Pb'nin $1,25(OH)_2$ D vitamini aktivitesini taklit

edebildiğini, vitamin D reseptör fonksiyonunu bozarak osteoporozla yatkinlığa neden olduğunu belirtmiştir (Jiao, Zhang vd., 2010). Yapılan tez çalışmasında, hFOB 1.19 hücrelerinde 72 saatlik CdCl₂ uygulamasının ardından vitamin D reseptör aktivitesinin yükselmesi, osteoporozla yatkinlığın olabileceğini düşündürmektedir. CdCl₂ kontrol grubunda vitamin D reseptör aktivitesi düşük iken, 1,25(OH)₂D vitamini uygulaması reseptör seviyesinde kısmi artışa sebep olmuştur. 72 saatlik 1,25(OH)₂D vitamini uygulamasının ardından CdCl₂ uygulandığında ise Cd toksikasyonu görülmektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Cd toksikasyonunun ardından aktif D vitamininin kemik dokusuna uygulanması sonrası, vitamin D reseptör (VDR) aktivitesinin artması nedeniyle, D vitamininin dokuyu kısmi olarak Cd'dan kaynaklanan osteoporozdan koruyabileceği sonucuna ulaşılmasını sağlamaktadır.

Postmenopozal osteoporoz gelişiminde, östrojen eksikliği görülmektedir. Östrojen kemik rezorpsiyonunun inhibisyonunda oldukça önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla östrojen eksikliğinin artması kemik rezorpsiyonu ve kemik kaybında artışa neden olmaktadır. Östrojen eksikliği her iki cinstede oldukça önemlidir; erkeklerde ER gen veya aromataz (testosteronu östrojene çeviren enzim) eksikliği osteoporozla neden olabilmektedir.

Literatür araştırmalarında, Cd'nin güçlü östrojenik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Tsai & O'Malley, 1994). Cd, ER'nin hormon bağlama domainine yüksek afinite ile bağlanarak reseptörü aktive ettiğinden dolayı, "çevresel östrojen" olarak nitelendirilmektedir (Stoica, Katzenellenbogen vd., 2000). Yaygın olarak ERα üzerinde bulunan spesifik aminoasit bölgelerine (H4, H8, H11 ve H12 motifleri) bağlanmaktadır (Stoica, Katzenellenbogen vd., 2000; Johnson, Kenney vd., 2003; Safe, 2003; Ali, Penttinen-Damdimopoulou vd., 2010; Byrne, Divekar vd., 2013). Ronchetti ve ark. yaptıkları çalışmada, Cd'nin diğer ağır metaller gibi, ER aktivasyonunu içeren 17β-estradiol etkilerini taklit edebileceğini göstermiştir (Ronchetti, Miler vd., 2013). Stoica ve ark., kadmiyumun östrojene duyarlı meme kanseri hücre hattındaki (MCF-7) estradiol etkilerini taklit ettiğini belirlemiştir (Stoica, Katzenellenbogen vd., 2000). Bu çalışmada ER seviyesinde değişim olmadan Cd'nin aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Stoica, Katzenellenbogen vd., 2000). Aynı zamanda ağır metal olan Cd, 17β-estradiolun reseptöre bağlanmasını inhibe etmektedir. Yapılan bu tez çalışmasında, literatüre paralel olarak hFOB 1.19 osteoblast hücrelerine 17β-estradiol uygulandığında östrojen reseptör konsantrasyonunda yükselme olduğu belirlenmiştir. 72 saatlik CdCl₂ uygulamasının ardından 72 saat boyunca 17β-estradiol uygulanması ile 72 saat boyunca 17β-estradiol uygulanmasının ardından 72 saatlik CdCl₂ uygulandığında östrojen reseptör konsantrasyonunda değişim olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmanın sonuçları, CdCl₂'nin östrojen reseptör yapısında herhangi bir değişime neden olmadan osteoblast hücrelerinde toksikasyona neden olduğu; Cd'nin 17β-estradiol'e benzer, eşit ya da yarışmalı aktivite gösterebileceğini

düşündürmektedir. İlginç bir şekilde, 72 saat $CdCl_2$ uygulamasının ardından 72 saat $1,25(OH)_2D$ vitamini uygulandığında östrojen reseptör konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kadmiyum maruziyeti sonrası uygulanan $1,25(OH)_2D$ vitamini östrojen reseptör miktarını düşürür. Osteoporoz tedavisinde uygulanan östrojen tek başına yeterli olmayabilir. Bunun nedeni, kadmiyumun osteoblast hücrelerinde östrojen reseptörünün aktivitesini inhibe ediyor olması olabilir.

Androjen reseptör, steroid/tiroid hormon reseptörleri için kodlayan genlerin bir süper ailesinin bir üyesidir. Reseptör ailesinin üyeleri, benzer modüler yapıya sahip ligand-bağımlı nükleer transkripsiyon faktörleridir (Tsai & O'Malley, 1994). Cd'nin östrojen reseptör ile etkileşimini sağlayan bazı amino asit sekansları androjen reseptör hormon bağlama bölgesinde de bulunmasına rağmen korunmuştur (Wurtz, Bourguet vd., 1996; Tanenbaum, Wang vd., 1998). Yapılan çalışmalarda, Cd'nin, kültüre edilmiş hücrelerde androjen benzeri aktiviteye sahip olduğu ve bu etkiye androjen reseptörün aracılık ettiği belirlenmiştir (Martin, Voeller vd., 2002). Cd, hormon bağlanma domainlerine yüksek afinite ile bağlanarak hormonun reseptöre bağlanmasını inhibe etmektedir (Martin, Voeller vd., 2002).

Cd'nin androjen reseptör aktive ettiği mekanizma tanımlanmasına rağmen, çeşitli mekanizmalar önerilmektedir. Fosforilasyon, sinyal iletim yolu aktivasyonunun bir sonucu olarak, AR'nin aktivitesini değiştirdiği gösterilmiştir (Martin, Voeller vd. 2002). Alternatif olarak, Cd'nin reseptörün hormon bağlama alanı ile doğrudan etkileşim yoluyla aktive edebildiği düşünülmektedir. Tez çalışması sonucunda, $CdCl_2$ kontrol grubuna göre 5 α -androstano kontrol grubunun, 72 saat $CdCl_2$ uygulamasının ardından 72 saat 5 α -androstano uygulanan grubun ve 72 saat 5 α -androstano uygulamasından sonra 72 saat $CdCl_2$ uygulanan osteoblast hücrelerinde androjen reseptörün artış gösterdiği belirlenmiştir. Androjen reseptör aktivitesinde meydana gelen artışın, Cd maruziyetine bağlı osteoporoz gelişiminde androjen reseptörün oldukça önemli olabileceğini göstermektedir. Birçok çalışmada androjen benzeri aktivite gösteren Cd, osteoblast hücrelerinde de toksikasyon gelişimine neden olabileceği görülmektedir. Literatür araştırmalarına paralel olarak muhtemel etki mekanizmasının, östrojen reseptöründe etkili olabileceği düşünülmektedir.

