



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**DENEYSEL TEK DOZ STEROİD ENJEKSİYONLARININ KEMİK
DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

Naci KAZAZ

UZMANLIK TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ

GAZİANTEP
2018

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TEK DOZ STEROİD ENJEKSİYONLARININ KEMİK DOKUSU
ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK
İNCELENMESİ**

Naci KAZAZ

04.12.2018

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Kamile ERCİYAS
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının bir “Diş Hekimliğinde Uzmanlık” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Dr. Öğr. Üyesi Ebru Deniz KARSLI
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Diş Hekimliğinde Uzmanlık” tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ
Tez Danışmanı

Tez Jürisi

Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ

Prof. Dr. İnci Rana KARACA

Dr. Öğr. Üyesi Ebru Deniz KARSLI

İmzası

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 04.12.2018

Naci KAZAZ



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ'e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan değerli hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ebru Deniz KARSLI ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Betül TAŐ' a,

Deneysel çalışmalarımı yürütmemde ki yardımlarından ötürü Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Davut Sinan KAPLAN, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT' a

Tezimin biyokimyasal analizlerinde bana yardımcı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Seyithan TAYSI' ye ve patolojik incelemelerde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Metin KARAKÖK, Dr. Öğr. Üyesi Zehra BOZDAĞ, Arş. Gör. Ömer Faruk Dizibüyük'e

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışma şansı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve bölüm personellerimize,

Bugünlere gelmemde emeklerini ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem, babam ve abime,

Tezimin istatistiksel analizlerini yapan ve uzmanlık eğitim sürem boyunca tüm sıkıntılarında yanımda olan, gösterdiği sabır, destek ve sevgiden dolayı sevgili eşim Öğr. Gör. Tanyeli KAZAZ' a en içten dileklerle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
ÖZET	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Kortikosteroidler	6
2.1.1. Yapısı ve sentezlenmesi.....	6
2.1.2. Etki mekanizması.....	8
2.1.3. Farmakokinetik özellikleri.....	8
2.1.4. Fizyolojik ve farmakolojik etkileri	9
2.1.5. Kortikosteroidlerin sınıflandırılması.....	12
2.1.6. Kortikosteroidlerin tedavi süreleri	13
2.1.7. Kortikosteroidlerin tedavi takvimi.....	13
2.1.8. Kortikosteroidlerin tedavi dozları.....	13
2.1.9. Kortikosteroidlerin sentetik formları	13
2.1.10. Kortikosteroidlerin yan etkileri.....	15
2.2. Kemik Dokusu	16
2.2.1. Kemik yapısı	16
2.2.1.1. Kortikal kemik	17
2.2.1.2. Spongiyoz kemik	17
2.2.2. Kemik hücreleri	18

2.2.2.1. Osteoprogenitör hücreler	18
2.2.2.2. Osteoblastlar	18
2.2.2.3. Osteositler	19
2.2.2.4. Osteoklastlar	19
2.2.3. Kemik metabolizması	19
2.2.3.1. Başlangıç fazı.....	20
2.2.3.2. Geçiş fazı	21
2.2.3.3. Terminal faz.....	21
2.2.3.4. Kemik yapım yıkım metabolizmasını etkileyen faktörler	22
2.2.3.4.A. Sistemik Faktörler	22
2.2.3.4.B. Lokal Faktörler	24
2.2.3.5. Kemik yapım ve yıkımında RANKL/RANK/OPG/IL-33'ün fonksiyonları	24
2.2.3.5.A. RANKL	25
2.2.3.5.B. RANK.....	26
2.2.3.5.C. Osteoprotegerin	26
2.2.3.5.D. İnterlökin-33.....	27
2.3. Kortikosteroidlerin Kemik Dokusu Üzerine Etkileri.....	28
2.3.1. Osteoporoz	28
2.3.2. Osteonekroz	29
2.3.2.1. Steroide bağlı osteonekroz.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Deney Hayvanları	32
3.2. Çalışma Grupları.....	32
3.3. Biyokimyasal Çalışma	33
3.3.1. Kan örneklerinin toplanması.....	33
3.3.2. Biyokimyasal inceleme.....	33

3.3.2.1. Osteoprogerin (OPG).....	34
3.3.2.2. Reseptör aktivatör nükleer faktör Kappa-B Ligand (RANKL)– interlökin 33 (IL-33)	34
3.4. Histopatolojik Çalışma	35
3.4.1. Doku örneklerinin alınması	35
3.5. İstatistiksel Yöntem:	35
4. BULGULAR.....	37
4.1. Biyokimyasal Bulgular	37
4.1.1. Kemik metabolizması ile ilgili bulgular	37
4.1.1.1. OPG	37
4.1.1.2. RANKL.....	38
4.1.1.3. RANKL/OPG.....	38
4.1.1.4. IL-33	41
4.1.2. Yağ metabolizması ile ilgili bulgular.....	41
4.1.2.1. Total kolesterol, trigliserit, HDL kolesterol.....	41
4.1.2.2. LDL Kolesterol	42
4.1.2.3. LDL/HDL	43
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	45
5. TARTIŞMA	47
KAYNAKLAR	54
EKLER.....	62
ÖZGEÇMİŞ	63

KISALTMALAR VE SİMGELER

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
DHEA	Dehidroepiandrosteron
Mg	Miligram
COX-2	Siklooksijenaz-2
ELAM-1	Endotelial lökosit adezyon molekülü-1
ICAM-1	İntrasellüler adezyon molekülü-1
PAF	Trombosit aktive edici faktör
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
TNF- α	Tümör nekroz faktörü- α
IL	İnterlökin
Na	Sodyum
K	Potasyum
P	Fosfor
H	Hidrojen
PTH	Parathormon
Kg	Kilogram
Gr	Gram
BMP	Kemik morfogenetik proteini
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörü
ILGF	İnsülin benzeri büyüme faktörleri
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörleri
BMU	Kemik metabolizma ünitesi
GH	Büyüme hormonu
FGF	Fibroblast büyüme faktörleri
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü
PG	Prostaglandin
RANK	Nükleer faktör kappa B
RANKL	Nükleer faktör kappa B ligandı
OPG	Osteoprotegerin
TGF- β	Transforming büyüme faktörü
TNFR	Tümör nekroziz reseptör faktör