Kemik dokusuna spesifik olan alkalen fosfataz, osteoblast hücre membranında bulunmaktadır ve kemik yapımı, mineralizasyon belirteçidir. Kemik döngüsünde artış meydana gelirse serum alkalen fosfataz seviyesi yükselmektedir. Osteoporoz gelişiminde, osteoblast hücrelerinde meydana gelen azalmadan dolayı, serumdaki seviyeleri yükselmektedir. Bu nedenle kemik yapım belirteci olarak nitelendirilmektedir. Cd, araştırma yapılan ağır metaller arasında hücre ALP aktivitesi üzerinde en güçlü inhibisyon etkisine

sahip ağır metaldir (Suzuki, Morita vd., 1989). Yapılan tez çalışması sonucunda, osteoblast hücrelerinde literatür çalışmalarına paralel olarak, CdCl₂ uygulandığında aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Alkalen fosfataz aktivitesindeki azalma, enzimin sentezi ve bozunması arasındaki dengeye ek olarak plazma membran geçirgenliğindeki değişikliklere bağlı olabilmektedir. Rana ve ark., alkalen fosfataz aktivitesindeki azalmanın, membran transport sistemin parçalanması ve hücre büyümesi, proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkiye bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (Youness, Mohammed vd. 2012). Androjen (5 α -androstan) uygulaması ile alkalen fosfataz aktivitesi azalış göstermekle birlikte, Cd toksisitesinin ardından 1,25(OH)₂D vitamini ve 17 β -estradiol ile Cd maruziyeti sonrası östrojen (17 β -estradiol), androjen (5 α -androstan) ve D vitamini (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu uygulanan grupta yükselmiştir. Cd uygulamasının ardından 1,25(OH)₂ D vitamini, 5 α -androstan ve 17 β -estradiol uygulamaları osteoblast hücre alkalen fosfataz seviyesini yükselttiğinden dolayı koruyucu olabileceği düşünülmektedir.

Osteoblast hücreleri tarafından sentezlenen osteokalsin, hidroksiapatit kristallerine bağlanarak kemik matriks yapısına katılmaktadır. Büyük bir miktarı osteoblast hücrelerinde yer almasına rağmen serumda da yer almaktadır. Kemik döngüsü arttığında serumdaki seviyesi yükselmektedir. Serum konsantrasyonu osteoblastik aktivitenin bir göstergesi olarak düşünülebilir ve osteoporoz tanı/tedavisinde klinikte kullanılmaktadır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Cd'ye kronik maruziyetin serum osteokalsin seviyesinde önemli bir düşüşe neden olduğu belirlenmiştir (Youness, Mohammed vd., 2012). Tez çalışmasının sonuçları kronik Cd maruziyetinin osteokalsin seviyesinde azalmaya sebep olduğunu göstermektedir. Hormonlar ve 1,25(OH)₂D vitamini osteokalsin seviyesinde kısmi olarak artışa sebep olmasına karşın, bu artış tedavi edici etki göstermemektedir. Cd ile birlikte hormonların ve 1,25(OH)₂D vitamininin kombine olarak uygulanması osteokalsin seviyesini yükseltmiştir. Bu durum, osteoblast hücrelerinden osteokalsinin seruma salınarak serumda (besiyerinde) seviyesinin yükselmesine sebep olduğunu göstermektedir.

Osteoklastogenezis İnhibitör Faktör (OCIF) olarak da adlandırılan osteoprotegerin (OPG) 401 aminoasit içeren glikoproteindir. Kemik osteoblast hücrelerine ek olarak kalp, böbrek, karaciğer ve dalakta salgılanmaktadır. Osteoprotegerin, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) ailesi üyesidir ve diğer reseptörlerden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik sekanslar içermemektedir. Osteoklast hücre aktivitesine bağlı görülen kemik yıkımını inhibe etmektedir. Kemik dokusundaki biyolojik etkisi, RANK/RANKL ile terstir. Osteoprotegerin, RANKL' a bağlanarak tuzak reseptör görevi görerek RANK'a bağlanmasını engellemektedir. Böylelikle osteoklast hücrelerinin farklılaşması ve aktive olması inhibe olur. Kemik rezorpsiyonu gerçekleşmez (Boyce & Xing, 2007). Aynı zamanda osteoklast hücre apoptozunu indüklemesinin sonucunda

kemik rezorpsiyonunu azaltmaktadır. RANK ligand artması/OPG azalması kemik dansitesinde ve gücünde azalmaya sebep olmaktadır. OPG kemik matriks bileşeni olmadığı için kemik rezorpsiyonundaki etkisi geri dönüşümlüdür (Aubin and Bonnelye 2000). Yapılan çalışmalarda, B hücrelerinin toplam kemik iliği OPG üretiminin yaklaşık %60'ından sorumlu olduğu gösterilmiştir; B hücresinden yoksun farelerde osteoprotegerin azalmasına bağlı olarak osteoporoz geliştiği bildirilmiştir (Li, Toraldo vd., 2007). Osteoblastlar tarafından RANKL ekspresyonunu indükleyen faktörlerin çoğu OPG ekspresyonunu da düzenlemektedir. Östrojen, kemik hücrelerinin yaşam sürelerinin düzenlenmesinde ve osteoklastogenez inhibisyonunda rol oynadığı için fizyolojik kemik döngüsünde oldukça önemlidir. Aynı zamanda osteoblast hücrelerinden osteoprotegerin (OPG) salımını uyararak osteoklast hücrelerinin olgunlaşmasını engeller. Yapılan tez çalışması sonucunda, CdCl₂ uygulaması sonucunda osteoblast hücrelerinde osteoprotegerin konsantrasyonu azalmıştır. Bu durum hücrelerde osteoporoz gelişimi olabileceğini düşündürmektedir. 1,25(OH)₂ D vitamini, 17β-estradiol ve 5α-androstan uygulaması sonucunda osteoprotegerin konsantrasyonunda yükselme görülmektedir. Seks steroidleri ve D vitamini osteoprotegerine bağlı kemik rezorpsiyonunu engellediği düşünülmektedir. Fakat, 72 saat CdCl₂ uygulamasının ardından uygulanan seks steroidleri ve aktif formdaki D vitamini osteoprotegerin konsantrasyonunu azalttığından dolayı osteoporoz profili göstermektedir. Benzer şekilde, 72 saat boyunca seks steroidleri ve D vitamininin ardından CdCl₂ uygulandığından osteoprotegerin konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak osteoporoz görülmektedir. İlginç bir şekilde, seks steroidlerinin ve aktif D vitamininin CdCl₂'ye karşı hem koruyucu hem de tedavi edici etkisi olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, osteoprotegerin konsantrasyonuna bağlı görülen osteoporoz gelişiminde CdCl₂ toksisitesine karşı 1,25(OH)₂ D vitamini, 17β-estradiol ve 5α-androstanın kombine olarak tedavi edici ve koruyucu etkisi olabileceği önerilmektedir. Birlikte değerlendirildiğinde osteokalsin ve osteoprotegerin Cd toksisitesine bağlı olarak tüm gruplarda düşüş göstermekle birlikte, Cd maruziyeti sonrası östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamininin (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu uygulanan grupta yükselmiştir. Bu durum kombinasyonların etkili olabileceği sonucuna varılmasına neden olmaktadır.

Hücre seviyesinde *in vitro* koşullarda yapılan çalışmalar, Cd'nin çok yönlü etkiler sergilediğini göstermiştir. Genellikle stres proteinlerinin ekspresyonunu arttırarak hücrelerde apoptoz ve proliferasyonu etkileyerek karsinogenik etki göstermektedir. Cd hücre yüzey proteinleri olan E-kaderin yapısında konformasyonel değişime neden olduğu için kontrolsüz proliferasyona neden olmaktadır (Waisberg, Joseph vd., 2003). Aynı zamanda gen düzeyinde hipometilasyona neden olarak, aşırı çoğalma ve protein ürünlerinin aşırı sentezi sonucunda hücre çoğalmasının artmasından sorumlu

olup, malignitelerin gelişmesine neden olabilmektedir (Sarkar, Ravindran vd., 2013). Kemik döngüsü, osteoblast hücrelerinin proliferasyonlarında azalma; osteoklast hücrelerinde proliferasyonlarında artma ile karakterize edilmektedir. Tez çalışmasında $CdCl_2$ osteoblast hücre proliferasyonlarında azalmaya sebep olmuştur. $CdCl_2$ toksikasyonuna karşı sadece hormonların ve $1,25(OH)_2D$ vitamininin pozitif etkisi görülmektedir. Benzer şekilde Cd hücre adezyonunu etkilemektedir. Yapılan tez çalışmasında $CdCl_2$ osteoblast hücrelerinde adheziv özelliği arttırmıştır. Seks hormonları ve D vitamini osteoblast hücrelerinde $CdCl_2$ 'ye benzer adheziv etki göstermektedir. Birlikte değerlendirildiğinde osteoblast hücrelerinin proliferasyonu östrojen (17β -estradiol), androjen (5 α -androstan) ve D vitamini ($1,25(OH)_2D$ vitamini) kombinasyonu uygulanan grupta artmıştır. Adezyon ise, Cd maruziyeti öncesinde ön tedavi olarak uygulanan östrojen (17β -estradiol), androjen (5 α -androstan) ve D vitamininin ($1,25(OH)_2D$ vitamini) kombinasyonu ile artmıştır. Bu durum sonucunda kemik döngüsünde hasara bağlı bozuklukların giderilmesinde proliferasyon ve adezyonunun sağlanması açısından kombinasyonların etkili olabileceği sonucuna varılmasına neden olmaktadır.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tez çalışması sonucunda aşağıda belirtilen sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Kadmiyum maruziyeti sonrası uygulanan 1,25(OH)₂D vitamini östrojen reseptör miktarını düşürür.
2. Osteokalsin ve osteoprotegerin Cd toksisitesine bağlı olarak tüm gruplarda düşüş göstermekle birlikte, Cd maruziyeti sonrası östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamininin (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu uygulanan grupta yükselmiştir.
3. Osteoblast hücrelerinin proliferasyonu östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamini (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu uygulanan grupta artmıştır.
4. Osteoblast hücrelerinin adezyonu, Cd maruziyeti öncesinde ön tedavi olarak uygulanan östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamininin (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu ile artmıştır.
5. Androjen (5α-androstan) uygulaması ile alkalen fosfataz aktivitesi azalış göstermekle birlikte, Cd toksisitesinin ardından 1,25(OH)₂D vitamini ve 17 β-estradiol ile Cd maruziyeti sonrası östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamini (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu uygulanan grupta yükselmiştir.

Tez çalışmasının sonucunda, Cd toksisitesine bağlı olarak osteokalsin ve osteoprotegerin konsantrasyonları osteoporozdakine benzer şekilde azalmıştır. 1,25(OH)₂D vitamininin Cd toksisitesine karşı koruyucu ve tedavi edici etkiye sahip olduğu, osteokalsin ve osteoprotegerin seviyelerini yükselttiği gözlenmiştir. Proliferasyon ve adezyon sonuçları, kombinasyonlarla osteoblast hücrelerinin kemik döngüsündeki devamlılığının korunduğunu göstermiştir. Östrojen reseptörünün hasar görmesinin osteoporozu tetikleyebileceği görülmüştür. Benzer şekilde androjen ve androjen reseptör eksikliğinin de osteoporozun oluşumunda önemli olabileceği sonucuna varılmıştır. Cd toksisitesine karşı östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamininin (1,25(OH)₂D vitamini) birlikte kullanılması osteokalsin seviyesini arttığı tespit edilmiştir. Cd, alkalen fosfataz seviyesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Cd toksisitesinin ardından 1,25(OH)₂D vitamini ve 17 β-estradiol ile Cd maruziyeti sonrası östrojen (17 β-estradiol), androjen (5α-androstan) ve D vitamini (1,25(OH)₂D vitamini) kombinasyonu alkalen fosfataz aktivitesini arttırmıştır. Tüm sonuçlar göz önüne alındığında; Cd benzeri ağır metallerin birikimi sonucunda ortaya çıkan osteoporozda olduğu gibi kemik döngüsünde hasara bağlı bozuklukların giderilmesinde östrojen, androjen ve D vitamini kombinasyonları etkili olabilir. Bununla birlikte bu sonuçların desteklenmesi için yapılacak ek deneysel çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abu-Amer, Y. (2001). "IL-4 abrogates osteoclastogenesis through STAT6-dependent inhibition of NF- κ B." *Journal of Clinical Investigation* 107(11): 1375.

Akerstrom, M., vd. (2013). "The relationship between cadmium in kidney and cadmium in urine and blood in an environmentally exposed population." *Toxicology and applied pharmacology* 268(3): 286-293.

Åkesson, A., vd. (2014). "Non-renal effects and the risk assessment of environmental cadmium exposure." *Environmental health perspectives* 122(5): 431.

Åkesson, A., vd. (2006). "Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women." *Environmental health perspectives* 114(6): 830.

Åkesson, A., vd. (2008). "Long-term dietary cadmium intake and postmenopausal endometrial cancer incidence: a population-based prospective cohort study." *Cancer research* 68(15): 6435-6441.

Alfvén, T., vd. (2000). "Low-level cadmium exposure and osteoporosis." *Journal of Bone and Mineral Research* 15(8): 1579-1586.

Ali, I., vd. (2010). "Estrogen-like effects of cadmium in vivo do not appear to be mediated via the classical estrogen receptor transcriptional pathway." *Environmental health perspectives* 118(10): 1389.

Almeida, M., vd. (2007). "Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids." *Journal of Biological Chemistry* 282(37): 27285-27297.

Anderson, H. C. (1995). "Molecular biology of matrix vesicles." *Clinical orthopaedics and related research* 314: 266-280.

Anderson, H. C., vd. (2005). "The role of matrix vesicles in growth plate development and biomineralization." *Front Biosci* 10(1): 822-837.

Arbon, K. S., vd. (2012). "Cadmium exposure activates the ERK signaling pathway leading to altered osteoblast gene expression and apoptotic death in Saos-2 cells." *Food and chemical toxicology* 50(2): 198-205.

Atkins, G. & D. Findlay (2012). "Osteocyte regulation of bone mineral: a little give and take." *Osteoporosis international* 23(8): 2067-2079.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Aubin, J. & E. Bonnelye (2000). "Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption." *Osteoporosis international* 11(11): 905-913.

Aubin, J. E. & E. Bonnelye (2000). "Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption." *Osteoporosis international* 11(11): 905-913.

Baek, K. H., vd. (2010). "Association of oxidative stress with postmenopausal osteoporosis and the effects of hydrogen peroxide on osteoclast formation in human bone marrow cell cultures." *Calcified tissue international* 87(3): 226-235.

Balthazart, J., vd. (2009). "Estradiol, a key endocrine signal in the sexual differentiation and activation of reproductive behavior in quail." *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology* 311(5): 323-345.

Baldock, P. A., vd. (1999). "Discordance between bone turnover and bone loss: effects of aging and ovariectomy in the rat." *Journal of Bone and Mineral Research* 14(8): 1442-1448.

Baldock, P. A., vd. (2006). "Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast." *Journal of Bone and Mineral Research* 21(10): 1618-1626.

Baron, R. (1996). "Anatomy and ultrastructure of bone." *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*.

Bartell, S. M., vd. (2014). "FoxO proteins restrain osteoclastogenesis and bone resorption by attenuating H₂O₂ accumulation." *Nature communications* 5.

Bekker, P. J. & C. V. Gay (1990). "Biochemical characterization of an electrogenic vacuolar proton pump in purified chicken osteoclast plasma membrane vesicles." *Journal of Bone and Mineral Research* 5(6): 569-579.

Berglund, M., vd. (1994). "Intestinal absorption of dietary cadmium in women depends on body iron stores and fiber intake." *Environmental health perspectives* 102(12): 1058.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Bernhoft, R. A. (2013). "Cadmium toxicity and treatment." *The Scientific World Journal* 2013.