TRAF	Tümör nekroziz reseptör faktör (TNFR) ile ilişkili faktör
ON	Osteonekroz
AVN	Avasküler nekroz
t-PA	Doku plazminojen aktivator aktivitesi
PAI-1	Plazma plazminojen aktivator inhibitör-1
TME	Temporomandibular eklem
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.	Siklopentanoperhidrofenantren halkası	7
Şekil 2.2.	Temel steroid hormonların yapıları	7
Şekil 4.1.	1. hafta RANKL/OPG düzeyleri	40
Şekil 4.2.	4. hafta RANKL/OPG düzeyleri	40
Şekil 4.3.	1.hafta LDL/HDL düzeyleri.....	44
Şekil 4.4.	4. hafta LDL/HDL düzeyleri.....	44
Şekil 4.5.	Femur başına ait nekroz içermeyen, düzenli yapıda kemik doku, H&E x100, kemik içinde osteositleri taşıyan boşluklar (lakünler), H&Ex400.....	45
Şekil 4.6.	Mandibular kemiğe ait nekroz içermeyen, düzenli yapıda kemik doku, H&E x100, kemik içinde osteositleri taşıyan boşluklar (lakünler) ve kemik iliği hücre mesafesi (mavi ok), H&Ex400.....	46

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Eksojen olarak uygulanan kortikosteroid formları ve eşdeğer dozları	14
Tablo 2.2. Sitokin ve hormonların RANKL ve OPG sekresyonu üzerine etkileri	25
Tablo 2.3. Osteonekroz etyolojisi ve ilgili mekanizmalar	29
Tablo 4.1. 1. ve 4. haftalarda kemik metabolizması ile ilgili veriler ve analiz sonuçları	39
Tablo 4.2. 1. ve 4. haftada yağ metabolizması ile ilgili elde edilen veriler ve analiz sonuçları	42



ÖZET

Deneysel Tek Doz Steroid Enjeksiyonlarının Kemik Dokusu Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi

Naci KAZAZ

Uzmanlık Tezi

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ

Aralık 2018, 74 Sayfa

Kortikosteroidler adrenal korteks tarafından salgılanan steroid yapıdaki hormonlardır. Bu hormonların laboratuvarında sentezlenen analogları olan sentetik formları yarım yüzyıldan fazla bir süredir birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilaçların tedavi edici etkilerinin yanı sıra, birçok doku ve sistem üzerinde önemli yan etkilere neden oldukları, yüksek dozda ve uzun süreli kullanılmaları durumunda osteoporoz, kemik fraktürleri, aseptik nekroz gibi ciddi komplikasyonlara neden oldukları bilinmektedir. Kortikosteroidlerle yapılacak olan tedavilerin süresi, hastalığın seyri ve şiddetine göre değişiklikler gösterebilmektedir. Bu ilaçlar genel tababette daha ziyade yüksek dozlarda ve uzun süreli uygulanırken, diş hekimliği pratiğinde genellikle düşük dozlarda, kısa süreli ve ekseriyetle tek doz halinde uygulanmaktadır. Bununla birlikte, bu ajanların düşük ve/veya tek doz halinde uygulanması durumunda da osteonekroz gibi ciddi komplikasyonların meydana gelebileceği belirtilmektedir. Bu çalışma tek doz steroid enjeksiyonlarının kemik dokusu üzerine etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

Çalışma, 48 Wistar Albino cinsi erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Denekler, her bir grupta 12 deney hayvanı olacak şekilde biri kontrol üçü deney grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney gruplarına tek doz intramusküler 2, 4 ve 20 mg/kg olacak şekilde metilprednizolon uygulandı. Gruplardaki hayvanların yarısı 1. hafta diğer yarısı ise 4. haftanın sonunda sakrifiye edilerek kan ve kemik örnekleri toplandı. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, 2, 4 ve 20 mg/kg tek doz kortikosteroid uygulamalarının histopatolojik olarak femur ve kondil başında önemli bir değişikliğe neden olmadığı,

ancak kemik metabolizmasını gösteren OPG değerlerinin deney gruplarında daha düşük, RANKL, IL-33, LDL kolesterol değerleri ve RANKL/OPG ve LDL/HDL kolesterol oranlarının ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmanın sınırları içerisinde her ne kadar histopatolojik olarak önemli bir değişiklik olmadığı gözlenirse de, kemik metabolizmasını gösteren biyokimyasal markerlar göz önünde bulundurulduğunda tek doz kortikosteroid uygulamalarının kemik metabolizmasında önemli değişikliklere neden olduğu ve kemiğin yapım-yıkım dengesinin yıkım yönünde değiştiği söylenilebilir.

Anahtar Sözcükler: Kortikosteroid, Kemik dokusu, Tek doz



ABSTRACT

Histopathological and Biochemical Investigation of the Effect of Experimental Single Dose Steroid Injections on Bone Tissue

Naci KAZAZ

Specialty Thesis

Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisor: Prof.Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ

December 2018, 74 Pages

Corticosteroids are hormones released by the adrenal cortex. Synthetic forms of these hormones synthesized in the laboratory have been used in the treatment of many diseases for more than half a century. In addition to the therapeutic effects of these drugs, it is known that they cause significant side effects on many tissues and systems, and they cause serious complications such as osteoporosis, bone fractures, aseptic necrosis if used at high doses and long term. The duration of treatment with corticosteroids may vary depending on the course and severity of the disease. These drugs are applied in high doses and long term in general medicine , but in dentistry, they are usually applied in short doses, usually in single doses. It is noted, however, that when these agents are administered in a low and / or single dose, severe complications such as osteonecrosis may occur. The aim of this study was to investigate the effect of single dose steroid injections on bone tissue histopathologically and biochemically.