Bhattacharyya, M. H. (2009). "Cadmium osteotoxicity in experimental animals: mechanisms and relationship to human exposures." *Toxicology and applied pharmacology* 238(3): 258-265.

Bischoff-Ferrari, H. A., vd. (2005). "Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials." *Jama* 293(18): 2257-2264.

Blumenthal, N., vd. (1995). "The effect of cadmium on the formation and properties of hydroxyapatite in vitro and its relation to cadmium toxicity in the skeletal system." *Calcified tissue international* 56(4): 316-322.

Bonjour, J.-P., vd. (1991). "Critical Years And Stages Of Puberty For Spinal And Femoral Bone Mass Accumulation During Adolescence." *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism* **73**(3): 555-563.

Boyce, B. F. & L. Xing (2007). "Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin." *Arthritis research & therapy* 9(1): S1.

Boyce, B. F. & L. Xing (2008). "Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling." *Archives of biochemistry and biophysics* **473**(2): 139-146.

Brändström, H., vd. (2001). "Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells." *Biochemical and biophysical research communications* 280(3): 831-835.

Brodsky, B. & A. V. Persikov (2005). "Molecular structure of the collagen triple helix." *Advances in protein chemistry* 70: 301-339.

Brzóska, M., vd. (2005). "Mechanical properties of femoral diaphysis and femoral neck of female rats chronically exposed to various levels of cadmium." *Calcified tissue international* 76(4): 287-298.

Brzóska, M. M., vd. (2005). "Bone mineral density, chemical composition and biomechanical properties of the tibia of female rats exposed to cadmium since weaning up to skeletal maturity." *Food and chemical toxicology* 43(10): 1507-1519.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Bucay, N., vd. (1998). "Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification." *Genes & development* 12(9): 1260-1268.

Buchet, J., vd. (1990). "Renal effects of cadmium body burden of the general population." *The Lancet* 336(8717): 699-702.

Burns, K. A. & K. S. Korach (2012). "Estrogen receptors and human disease: an update." *Archives of toxicology* 86(10): 1491-1504.

Buser, D., vd. (2004). "Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface." *Journal of dental research* 83(7): 529-533.

Byrne, C., vd. (2013). "Metals and breast cancer." *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 18(1): 63-73.

Calhau, C., vd. (2000). "Effect of P-glycoprotein modulators on alkaline phosphatase activity in cultured rat hepatocytes." *Cellular Physiology and Biochemistry* 10(4): 195-202.

Callan, A., vd. (2015). "Investigation of the relationship between low environmental exposure to metals and bone mineral density, bone resorption and renal function." *International journal of hygiene and environmental health* 218(5): 444-451.

Cancer, I. A.f.R.o. & I.A.f.R.o. Cancer (1993). *Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry*, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer.

Cauley, J. A., vd. (2008). "Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk for hip fractures." *Annals of internal medicine* 149(4): 242-250.

Chakraborty, S., vd. (2013). "Ailing bones and failing kidneys: a case of chronic cadmium toxicity." *Annals of clinical biochemistry* 50(5): 492-495.

Chang, T.-C., vd. (1994). "Regulation of the expression of alkaline phosphatase in a human breast-cancer cell line." *Biochemical Journal* 303(1): 199-205.

Chen, X., vd. (2013). "Environmental level of cadmium exposure stimulates osteoclasts formation in male rats." *Food and chemical toxicology* 60: 530-535.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Chen, X., vd. (2011). "Bone mineral density is related with previous renal dysfunction caused by cadmium exposure." *Environmental toxicology and pharmacology* 32(1): 46-53.

Clarke, B. (2008). "Normal bone anatomy and physiology." *Clinical journal of the American Society of Nephrology* 3(Supplement 3): S131-S139.

Coonse, K., vd. (2007). "Cadmium induces apoptosis in the human osteoblast-like cell line Saos-2." *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 70(7): 575-581.

Cooper, C., vd. (1992). "Hip fractures in the elderly: a world-wide projection." *Osteoporosis international* 2(6): 285-289.

Dahl, C., vd. (2014). "Do cadmium, lead, and aluminum in drinking water increase the risk of hip fractures? A NOREPOS study." *Biological trace element research* 157(1): 14-23.

Datta, H., vd. (2008). "The cell biology of bone metabolism." *Journal of clinical pathology* 61(5): 577-587.

Delmas, P., vd. (2000). "The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis." *Osteoporosis international* 11(18): S2-S17.

Deroo, B. J. & K. S. Korach (2006). "Estrogen receptors and human disease." *The Journal of clinical investigation* 116(3): 561-570.

Downey, P. A. & M. I. Siegel (2006). "Bone biology and the clinical implications for osteoporosis." *Physical therapy* 86(1): 77-91.

Duque, G. & B. R. Troen (2008). "Understanding the mechanisms of senile osteoporosis: new facts for a major geriatric syndrome." *Journal of the American Geriatrics Society* 56(5): 935-941.

EFSA, P. (2012). Panel (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues), 2012. Guidance on dermal absorption. *EFSA Journal* 2012; 10 (4): 2665, 30 pp.

El-Demerdash, F., vd. (2004). "Role of α -tocopherol and β -carotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters, and semen quality of male rats." *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 39(3): 443-459.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Engström, A., vd. (2011). "Long-term cadmium exposure and the association with bone mineral density and fractures in a population-based study among women." *Journal of Bone and Mineral Research* 26(3): 486-495.

Engström, A., vd. (2012). "Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women." *Bone* 50(6): 1372-1378.

F Holick, M. (2011). "Vitamin D: evolutionary, physiological and health perspectives." *Current drug targets* 12(1): 4-18.

Fairbrother, A., vd. (2007). "Framework for metals risk assessment." *Ecotoxicology and environmental safety* 68(2): 145-227.

Friberg, L. (1950). "Health Hazards in the Manufacture of Alkaline Accumulators with special reference to Chronic Cadmium Poisoning. A Clinical and Experimental Study." *Acta medica scandinavica* 138(Suppl. 240).

Fu, Q., vd. (2002). "Parathyroid hormone stimulates receptor activator of NFκB ligand and inhibits osteoprotegerin expression via protein kinase A activation of cAMP-response element-binding protein." *Journal of Biological Chemistry* 277(50): 48868-48875.

Gass, M. & B. Dawson-Hughes (2006). "Preventing osteoporosis-related fractures: an overview." *The American journal of medicine* 119(4): S3-S11.

Gaur, T., vd. (2005). "Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression." *Journal of Biological Chemistry* 280(39): 33132-33140.

Gennari, L., vd. (2005). "Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review." *American journal of epidemiology* 161(4): 307-320.

Godschalk, M., vd. (1992). "Glucocorticoids decrease vitamin D receptor number and gene expression in human osteosarcoma cells." *Journal of Bone and Mineral Research* 7(1): 21-27.

Godt, J., vd. (2006). "The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health." *Journal of occupational medicine and toxicology* 1(1): 22.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Hannon, R. A. & R. Eastell (2006). "Bone markers and current laboratory assays." *Cancer treatment reviews* 32: 7-14.

Harada, S.-i. & G. A. Rodan (2003). "Control of osteoblast function and regulation of bone mass." *Nature* 423(6937): 349.

Harris, P. E. & P.-M. G. Bouloux (2014). "Metabolic bone disease." *Endocrinology in Clinical Practice*: 243.

Hofbauer, L. C. (1999). "Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism." *European Journal of Endocrinology* 141(3): 195-210.

Hofbauer, L. C., vd. (1999). "Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells." *Endocrinology* 140(9): 4367-4370.

Hofbauer, L. C., vd. (2001). "Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin." *cancer* 92(3): 460-470.

Holick, M. F. (2007). "Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis." *Drugs & aging* 24(12): 1017-1029.

Honda, R., vd. (2003). "Urinary cadmium excretion is correlated with calcaneal bone mass in Japanese women living in an urban area." *Environmental research* 91(2): 63-70.

Hsu, J.-T., vd. (2013). "The assessment of trabecular bone parameters and cortical bone strength: a comparison of micro-CT and dental cone-beam CT." *Journal of biomechanics* 46(15): 2611-2618.

Hui, S. L., vd. (1988). "Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study." *Journal of Clinical Investigation* 81(6): 1804.

IPCS, W. (1992). "Environmental Health Criteria 134. Cadmium, 52-130." World Health Organization, Geneva.

Issa, L., vd. (1998). "Molecular mechanism of vitamin D receptor action." *Inflammation Research* 47(12): 451-475.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

James, K. A. & J. R. Meliker (2013). "Environmental cadmium exposure and osteoporosis: a review." *International journal of public health* 58(5): 737-745.

Janz, K. F. & S. L. Francis (2015). "Childhood physical activity may or may not provide sustained effects to protect adults from osteoporosis." *Kinesiology Review* 4(1): 63-70.

Järup, L. & A. Åkesson (2009). "Current status of cadmium as an environmental health problem." *Toxicology and applied pharmacology* 238(3): 201-208.

Järup, L. & T. Alfvén (2004). "Low level cadmium exposure, renal and bone effects-the OSCAR study." *Biometals* 17(5): 505-509.

Järup, L., vd. (1998). "Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate." *Scandinavian journal of work, environment & health*: 1-51.

Järup, L., vd. (2000). "Low level exposure to cadmium and early kidney damage: the OSCAR study." *Occupational and environmental medicine* 57(10): 668-672.

Jiao, J., vd. (2010). "Prokaryotic expression of human vitamin D receptor (hVDR) and its binding activities to Cd and Pb." *Huan jing ke xue= Huanjing kexue* 31(10): 2469-2474.

Jin, T., vd. (2004). "Osteoporosis and renal dysfunction in a general population exposed to cadmium in China." *Environmental research* 96(3): 353-359.

Johnson, M. D., vd. (2003). "Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland." *Nature medicine* 9(8): 1081.

Jones, G., vd. (1998). "Current understanding of the molecular actions of vitamin D." *Physiological reviews* 78(4): 1193-1231.

Jørgensen, N. R., vd. (2004). "Dexamethasone, BMP-2, and 1, 25-dihydroxyvitamin D enhance a more differentiated osteoblast phenotype: validation of an in vitro model for human bone marrow-derived primary osteoblasts." *Steroids* 69(4): 219-226.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Julin, B., vd. (2012). "Dietary cadmium exposure and risk of postmenopausal breast cancer: a population-based prospective cohort study." *Cancer research* 72(6): 1459-1466.

Kanis, J. (1994). "Perspective: the diagnosis of osteoporosis." *J Bone Miner Res* 9: 1137-1141.

Karsenty, G. (1999). "The genetic transformation of bone biology." *Genes & development* 13(23): 3037-3051.

Kazantzis, G. (2004). "Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism." *Biometals* 17(5): 493-498.

Khalid, A. B. & S. A. Krum (2016). "Estrogen receptors alpha and beta in bone." *Bone* 87: 130-135.

Kido, T., vd. (1989). "Osteopenia in inhabitants with renal dysfunction induced by exposure to environmental cadmium." *International archives of occupational and environmental health* 61(4): 271-276.

Kini, U. & B. Nandeesh (2012). *Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. Radionuclide and hybrid bone imaging*, Springer: 29-57.

Kitanaka, S., vd. (1998). "Inactivating mutations in the 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene in patients with pseudovitamin D-deficiency rickets." *New England Journal of Medicine* 338(10): 653-662.

Kjellström, T. (1991). "Mechanism and epidemiology of bone effects of cadmium." *IARC scientific publications*(118): 301-310.

Kjellström, T. (1992). "Mechanism and epidemiology of bone effects of cadmium." *IARC Scientific publications*(118): 301-310.

Kobayashi, Y., vd. (2000). "Force-Induced Osteoclast Apoptosis In Vivo Is Accompanied by Elevation in Transforming Growth Factor β and Osteoprotegerin Expression." *Journal of Bone and Mineral Research* 15(10): 1924-1934.

Kochupillai, N. (2008). "The physiology of vitamin D: current concepts." *Indian Journal of Medical Research* 127(3): 256.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kohli, S. S. & V. S. Kohli (2011). "Role of RANKL–RANK/osteoprotegerin molecular complex in bone remodeling and its immunopathologic implications." *Indian journal of endocrinology and metabolism* 15(3): 175.

Kong, Y.-Y., vd. (1999). "OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis." *Nature* 397(6717): 315-323.

Kostenuik, P. J. (2001). "Osteoprotegerin A Physiological and Pharmacological Inhibitor of Bone Resorption." *Current pharmaceutical design* 7(8): 613-635.

Kutlu, M. & E. Odabaşı (2004). "Kemik doku ve fizyolojisi." *Turkiye Klinikleri Journal of Endocrinology* 2(2): 73-89.

Kyeyune-Nyombi, E., vd. (1991). "1, 25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates both alkaline phosphatase gene transcription and mRNA stability in human bone cells." *Archives of biochemistry and biophysics* 291(2): 316-325.

Lerner, U. H. (2004). "New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption." *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 15(2): 64-81.

Lewiecki, E., vd. (2006). "Assessment of osteoporosis-website quality." *Osteoporosis international* 17(5): 741-752.

Li, Y., vd. (2007). "B cells and T cells are critical for the preservation of bone homeostasis and attainment of peak bone mass in vivo." *Blood* 109(9): 3839-3848.

MacLean, H. E., vd. (1993). "Related individuals with different androgen receptor gene deletions." *The Journal of clinical investigation* 91(3): 1123-1128.

Makhluf, H. A., vd. (2000). "Age-related decline in osteoprotegerin expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges." *Biochemical and biophysical research communications* 268(3): 669-672.

Manolagas, S. (2011). "From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis." *European Journal of Clinical Investigation* 41: 1.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Manolagas, S., vd. (2002). "Sex steroids and bone." Recent progress in hormone research 57: 385-410.

Manolagas, S. C., vd. (2013). "The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease." Nature Reviews Endocrinology 9(12): 699-712.

Martin, M. B., vd. (2002). "Role of cadmium in the regulation of AR gene expression and activity." Endocrinology 143(1): 263-275.

Martin, T. J. & E. Seeman (2008). "Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility." Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism 22(5): 701-722.

Martínez-Campa, C., vd. (2006). "Melatonin inhibits both ER α activation and breast cancer cell proliferation induced by a metalloestrogen, cadmium." Journal of pineal research 40(4): 291-296.

Masi, L. & M. Brandi (2001). "Physiopathological basis of bone turnover." The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 45(1): 2.

McCollum, E., vd. (2002). "The effect of additions of fluorine to the diet of the rat on the quality of the teeth. 1925. Studies on experimental rickets. XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. 1922. The effect of additions of fluorine to the diet of the rat on the quality of the teeth. 1925." The Journal of biological chemistry 277(19): E8.

McComb, R. B., vd. (2013). Alkaline phosphatase, Springer Science & Business Media.

Mentaverri, R., vd. (2003). "Involvement of capacitive calcium entry and calcium store refilling in osteoclastic survival and bone resorption process." Cell calcium 34(2): 169-175.

Miyahara, T., vd. (1988). "Inhibitory effects of cadmium on in vitro calcification of a clonal osteogenic cell, MC3T3-E1." Toxicology and applied pharmacology 96(1): 52-59.