The study was performed on 48 Wistar Albino male rats. Subjects were divided into 4 groups, one for control and others for experimental group. Methylprednisolone was administered to the experimental groups in a single dose of 2, 4 and 20 mg / kg intramuscularly. Half of the animals in the groups were sacrificed at the 1st week and the other half at the end of the 4th week and blood and bone samples were collected. As a result of the evaluations, 2, 4 and 20 mg / kg single dose corticosteroid applications did not cause a significant change at the beginning of femur and condyle histopathologically, but lower OPG values of bone metabolism in experimental groups,

RANKL, IL-33, LDL cholesterol values and RANKL / OPG and LDL / HDL cholesterol ratios were found to be higher.

In conclusion, although there is no significant change in the histopathological findings within the boundaries of this study, it can be said that single-dose corticosteroid administration causes significant changes in bone metabolism and bone formation-destruction balance changes in the direction of destruction, considering biochemical markers of bone metabolism.

Key Words: Corticosteroids, Bone Tissue, Single dose



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kortikosteroidler antienflamatuvar, antialerjik ve immünsupresif etki gösteren ilaçlardır. Bu ilaçlar, genel tababette astım, sistemik lupus eritematoz, nefritik sendrom, hipersensitivite reaksiyonları, enflamatuvar bağırsak hastalığı, romatoid artrit, otoimmün hastalıklar ve organ nakli gibi birçok problemin tedavisinde, diş hekimliği pratiğinde ise daha çok gömülü yirmi yaş dişi operasyonları, implant ve ortognatik cerrahi olmak üzere birçok cerrahi işlemlerden sonra ağrı ve ödemi azaltmak amacıyla, santral dev hücreli granüloma, temporomandibular eklem hastalıklar, rekürnant aftöz stomatit, oral liken planus, eritema multiform, pemfigus, muköz membran pemfigoid gibi lezyonların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Bu ilaçların tedavi edici etkilerinin yanı sıra, doz ve kullanım süresine bağlı olarak birçok organ, doku ve sistem üzerinde önemli yan etkilere neden oldukları, özellikle kemik metabolizması üzerine olumsuz etkilerinden dolayı başta osteoporoz, kemik fraktürleri, aseptik nekroz gibi komplikasyonlar olmak üzere birçok komplikasyona neden olabilecekleri bilinmektedir. Bu konuyla ilintili olarak, yüksek dozda, uzun süre kortikosteroid kullanımının osteoblast ve osteoklast öncüllerini baskılayarak, artmış osteosit ve osteoblast apoptozisiyle ve osteoklastların yaşam süresini artırarak osteoporozu neden olduğu; doku plazminojen aktivatörünün aktivitesini azaltması, vazokonstrüktör maddelere karşı damar cevabını artırması, kemik iliğinde adipogenezisi ve yağ hipertrofini artırması gibi iskemiye neden olan mekanizmalarla da osteonekroz gelişimine neden oldukları ifade edilmektedir.

Kortikosteroidlerle yapılacak olan tedavilerin süresi, hastalığın seyri ve şiddetine göre değişiklikler gösterebilmektedir. Bu ilaçlar genel tababette daha ziyade yüksek dozlarda ve uzun süreli uygulanırken, diş hekimliği pratiğinde genellikle düşük dozlarda, kısa süreli ve ekseriyetle tek doz halinde uygulanmaktadır. Bununla birlikte, bu ajanların düşük ve/veya tek doz halinde uygulanması durumunda da osteonekroz gibi ciddi komplikasyonların meydana gelebileceği belirtilmektedir. Bu çalışma tek doz steroid enjeksiyonlarının kemik dokusu üzerine etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kortikosteroidler

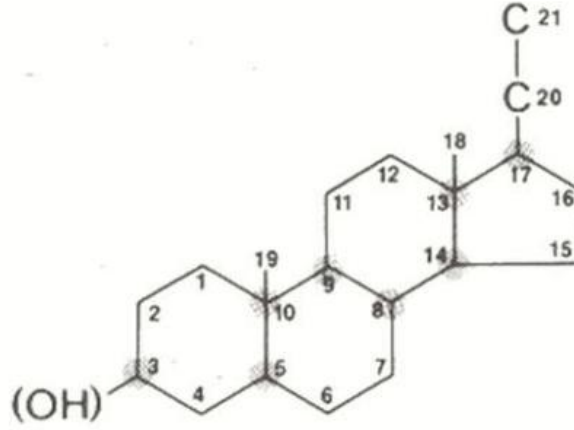
Dr. Addison ve arkadaşları kortikosteroidlerin böbrek üstü bezi korteksinin hastalığı üzerinde bölgesel ve yapısal etkilerini 1885 yılında ortaya koymuşlardır. Adrenal korteksten steroid hormonlar 1936 yılında elde edilmiş ve kortikosteroidlerin tarihte tedavi amaçlı ilk kullanımı 1940'lerde başlamıştır. Daha etkin ve daha düşük yan etkili birçok formu günümüze kadar sentezlenmiştir (1). Kortizonu bulan Philip Showalter Hench, Edward Calvin Kendall ve Tadeusz Reichstein 1950 yılında adrenal korteks hormonları ile ilgili çalışmalarından dolayı Nobel tıp ödülünü kazanmışlardır (2).

Kortikosteroidler adrenal korteks tarafından salgılanan, adrenokortikotropik hormon (ACTH) tarafından salınımı düzenlenen, antialerjik, antienflamatuvar, immünsüpresif etkilerinden dolayı sıklıkla kullanılan steroid yapıdaki hormonlar ve sentezle oluşturulan benzer yapıdaki analoglardır(3) Glukoz metabolizması üzerinde ciddi etkilerinin olmasından dolayı glukokortikoid olarak da isimlendirilmişlerdir. Adrenal korteksten doğal kortikosteroidlerin yanında androjenik steroidler de salgılanır. En çok salgılanan androjenik steroidler dehidroepiandrosteron (DHEA), androstenedion ve testosteron olarak sıralanmaktadır (4).