Morgan, E. F., vd. (2013). "The bone organ system: form and function." Academic Press, Cambridge, MA, USA.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Morishima, A., vd. (1997). Estrogen markedly increases bone mass in an estrogen deficient young man with aromatase deficiency. *Journal of Bone and Mineral Research*, BLACKWELL SCIENCE INC 350 MAIN ST, MALDEN, MA 02148.

Mornet, E., vd. (2001). "Structural evidence for a functional role of human tissue nonspecific alkaline phosphatase in bone mineralization." *Journal of Biological Chemistry* 276(33): 31171-31178.

Mundlos, S., vd. (1997). "Mutations involving the transcription factor CBFA1 cause cleidocranial dysplasia." *cell* 89(5): 773-779.

Nakamura, T., vd. (2007). "Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor α and induction of Fas ligand in osteoclasts." *cell* 130(5): 811-823.

Nakashima, T., vd. (2011). "Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression." *Nature medicine* 17(10): 1231-1234.

Nambunmee, K., vd. (2010). "Bone resorption acceleration and calcium reabsorption impairment in a Thai population with high cadmium exposure." *Toxicology mechanisms and methods* 20(1): 7-13.

Nawrot, T., vd. (2010). "Occupational cadmium exposure and calcium excretion, bone density, and osteoporosis in men." *Journal of Bone and Mineral Research* 25(6): 1441-1445.

Nelson, H. D. (2004). "Commonly used types of postmenopausal estrogen for treatment of hot flashes: scientific review." *Jama* 291(13): 1610-1620.

Nordberg, G. F. (2004). "Cadmium and health in the 21st century—historical remarks and trends for the future." *Biometals* 17(5): 485-489.

Nordberg, G. F. (2009). "Historical perspectives on cadmium toxicology." *Toxicology and applied pharmacology* 238(3): 192-200.

Norman, A. W. & R. Bouillon (2010). "Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future." *Experimental Biology and Medicine* 235(9): 1034-1045.

Novack, D. V. & R. Faccio (2011). "Osteoclast motility: putting the brakes on bone resorption." *Ageing research reviews* 10(1): 54-61.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

O'Brien, C. A. (2010). "Control of RANKL gene expression." *Bone* 46(4): 911-919.

Ognjanović, B. I., vd. (2010). "Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant defense system in the rat testes: Protective role of coenzyme Q10 and Vitamin E." *Reproductive Toxicology* 29(2): 191-197.

Olszta, M. J., vd. (2007). "Bone structure and formation: a new perspective." *Materials Science and Engineering: R: Reports* 58(3-5): 77-116.

Onal, M., vd. (2013). "Suppression of autophagy in osteocytes mimics skeletal aging." *Journal of Biological Chemistry* 288(24): 17432-17440.

Orimo, H. & T. Shimada (2006). "Posttranscriptional modulation of the human tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene expression by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ in MG-63 osteoblastic osteosarcoma cells." *Nutrition research* 26(5): 227-234.

Orwoll, E. S. & R. F. Klein (1995). "Osteoporosis in men." *Endocrine Reviews* 16(1): 87-116.

Palmqvist, P., vd. (2002). "IL-6, leukemia inhibitory factor, and oncostatin M stimulate bone resorption and regulate the expression of receptor activator of NF- κ B ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF- κ B in mouse calvariae." *The Journal of Immunology* 169(6): 3353-3362.

Parhami, F. & L. L. Demer (1997). "Arterial calcification in face of osteoporosis in ageing: can we blame oxidized lipids?" *Current opinion in lipidology* 8(5): 312-314.

Pettit, A. R., vd. (2001). "TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis." *The American journal of pathology* 159(5): 1689-1699.

Pike, J. W. & S. Christakos (2017). "Biology and Mechanisms of Action of the Vitamin D Hormone." *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*.

Pike, A. C., vd. (1999). "Structure of the ligand-binding domain of oestrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and a full antagonist." *The EMBO journal* 18(17): 4608-4618.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Pols, H., vd. (1988). "Evidence that the self-induced metabolism of 1, 25-dihydroxyvitamin D-3 limits the homologous up-regulation of its receptor in rat osteosarcoma cells." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 970(2): 122-129.

Pols, H., vd. (1988). "Heterologous up-regulation of the 1, 25-dihydroxyvitamin D3 receptor by parathyroid hormone (PTH) and PTH-like peptide in osteoblast-like cells." *Biochemical and biophysical research communications* 156(1): 588-594.

Prince, M., vd. (2001). "Expression and regulation of Runx2/Cbfa1 and osteoblast phenotypic markers during the growth and differentiation of human osteoblasts." *Journal of cellular biochemistry* 80(3): 424-440.

Rachner, T. D., vd. (2011). "Osteoporosis: now and the future." *The Lancet* 377(9773): 1276-1287.

Raff, H., vd. (2004). "Blood and hemostasis." IN *Human physiology: The mechanisms of body function* 9th Edition. EM Watnick. McGraw-Hill Companies Inc. New York, USA.

Rai, D., vd. (2005). "Distinctive actions of membrane-targeted versus nuclear localized estrogen receptors in breast cancer cells." *Molecular endocrinology* 19(6): 1606-1617.

Ralston, S. H. (2017). "Bone structure and metabolism." *Medicine* 45(9): 560-564.

Rana, S., vd. (1996). "Protective effects of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury." *Indian Journal of Experimental Biology* 34(2): 177-179.

Regunathan, A., vd. (2003). "Microarray analysis of changes in bone cell gene expression early after cadmium gavage in mice." *Toxicology and applied pharmacology* 191(3): 272-293.

REINHARDT, T. A. and R. L. HORST (1990). "Parathyroid hormone down-regulates 1, 25-dihydroxyvitamin D receptors (VDR) and VDR messenger ribonucleic acid in vitro and blocks homologous up-regulation of VDR in vivo." *Endocrinology* 127(2): 942-948.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Riggs, B. L., vd. (2002). "Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton." *Endocrine reviews* 23(3): 279-302.

Ronchetti, S. A., vd. (2013). "Cadmium mimics estrogen-driven cell proliferation and prolactin secretion from anterior pituitary cells." *PLoS One* 8(11): e81101.

Ross, P. D. & W. Knowlton (1998). "Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers." *Journal of Bone and Mineral Research* 13(2): 297-302.

Russell, R. G. G., vd. (2006). "Bone biology and the pathogenesis of osteoporosis." *Current opinion in rheumatology* 18: S3-S10.

Sabolić, I., vd. (2010). "Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs." *Biometals* 23(5): 897-926.

Sadeghirizi, A. & R. Yazdanparast (2007). "Plasma membrane homing of tissue nonspecific alkaline phosphatase under the influence of 3-hydrogenkwadaphnin, an antiproliferative agent from *Dendrostellera lessertii*." *ACTA BIOCHIMICA POLONICA-ENGLISH EDITION*- 54(2): 323.

Safe, S. (2003). "Cadmium's disguise dupes the estrogen receptor." *Nature medicine* 9(8): 1000.

Saika, M., vd. (2001). "17 β -estradiol stimulates expression of osteoprotegerin by a mouse stromal cell line, ST-2, via estrogen receptor- α ." *Endocrinology* 142(6): 2205-2212.

Sarkar, A., vd. (2013). "A brief review on the effect of cadmium toxicity: from cellular to organ level." *Int J Biotechnol Res* 3(1): 17-36.

Schutte, R., vd. (2008). "Bone resorption and environmental exposure to cadmium in women: a population study." *Environmental health perspectives* 116(6): 777.

Sharma, U., vd. (2012). "Implication of BBM lipid composition and fluidity in mitigated alkaline phosphatase activity in renal cell carcinoma." *Molecular and cellular biochemistry* 369(1-2): 287-293.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Shin, M., vd. (2011). "The relationship between the bone mineral density and urinary cadmium concentration of residents in an industrial complex." *Environmental research* 111(1): 101-109.