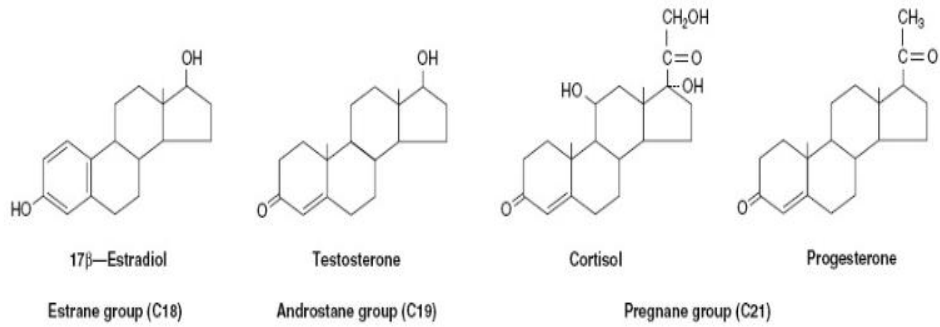
2.1.1. Yapısı ve sentezlenmesi

Steroid, dört halkalı yapıdan oluşan siklopentanoperhidrofenantren iskeletinden meydana gelen maddeler için kullanılan genel bir tanımdır. Bu dört halkalı (A, B, C, D halkaları) yapı 1 tane 5 karbonlu siklopentan halkası ve 3 tane 6 karbonlu fenantren halkasından oluşur (Şekil 2.1). Kolesterol steroid hormonlarının öncül maddesidir. Oluşumundaki hız sınırlandırıcı basamak kolesterolün pregnenolona dönüştüğü basamaktır. Kolesterolün yan zincirinin parçalanması ile C-21 kortikosteroidler, diğer

yan zincir parçalanması ile androjenler, A halkasının aromatisasyonu ile de C-18 östrojenler meydana gelir (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Siklopentanoperhidrofenantren halkası



Şekil 2.2. Temel steroid hormonların yapıları

Glukokortikoidler (kortizol) ve androjenlerin (androstendion, dehidroepiandrosteron) kolesterolden sentezlenmesi adrenal korteksin zona retikularis ve zona fasikülata tabakalarında gerçekleşirken, mineralokortikoidlerin sentezi zona glomeruloza tabakasında meydana gelir. Kortizolün büyük çoğunluğu plazmada albumin, kortikosteroid bağlayıcı globulin veya transkortin proteinlerine bağlı olarak taşınır. Sağlıklı bireylerde kortikosteroid günlük üretimi 8-13 mg olmakla birlikte, aşırı stres

durumlarında bu rakam 225-440 mg/g değerlerine ulaşır 10 katın üzerinde artış göstermektedir (5).

2.1.2. Etki mekanizması

Kortikosteroidler etkene bağımlı olmaksızın akut ve kronik enflamasyonu ortadan kaldırırlar. Enflamasyonun kapiller dilatasyon, damar çeperine fibrin çökmesi, ödem, lökositlerin migrasyonu gibi erken histolojik belirtiler ve kollejen birikimi, kapiller proliferasyon, fibrozis gibi geç belirtilerini tamamen ortadan kaldırarak güçlü inflamatuvar etkisini ortaya koyarlar. Antikor üretimini ve hücre bağımlı immün cevabı bozarak güçlü immünsüpresif etki gösterirler.

Kortikosteroidler hücre sel düzeyde etkilerini hücre içi reseptörler üzerinden gerçekleştirirler. Hücre zarını difüzyonla aşarak sitoplazmaya ulaşır, reseptör protein ile birleşir ve hormon reseptör bağı nükleusa geçerek transkripsiyon faktörleri üzerinden etkisini gösterir (6,7). Kortikosteroidler; nötrofil ve monositlerin göçünü, lenfositlere antijen sunumunu, lenfositlerin çoğalmasını, aktivasyonunu, farklılaşmasını ve sitokinlerin üretilmesi gibi inflamatuvar ve immün cevaptaki olayları inhibe ederler. T hücrelerinin dolaşımdaki sayısını ve hareketliliğini azaltır, eozinofil ve bazofillerde apoptoza neden olurlar (8). Kortikosteroid tedavisi kanda monosit, bazofil, lenfosit ve eozinofil sayısını düşürerek polimorfonükleer inflamatuvar cevabı negatif yönde etkiler. Bu etkinin kortikosteroidlerin siklooksijenaz-2 (COX-2) enzim inhibasyonu ile protein sentezini ve mRNA seviyelerini azaltarak gerçekleştirdiği ortaya konmuştur (9).

Kortikosteroidler, inflamatuvar cevapta fosfolipaz A2 nin araşidonik asite dönüşümünü engelleyerek inflamasyonu azaltır. Sinoviyal ve inflamatuvar hücrelerde kemotaktik sitokin salınımını durdurarak dokulara hücrelerin iletimini inhibe eder ve antiinflamatuvar etki gösterir (10).

2.1.3. Farmakokinetik özellikleri

Kortikosteroidlerin büyük çoğunluğu kanda transkortine bağlanarak taşınırken, %5 gibi düşük miktarlarda ise albumin bağılı olarak taşınır. Bunun sebebi transkortinin

kortikosteroidlere bağlanma kapasitesinin fazla, plazma bağlama kapasitesinin ve miktarının az olmasıdır. Kortikosteroidler hücrelere ulaştığında ise basit difüzyonla hücre içine girmektedir (11).

Sistemik kortikosteroidlerin emilimi gastrointestinal sistemden tam olarak gerçekleşmektedir. Kanda en yüksek düzeye 2-8 saatte ulaşırken, yarılanma ömürleri 90-180 dakika arasındadır. Karaciğerde metabolize edildikten sonra böbrekten atılımları gerçekleşir. Karaciğerde mikrozomal enzimlerini tetikleyen ilaçlarla birlikte alındığında etkileri azalmaktadır (12). İnhal kortikosteroidlerin emilimi ağızda ve akciğerlerde gerçekleşir. Büyük çoğunluğu herhangi bir değişim göstermeden dolaşıma geçerler ancak karaciğerde ilk geçiş eliminasyonuna maruz kaldıklarından dolayı yarılanma ömürleri (1,5-2 saat) daha kısadır (13).