Simonet, W., vd. (1997). "Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density." *cell* 89(2): 309-319.

Sims, N. A. & C. Vrahnas (2014). "Regulation of cortical and trabecular bone mass by communication between osteoblasts, osteocytes and osteoclasts." *Archives of biochemistry and biophysics* 561: 22-28.

Singer, F. R. & D. R. Eyre (2008). "Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice." *Cleveland Clinic journal of medicine* 75(10): 739-750.

Smith, E. P., vd. (1994). "Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man." *New England Journal of Medicine* 331(16): 1056-1061.

Sommar, J. N., vd. (2014). "Hip fracture risk and cadmium in erythrocytes: a nested case-control study with prospectively collected samples." *Calcified Tissue International* 94(2): 183-190.

Srivastava, S., vd. (2001). "Estrogen decreases osteoclast formation by down-regulating receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)-induced JNK activation." *Journal of Biological Chemistry* 276(12): 8836-8840.

Staal, A., vd. (1996). "Antagonistic effects of transforming growth factor-beta on vitamin D3 enhancement of osteocalcin and osteopontin transcription: reduced interactions of vitamin D receptor/retinoid X receptor complexes with vitamin E response elements." *Endocrinology* 137(5): 2001-2011.

Staessen, J. A., vd. (1999). "Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: prospective population study." *The Lancet* 353(9159): 1140-1144.

ŠTĚPÁN, J. J., vd. (1989). "Castrated men exhibit bone loss: effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodeling." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 69(3): 523-527.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Stevenson, J. C. & M. S. Marsh (2007). An atlas of osteoporosis, CRC Press.

Stoica, A., vd. (2000). "Activation of estrogen receptor- α by the heavy metal cadmium." *Molecular Endocrinology* 14(4): 545-553.

Stroud, M. L., vd. (2008). "Vitamin D: a review." *Australian family physician* 37(12): 1002.

Suda, T., vd. (1997). "Regulation of osteoclast function." *Journal of Bone and Mineral Research* 12(6): 869-879.

SUZUKI, Y., vd. (1989). "Preventive effects of zinc on cadmium-induced inhibition of alkaline phosphatase activity and mineralization activity in osteoblast-like cells, MC3T3-E1." *Journal of pharmacobio-dynamics* 12(2): 94-99.

Sweeney, T. M., vd. (1995). "Repair of critical size rat calvarial defects using extracellular matrix protein gels." *Journal of neurosurgery* 83(4): 710-715.

Tabatabaei-Malazy, O., vd. (2017). "New horizons in treatment of osteoporosis." *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 25(1): 2.

Taichman, R. S. (2005). "Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche." *Blood* 105(7): 2631-2639.

Tanakol, R. & Y. Gökçe-Kutsal (2004). "Fizyopatolojik Etmenler, Osteoporozda Kemik Kalitesi." *Güneş Kitabevi, Ankara*: 3-70.

Tanenbaum, D. M., vd. (1998). "Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95(11): 5998-6003.

Teti, A. (2011). "Bone development: overview of bone cells and signaling." *Current osteoporosis reports* 9(4): 264.

Thomas, L. D., vd. (2011). "Dietary cadmium exposure and fracture incidence among men: A population-based prospective cohort study." *Journal of Bone and Mineral Research* 26(7): 1601-1608.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Thomsen, J., vd. (2002). "Age-related differences between thinning of horizontal and vertical trabeculae in human lumbar bone as assessed by a new computerized method." *Bone* 31(1): 136-142.

Tsai, M. & B. W. O'Malley (1994). "Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members." *Annual review of biochemistry* 63(1): 451-486.

Uchida, H., vd. (2010). "The effects of a vitamin D-deficient diet on chronic cadmium exposure in rats." *Toxicologic pathology* 38(5): 730-737.

Uchida, M., vd. (2007). "Elevated urinary levels of vitamin D-binding protein in the inhabitants of a cadmium polluted area, Jinzu River basin, Japan." *The Tohoku journal of experimental medicine* 211(3): 269-274.

Ueno, K., vd. (1992). "Interleukin-4 enhances in vitro mineralization in human osteoblast-like cells." *Biochemical and biophysical research communications* 189(3): 1521-1526.

Urbschat, A., vd. (2011). "Biomarkers of kidney injury." *Biomarkers* 16(sup1): S22-S30.

Uriu, K., vd. (2000). "Uncoupling between bone formation and resorption in ovariectomized rats with chronic cadmium exposure." *Toxicology and applied pharmacology* 164(3): 264-272.

Van der Plas, A., vd. (1994). "Characteristics and properties of osteocytes in culture." *Journal of Bone and Mineral Research* 9(11): 1697-1704.

Vanderschueren, D. & L. Vandenput (2000). "Androgens and osteoporosis." *Andrologia* 32(3): 125-130.

van Driel, M., vd. (2006). "Evidence for auto/paracrine actions of vitamin D in bone: 1 α -hydroxylase expression and activity in human bone cells." *The FASEB Journal* 20(13): 2417-2419.

van Driel, M., vd. (2006). "Evidence that both 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 and 24-hydroxylated D3 enhance human osteoblast differentiation and mineralization." *Journal of cellular biochemistry* 99(3): 922-935.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Van Leeuwen, J., vd. (1992). "Bidirectional regulation of the 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ receptor by phorbol ester-activated protein kinase-C in osteoblast-like cells: interaction with adenosine 3', 5'-monophosphate-induced up-regulation of the 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ receptor." *Endocrinology* 130(4): 2259-2266.

Van Leeuwen, J., vd. (1992). "Regulation of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ receptor gene expression by parathyroid hormone and cAMP-agonists." *Biochemical and biophysical research communications* 185(3): 881-886.

Van Leeuwen, J., vd. (1991). "Modulation by epidermal growth factor of the basal 1, 25 (OH) 2D₃ receptor level and the heterologous up-regulation of the 1, 25 (OH) 2D₃ receptor in clonal osteoblast-like cells." *Calcified Tissue International* 49(1): 35-42.

Vanderschueren, D. & R. Bouillon (1995). "Androgens and bone." *Calcified Tissue International* 56(5): 341-346.

Wacker, M. and M. F. Holick (2013). "Vitamin D—effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation." *Nutrients* 5(1): 111-148.

Waisberg, M., vd. (2003). "Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis." *Toxicology* 192(2-3): 95-117.

Wallin, M., vd. (2013). "Kidney cadmium levels and associations with urinary calcium and bone mineral density: a cross-sectional study in Sweden." *Environmental Health* 12(1): 22.

Wang, H., vd. (2003). "Influence of environmental cadmium exposure on forearm bone density." *Journal of Bone and Mineral Research* 18(3): 553-560.

Warriner, A. H. & K. G. Saag (2013). "Osteoporosis diagnosis and medical treatment." *Orthopedic Clinics* 44(2): 125-135.

Wauquier, F., vd. (2009). "Oxidative stress in bone remodelling and disease." *Trends in molecular medicine* 15(10): 468-477.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Whyte, M. P., vd. (1995). "Alkaline phosphatase: placental and tissue-nonspecific isoenzymes hydrolyze phosphoethanolamine, inorganic pyrophosphate, and pyridoxal 5'-phosphate. Substrate accumulation in carriers of hypophosphatasia corrects during pregnancy." *Journal of Clinical Investigation* 95(4): 1440.

Wilson, A. K. & M. H. Bhattacharyya (1997). "Effects of Cadmium on Bone: Anin VivoModel for the Early Response." *Toxicology and applied pharmacology* 145(1): 68-73.

Woeckel, V., vd. (2010). "1 α , 25-(OH) 2D3 acts in the early phase of osteoblast differentiation to enhance mineralization via accelerated production of mature matrix vesicles." *Journal of cellular physiology* 225(2): 593-600.