Kortikosteroidler sitoplazmada stresle tetiklenen protein grubundaki ısı şok protein 90 ile yapışık haldeki glukokortikoid reseptörüne bağlanmaktadır. Kortikosteroidin bağlanmasıyla reseptörün ısı şok protein 90 ile bağı kopar ve hücre çekirdeğinde özel DNA sekansları ile etkileşimi başlar. Hormonal etkiler ve proteinleri, enzimleri kodlayan mRNA üretimi bu şekilde meydana gelir (12).

2.1.4. Fizyolojik ve farmakolojik etkileri

Glikoz metabolizması: Kortikosteroidler glikoneojenezi arttırarak insüline ters etki meydana getirirler. Glikojen sentetaz enzimini indükleyerek, glikojen üretimini ve depolanmasını karaciğerde artmasını sağlarken, yağ dokusu hücrelerine glikoz geçişini engellerler (12).

Protein metabolizması: Kortikosteroidler vücuttaki karaciğer haricindeki tüm dokularda protein sentezini azaltırken, sadece karaciğerde protein sentezini arttırmaktadır. Özellikle çizgili kas ve bağ dokusu olmak üzere dokularda protein yıkımını arttırırlar, dokulara aminoasit geçişini azaltırlar. Kortikosteroidler anabolik faaliyetleri düşürürken, kas yıkımı, osteoporoz, deri atrofi, kapiller kırılabilirliği gibi katabolik faaliyetleri arttırmaktadır (1).

Yağ metabolizması: Kortikosteroidler; yağ hücrelerinde lipolizi hızlandırarak serbest yağ asidi ve gliserol salınımını arttırlar. Glikozun yağ hücrelerine geçişini azaltırlar. Yüksek doz uzun süre tedavi alınan veya kortikosteroidlerin fazla miktarda salgılandığı durumlarda insülin seviyesini ve iştah arttırmalarından dolayı lipojenik etkiye gösterebilirler (14).

Antiinflamatuvar etki: Kortikosteroidler ödem, kızarıklık, sıcaklık, ağrı, fonksiyon kısıtlanması gibi lokal belirtileri, kapiller dilatasyon, damar çeperine fibrin çökmesi, lökositlerin göçü, fagositik aktivitenin artması, fibrozis, kapiller proliferasyon, kollejen birikmesi ve skar oluşumu gibi histolojik durumları inhibe ederek akut inflamasyonu ortadan kaldırır (15).

Kortikosteroidler inflamasyon hücrelerinin damar dışına göçünü; endotelial lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM-1) ve intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in oluşumunu durdurarak engellerler. Trombosit aktive edici faktör (PAF), granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), interferon-gama, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), inflamatuvar interlökinler (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6) gibi akut faz reaktanlarının üretimini ve salınmasını önlerler. Kronik inflamasyonlarda fizyolojik dozların üzerinde verildiğinde akut inflamasyonlarda olduğundan daha etkindirler. Kortikosteroidlerin bazı zamanlarda inflamasyon belirtilerini maskeleyerek inflamasyonun altında yatan patolojik nedenin tanı ve tedavi olanağını azaltması ise olumsuz yanlarıdır (15).

İmmünsupresif etki: Kortikosteroidler kandaki T lenfositlerinin miktarını azaltarak, T lenfositlerin sorumlu olduğu hücrel immün cevabı baskırlar. Nakil hastalarında organ reddinin önlenmesi için ve otoimmün hastalıkların tedavisinde hücrel immün yanıtı baskıladığından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (14).

Hematopoetik sistem üzerine etki: Kan ve kemik iliğindeki eritrosit, lökosit hemoglobin ve trombosit seviyesini arttırlar. Polimorfonükleer lökositlerin damar dışına çıkışını azaltır, kandaki yarılanma süresini arttırlar. Lenfosit, monosit, bazofil ve eozonofillerin kandan dokulara göçünü kolaylaştırarak kandaki seviyelerini azaltırlar (1,14).

Santral Sinir Sistemi: Kortikosteroidler tedavi alan bireylerde depresyon, davranış değişiklikleri, huzursuzluk, uykusuzluğa sebep olabilir konvülsiyon eşiğini düşürürler (12).

Böbrekler: Toplayıcı kanal hücrelerinde aldosteron reseptörlerini indükleyerek sodyum (Na) ve su Emilimini artırırken K^+ ve H^+ atılımını artırır. Glomerüler filtrasyon hızı kortizol yetersizliğine bağlı olarak düşer, antidiüretik hormon salınımı artar. Kortikosteroidler, Ca ve ürik asit atılımını artırır (14).

Kardiovasküler Sistem: Kortikosteroidler adrenarjik sinir uyarımının myokard ve damar düz kasları üzerindeki etkisini ve adrenal ve anjiotensin gibi vazokonstriktör hormonların damarlar üzerindeki etkisini artırır. Böbrekler üzerindeki tuz ve su Emilimini artırıcı etkilerinden dolayı hipertansiyon geliştirebilirler. Endotoksin şokta meydana gelen damar bozukluklarını (özellikle küçük çaplı venlerde oluşan) engeller (16).

Kemik ve kalsiyum metabolizması: Kortikosteroidlerin vücutta fazla üretildiğinde veya yüksek doz tedavi alan bireylerde D vitamini ters etkiler gösterdiği görülür. Kalsiyumun bağırsaktan Emilimini düşürürken, böbreklerden atılımını yükseltirler bunun sonucu olarak parathormon (PTH) üretiminde sekonder artışa sebep olurlar. Kemik metabolizması üzerinde ki temel etkilerini osteoblastik aktiviteyi düşürürken, osteoklastik aktiviteyi yükselterek gösterirler. Ayrıca osteoklastik etkinin dolaylı olarak artışında, parathormonun sekonder etkiyle salgılanmasının artmasıyla gerçekleşir. Bütün bu etkilerin sonucu olarak da osteoporoz meydana gelir (14,17).

Büyümenin inhibisyonu: Yüksek doz uzun süreli kortikosteroid kullanımları çocuklarda epifizyel kıkırdağın metabolizmasını bozarak büyümenin yavaşlamasına neden olmaktadır. Çocuklarda bu etkiyi düşürmek için gün aşırı uygulamaların yapılması gerektiği, her gün uygulanan düşük dozun gün aşırı uygulanan yüksek dozlara göre büyüme üzerindeki yavaşlatıcı etkisinin daha düşük olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (12).

ACTH baskılanması ve korteks atrofisi: Kortikosteroid ilaçlar, kortizolle aynı görevi yaparak ön hipofizdeki kortikotrop hücrelerini baskılayarak ACTH salgılanmasını

azaltır. Uzun süreli yüksek doz ilaç tedavilerinde adrenal korteks atrofi meydana gelmektedir. Uzun süreli tedavi gören kişilerde enfeksiyon, cerrahi girişim veya travma gibi stres durumları ortaya çıktığında ek kortikosteroid tedavisi başlanmalıdır (12).

Diğer etkileri: Yüksek dozlarda bağ dokusunda fibroblast proliferasyonunu azaltıp, kollejen kaybını arttırdığından ciltte incelmeye ve skar dokusu oluşumunda gecikmeye sebep olurlar. Kadınlarda ovülasyonu engelleyebilir, erkeklerde testosteron miktarını düşürebilirler. Göz içi basınç artışı ve katarakta neden olabilirler (12).

2.1.5. Kortikosteroidlerin sınıflandırılması

Kullanım Şekillerine Göre Kortikosteroidler:

- a) Lokal: Sistemik kullanıma göre daha az yan etki ortaya çıkar (18).
 - Topikal uygulama: Krem, jel ve losyon gibi cilde uygulanabilecek değişik formları vardır (18).
 - İntraartiküler uygulama: Altı haftadan daha az aralıklarla aynı eklem uygulanması önerilmez. İntraartiküler uygulama için triamsinolon heksasetonid en etkin kortikosteroiddir (18).
 - Nazal uygulama: Genellikle alerjik rinit tedavisinde uygulanırlar (18).
 - İnhalasyon ajanları: İnhalasyon yoluyla kullanılan kortikosteroidler beklometazon dipropionat, budesonid, flunisolid, flutikazon dipropionat ve mometazon furoatır(18).
- b) Sistemik: Oral, intramusküler, intravenöz ve intraartiküler olacak şekilde uygulanabilir (18).

Etki Sürelerine Göre Kortikosteroidler:

- Kısa etkili kortikosteroidler (12 saat): kortizol, kortizon
- Orta etkili kortikosteroidler (12-36 saat): prednizolon, metilprednizolon, prednizon

- Uzun etkili kortikosteroidler (>36 saat): deksametazon, betametazon, deflazakort

2.1.6. Kortikosteroidlerin tedavi süreleri

- Kısa dönem (<10 gün)
- Orta dönem (10-30 gün)
- Uzun dönem (>30 gün)

2.1.7. Kortikosteroidlerin tedavi takvimi

- Tek doz ağızdan (sabah veya akşam)
- Bölünmüş dozlarda ağızdan (2-4/gün)
- Günaşırı doz ağızdan (sabah)
- Mini pulse tedavi intravenöz yoldan (2,5 mg/kg metilprednizolon)
- Pulse tedavi intravenöz yoldan (10-20 mg/kg metilprednizolon, en fazla 1 gr/gün)

2.1.8. Kortikosteroidlerin tedavi dozları

- Replasman dozu (7-10 mg/m²/gün hidrokortizon)
- Düşük doz (<5 mg/m²/gün prednizolon)
- Orta doz (5-20 mg/m²/gün prednizolon)
- Yüksek doz (>20 mg/m²/gün prednizolon)
- Çok yüksek doz (>50 mg/m²/gün prednizolon, en fazla 60-80 mg/gün)(19)

2.1.9. Kortikosteroidlerin sentetik formları

İlk zamanlarda kolesterol ve safra asitlerinden, daha sonra diosgenin isimli bitkisel kaynaklı steroidin başlangıç maddesi olarak kullanılmasıyla sentetik kortikosteroidler üretilmiştir. Günümüzde ise yeni yöntemler kullanılarak daha basit maddelerden

üretilmeye devam etmektedirler. Sentetik yapıda kortikosteroidlerin üretilmesinin amacı ise doğal kortikosteroidlerin önemli bir yan etkisi olan su ve tuz tutma etkilerini minimum seviyeye düşürmektir. Kortikosteroid ilaç türleri genellikle ağızdan alınır ve emilimi mide bağırsak mukozasından gerçekleşir. Prednizon, prednizolon, triamsinolon, deksametazon, betametazon, beklametazon, flunisolid, budesonid en sık kullanılan ilaç türleridir (12). Bu ilaçların birbirine göre etkinlik değerleri ve plazma yarılanma ömürleri farklılık göstermektedir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Eksojen olarak uygulanan kortikosteroid formları ve eşdeğer dozları

	Eşdeğer doz (mg)	Glukokortikoid etkinlik	Mineralokortikoid etkinlik	Plazma yarı ömrü (dakika)
Hidrokortizon	25,0	1	1	80-115
Prednizon	5,0	4	0,8	160
Prednizolon	5,0	4	0,8	115-250
Metilprednizolon	4,0	5	0,5	80-180
Triamsinolon	4,0	5	0	80-120
Deksametazon	0,75	25	0	110-120
Betametazon		25-30	0	130-330

Hidrokortizon fizyolojik replasman tedavisinde kullanılır ve kortizolün sentetik eşdeğeridir. Prednizon inaktif formda bulunur karaciğerde hidrosilasyona uğradıktan sonra aktif hale gelebilir (11).

Prednizolon kimyaca $\Delta 1$ -hidrokortizondur. Prednizolonun hidrokortizona göre %40 daha az tuz tutarken, antiinflamatuvar etkisi dört kat yüksektir. Antiinflamatuvar etki gösterirken daha az tuz tutması ve buna bağlı olarak daha az ödeme sebep olmasından dolayı kortizon ve hidrokortizona göre antiinflamatuvar olarak daha sık tercih edilir. Genellikle oral yoldan kullanılır, topikal uygulama içinde formları vardır. 1 gr/gün maksimum intravenöz doz, 60-80 mg/gün ise maksimum oral doz olarak belirlenmiştir. Yarılanma süresi 3,2 saattir (11).