Woeckel, V., vd. (2013). "1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 stimulates activin A production to fine-tune osteoblast-induced mineralization." *Journal of cellular physiology* 228(11): 2167-2174.

Wu, Q., vd. (2010). "Urinary cadmium, osteopenia, and osteoporosis in the US population." *Osteoporosis international* 21(8): 1449-1454.

Wurtz, J.-M., vd. (1996). "A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors." *Nature Structural and Molecular Biology* 3(1): 87.

Yang, H. & Y. Shu (2015). "Cadmium transporters in the kidney and cadmium-induced nephrotoxicity." *International journal of molecular sciences* 16(1): 1484-1494.

Yasuda, H., vd. (1998). "Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro." *Endocrinology* 139(3): 1329-1337.

Youness, E. R., vd. (2012). "Cadmium impact and osteoporosis: mechanism of action." *Toxicology mechanisms and methods* 22(7): 560-567.

Zhang, R. & D. P. Naughton (2010). "Vitamin D in health and disease: current perspectives." *Nutrition journal* 9(1): 65.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Zhou, S., vd. (2012). "Clinical characteristics influence in vitro action of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in human marrow stromal cells." *Journal of Bone and Mineral Research* 27(9): 1992-2000.



ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Aylin DAL
Doğum tarihi ve yeri : 13.04.1989 / İZMİR
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Eskibağlar mah. Sartak Sok. No16/6
Tepebaş/ Eskişehir
Cep Tel : 0506 863 33 90 e:mail : aylin.dal@albila.com

Eğitim Durumu

Lise: (2003-2007) Ödemiş Hulusi Uçaçelik Anadolu Lisesi
Lisans: (2008-2012) İstanbul Kültür Üniversitesi Fen Edebiyat Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Yüksek Lisans: (2013-2016): Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı

Mesleki Deneyim

:
Safa Tarım A.Ş. (Konya)-Ar-Ge Personeli (Temmuz 2017-Şubat 2018)0
Albila Serum Biyolojik Ürünler San. ve Tic. A.Ş.-Üretim Sorumlusu (Şubat 2018 -)

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Yayımlar

:
Turgut Coşan D, Ak G, Güneş HV, Dağ İ, Soyocak A, Dikmen G, Dal A, Metintaş M, Malign Plevral Mezotelyomada İlaç Taşıyıcı Nanosistemler. Tuberkuloz ve Toraks Dergisi 2016;64(1):60-68.

Turgut Coşan D, Dal A, Soyocak A, Çolak E, Çiçek A, Kurt H. "Kadmiyum Toksisitesi Oluşturulan Sıçanlarda Tannik Asitin, Ağır Metal Giderimi Ve Bazı Biyokimyasal Değerler Üzerine Etkisinin Araştırılması". Kocatepe Medical Journal 18:146-153, Ekim 2017.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

Dal A, Turgut Coşan D, Oner C, Ak G, Soyocak A, Metintas M, Colak E, Güneş HV. "Identification of total oxidant and antioxidant levels in mesothelioma" *5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress Focus on: Calcium Signaling and TRP Channels Congress, (Cell Membranes and Free*

Radical Research, 6(1): 377), Abstract Book, p: 377, Isparta, Turkey, September 9–12, 2014.

Dal A, Turgut Coşan D, Ak A, Mutlu F. "First Evidence Supporting "Genometastasis Hypothesis" in Co-culture Systems". *50th The European Society of Human Genetics (ESHG)*, Abstract Book, Copenhagen, Denmark, 27-30 May 2017.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

Soyocak A, **Dal A**, Turgut Coşan D, Çiçek A, Çolak E, Kurt H. "Kadmiyum Klorür Toksisitesine Karşı Eritrosit ve Böbrekte Kakao Yağının Rolü" *Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi*, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 26, Dedeman Oteli Konya, 26- 29 Aralık 2016.

Turgut Coşan D, Dağ İ, Soyocak A, Dikmen G, **Dal A**, Güneş HV. "Sıçan glioblastoma hücreleri üzerine tek duvarlı karbon nanotüp ve katı lipid nanopartikül etkilerinin araştırılması" *18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf175, Dedeman Oteli Konya, 18–19 Aralık 2015.

Dal A, Çiçek A, Soyocak A, Kurt H, Turgut Coşan D, Çolak E, Değirmenci İ, Güneş HV. "Sprague Dawley sıçan dokularında akut kadmiyum toksisitesine karşı kakao yağı etkili midir?" *XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, Sözlü sunum, sf 134–136, Liberty Hotels Lykia World Resort, Ölüdeniz/Fethiye, 27–30 Ekim 2015.

Turgut Coşan D, Ak G, Çolak E, Soyocak A, **Dal A**, Çolak E, Güneş HV, Metintaş M. "Malign mezotelyoma olgularında plazma paraoksonaz 1 enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi" *XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 247–248, Liberty Hotels Lykia World Resort, Ölüdeniz/Fethiye, 27–30 Ekim 2015.

Çalış İU, Turgut Coşan D, Soyocak A, **Dal A**, Kurt H, Çolak E, Güneş HV, Değirmenci İ. "İnsan eritrosit paketinde H₂O₂ ile indüklenen oksidatif strese karşı tannik asit ve sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) yağının antioksidatif etkilerinin araştırılması" *XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 297–298, Liberty Hotels Lykia World Resort, Ölüdeniz/Fethiye, 27–30 Ekim 2015.

Soyocak A, **Dal A**, Çiçek A, Kurt H, Turgut Coşan D, Çolak E, Değirmenci İ, Güneş HV. "Kadmiyuma Maruz Bırakılan Sprague Dawley Sıçanlarda Kakao Yağının Oksidatif Hasar ve Glukoza Etkisi" *XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik*

Kongresi (Uluslararası Katılımlı), Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 321–322, Liberty Hotels Lykia World Resort, Ölüdeniz/Fethiye, 27-30 Ekim 2015.

Dal A, Turgut Coşan D, Mutlu Şahin F. "Kadmiyuma Karşı Kemik Hücrelerinde Alkalen Fosfataz Aktivitesi Değişimi" *19. Uluslararası Katılımlı Ulusal Biyoteknoloji Kongresi Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 166 S-TBB-9 (Sözlü Bildiri), Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 1-3 Aralık 2017.*

Metin E, **Dal A**, Ekremoğlu M, Kara M, Duman F, Kesenci K. "Antalya Bölgesi'nden Gelen Elma Örneklerinde Emamectin B1a ve B1b Aktif Maddeleri Kalıntı Miktarının Belirlenmesi". *19. Uluslararası Katılımlı Ulusal Biyoteknoloji Kongresi Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 145 P-TB-5 (Poster Bildiri), Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 1-3 Aralık 2017.*

Ekremoğlu M, **Dal A**, Metin E, M, Duman F, Kesenci K. "Camarosa Çileklerinde Tetranychus Urticae Zararlısına Karşı Biyolojik Etkinlik Çalışması". *19. Uluslararası Katılımlı Ulusal Biyoteknoloji Kongresi Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, sf 155 P-TB-15 (Poster Bildiri), Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 1-3 Aralık 2017.*

Bilimsel Etkinlikler

Ödüller :
ESHG (The European Society of Human Genetics) European Countries Fellowship Ödülü – 2017 Mayıs, Kopenhag, Danimarka.

Projeler :
'Meme Kanseri Metastazında Serbest DNA'ların Rolü' Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Projesi, Proje Çalışanı.

'İnsan Osteoblast Hücrelerindeki Toksisiteye Bazı Vitamin ve Hormonların Etkisi' Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Projesi, Proje Çalışanı.

'Nikotin Bağımlılığının Neurexin 3 gen polimorfizmi ile ilişkisi' Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Projesi, Proje Çalışanı.