Metilprednizolonun dokulara geçişi yüksektir, kan beyin bariyerini geçebilirler. Oral yolla kullanıldıklarında biyoyararlanımları çok fazladır. Dolaşımdaki süreleri 12-36 saat arasındadır. Fosfat ve süksinat esterleri sayesinde suda çözünebilirler. İlacın dozu vücut ağırlığına göre hesaplanmalıdır (12).

Budesonid genellikle inhalasyon yoluyla kullanılan güçlü glukokortikoid, zayıf mineralokortikoid etki gösteren antiinflamatuvar bir kortikosteroiddir. Karaciğerde yüksek oranda ilk geçiş eliminasyonuna uğradığından dolayı sadece lokal olarak kullanılmaktadır. Günlük kullanım dozu 1,2 mg'ın üstünde olmamalıdır (12).

2.1.10. Kortikosteroidlerin yan etkileri

Kortikosteroidler uygulanma dozuna ve süresine bağlı olarak bazı yan etkilere sebep olmaktadır. Bu yan etkiler şöyle sıralanabilir;

- Enfeksiyon gelişmesinin kolaylaşması: Mikrobakteri, mantar ve toksoplazma enfeksiyonları gelişme riski yükselmiştir. İlaçların günaşırı kullanımı ve günlük tek doz fizyolojik doz aralığında kullanılması bu etkiyi minimuma indirmektedir (18).
- İyatrojenik Cushing Sendromu: Su ve tuz tutulumuna bağlı ödem, yüz, ense, karın ve omuzlarda yağ birikimi, ciltte çizgiler ve atrofi, saç dökülmesi, kılınma ve osteoporoz gibi belirtilerle meydana gelir (18).
- Myopati: Genellikle en şiddetli pelvis kaslarında meydana gelir ancak dozun düşürülmesi ile ortadan kalkmaktadır (18).
- Psikiyatrik etkiler: Depresyona ve intihara eğilime sebep olabilmektedir (18).
- Ciltte atrofi ve yara iyileşmesinde gecikme: Kollajen ve protein sentezini inhibe etmesiyle bu etkiyi meydana getirir (18).
- Ses kısıklığı ve oral kandidiazis: İnhalasyon yoluyla kullanılan kortikosteroidler üst solunum yolunu etkileyerek öksürük ve ses kısıklığına neden olabilirken, ağız içinde mantar enfeksiyonlarının gelişimine de sebep olabilirler (18).
- Peptik ülser oluşumu: Kortikosteroid tedavisi alan kişilerde peptik ülser ve buna bağlı mide kanamaları görülebilir.
- Adrenal yetmezlik: Yüksek dozlarda hipotalamo-hipofizer adrenal aksı baskılayarak adenokortikal atrofiye sebep olabilir, tedavi bir anda kesilirse adrenal yetmezlik belirtileri ortaya çıkabilir.
- Büyümenin baskılanması: Kortikosteroid tedavisine bağlı olarak iskelet protein sentezi baskılanır, kalsitonin ve vitamin metabolitleri azalır, osteoklastların

kemiğe tutunması artar, epifiz metabolizması etkilenir ve böylece büyüme üzerine baskılayıcı bir etki ortaya çıkar.

- Hipokalemi ve ödem: Kortikosteroidler aldosteron reseptörlerini uyararak böbreklerden Na ve su geri emilimini, K ve hidrojen atılımını arttırarak hipokalemi ve ödeme sebep olurlar.
- Diyabet oluşumu: İnsüline zıt etki meydana getirdiğinden diyabete neden olabilirler.
- Katarakt ve glokom oluşumu: Gözde katarakt ve glokom gelişimine neden olabilir.
- Osteoporoz-Osteonekroz: Kortikosteroidlere bağlı gelişen kemik kaybı genellikle trabeküler kemikte meydana gelmektedir. Kemiklerin en çok etkilenme sıklığı ise sırasıyla lomber omurga, proksimal femur, distal radius olarak görülmektedir (18).

2.2. Kemik Dokusu

Kemik dokusu, çevresinde bulunan kas dokularının üzerine yapışmasıyla hayati önem taşıyan organları destekleyen ve koruyan, ekstraselüler matris, lif ve hücrelerden oluşan, vücudun iskelet sistemini meydana getiren dokulardır (20). Kemiğin başlıca görevleri vücut stabilitesini sağlamada destek görevi görmesi ve yapısında bulundurduğu kalsiyum ve fosfat ile vücut sıvılarındaki mineral dengesini sağlamaktır. Kemik esnek ve elastik bir yapıya sahipken aynı zamanda oldukça dayanıklı ve kırılmaya karşı dirençlidir. Kemik herhangi bir hasara uğradığında kendi kendini onarabilen bir organdır. Toplam vücut ağırlığının yüzde onunu meydana getirir (21).

2.2.1. Kemik yapısı

Kemik yapısını %67 oranında inorganik maddeler %33 oranında ise inorganik maddeler meydana getirir (22). İnorganik maddelerin başında hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunan kalsiyum ve fosfat, magnezyum, sitrat gibi maddeler gelir. Organik yapının %90 gibi büyük kısmı kollajen lifler, geri kalan %10 luk kısım ise proteinlerden oluşur.

Birbirine paralel ve belirli aralıklarla dizilmiş kollajen lifler arasına hidroksiapatit kristalleri yerleşerek kemik dokusunu oluştururlar (23).

Kemik kortikal ve spongiyoz olmak üzere iki farklı tabakadan meydana gelir (23). Kemiklerin büyük bir çoğunluğunda bu iki tabaka bir arada bulunurken, iki tabakanın birbirine oranı yaş ve işleve göre farklılık gösterebilir (24).

2.2.1.1. Kortikal kemik

Kortikal kemik, kemiğin uzun eksenine paralel, enine kesitte oval ya da yuvarlak görünen birbirine komşu osteon veya havers sistemi olarak isimlendirilen yapılardan meydana gelmektedir. Osteon, lamel olarak adlandırılan kollajen liflerden oluşan halkalardan oluşur. Kan damarları ve sinir lifleri havers kanallarının içinde bulunur ve havers kanalları arasındaki bağlantı bunlara dik bir şekilde uzanan volkman kanalları vasıtasıyla gerçekleşir. Lameller arasındaki boşluklar lakün olarak isimlendirilir ve kemik hücreleri bu boşluklarda bulunur. Kortikal kemik spongiyoz kemiğe göre daha yoğun ve daha düşük poroziteye sahiptir, dayanıklılık yönünden ise on kat daha dayanıklıdır. Daha çok uzun kemiklerin diafizlerinde, yassı kemiklerin ise iç ve dış tabakalarında bulunurlar (24,25).

2.2.1.2. Spongiyoz kemik

Spongiyoz kemik içerisinde çok sayıda boşluk bulunan düzensiz olarak dağılmış trabeküllerin oluşturduğu süngerimsi bir yapıdır. Trabeküller, çok sayıda lameller içerir ve bu lameller birbirine kanalliküler denilen yapılarla bağlanırlar. Kemik iliği, trabeküller arasındaki endosteumla çevrelenmiş boşluklarda bulunur. Havers sistemi spongiyoz kemikte bulunmamaktadır. Kortikal kemiğe göre mekanik yüklere karşı adaptasyon hızı, metabolik aktivitesi daha fazladır. Spongiyoz kemik daha çok düz kemiklerde, uzun kemiklerin uç kısımlarında yer alır (24,25).

2.2.2. Kemik hücreleri

Kemik dokunun devamlılığının sağlanmasında ve bu dokuda gerçekleşen yapım yıkım olaylarından sorumlu farklı hücreler mevcuttur. Bu hücreler osteoprogenitör hücreler, osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlardır (22).

2.2.2.1. Osteoprogenitör hücreler

Osteoprogenitör hücreler mezenşim kaynaklı çoğalma yeteneğine sahip hücrelerdir. Bu hücrelerin görevleri hayat boyu devam eder. Büyüme döneminde kemik gelişimi süresince aktiftirler, erişkin dönemde ise herhangi bir travma veya yaralanma durumlarında aktif hale gelir diğer hücelere dönüşür ve kemik turnoverinde görev alırlar. Osteoprogenitör hücreler periostun iç yüzeyinde, endosteumda ve havers kanallarında yer alırlar. Osteoblastlara ve osteoklastlara dönüşebilirler (26).

2.2.2.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik matriksinin organik kısmının yapımından ve inorganik maddelerin kemiğe çökerek olgunlaşmasında görev alan, kemik iliğindeki mezenkimal progenitor hücrelerden farklılaşan hücrelerdir. Osteoblastlar gelişmiş endoplazmik retikulum ve golgi kompleksine sahiptir, ayrıca çok sayıda mitokondrileri vardır. Kemik oluşumu sırasında osteoblastlar hücreler arası haberleşmeyi osteositlerin sitoplazmik uzantıları ile sağlarlar. Osteoblastlar tarafından yeni oluşturulan ve henüz kalsifiye olmamış kemik matriksi osteoid olarak adlandırılır.

Pasif kemik yüzeyleri inaktif osteoblast hücrelerinden oluşan bir tabaka ile örtülüdür. Osteoblastların üzerinde 1,25-dihidroksivitamin D, paratiroid hormon, cinsiyet hormonları, kortikosteroidler gibi birçok hormon için reseptörler bulunmaktadır (27). Osteoblastlar kemik morfogenetik proteini (BMP), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), insülin benzeri büyüme faktörleri (ILGF), interlökin (IL), platelet kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF) gibi büyüme faktörleri ve sitokinlerin yanında yüksek oranda Tip I daha düşük oranlarda Tip V salgılanmasını sağlar (28).

2.2.2.3. Osteositler

Osteositler kemik oluşumu esnasında matriksin kanalcıkları arasındaki lakünelarda kalan osteoblastların farklılaşmasıyla oluşur. Her laküna içerisinde bir osteosit vardır. Osteositler gelişmiş kanaliküler sistemleri ile kan ve kemik arasında kalsiyum alışverişine ve oksijen geçişini sağlayarak hem kemiğin beslenmesinde hem de kalsiyum dengesinin sağlanmasında önemli bir rol üstlenir (29).

2.2.2.4. Osteoklastlar

Kemik dokusunun rezorpsiyonunda görev yapan aynı zamanda kemikten kana kalsiyum geçişinde aktif olarak rol oynayan çeşitli büyüklükte fazla miktarda çekirdeğe sahip olan hücrelerdir. Osteoklastlar protonlarını salgılayarak kemiğin mineral kısmının, preolitik enzimlerini (katepsin K gibi) salgılayarak da kollejen matriksin rezorpsiyonunu sağlarlar. Osteoklast hücreleri kemik iliğindeki monositlerden farklılaşarak meydana gelirler ve kemik içindeki Howship laküna olarak adlandırılan çukurcularda yer alırlar (30).

Osteoblast hücreleri salgıladıkları osteoklast diferansiyasyon faktör ile progenitör hücrelerden osteoklast oluşumunu uyarır, bu mekanizmada kemik turnoverinde osteoblast ve osteoklastlar arasındaki iletişimi açıklar. Aynı zamanda osteoklastlar üzerinde kalsitonin hormon reseptörleri varken, paratroid hormonu için reseptör yoktur osteoblastlar üzerinde bulunan reseptör sayesinde paratroid hormon arttığında osteoblast ve osteoklastlar arası iletişim mekanizmasıyla osteoklastlar uyarılarak kemik rezorpsiyonunda artar (24,25).

2.2.3. Kemik metabolizması

Kemik metabolizması yapım ve yıkım olaylarının birbiri ardına gerçekleştiği devamlı bir süreçtir. Bu süreç eski ve hasarlı kemiğin yıkılması ve yerine kemik yapılması arasındaki denge ilişkisi ile devam etmektedir. Kemik yapım ve yıkım olayları

mikroskopik düzeyde kemik metabolizma ünitesi (BMU) olarak isimlendirilen kemik yüzeyindeki belli alanlarda meydana gelmektedir (31).

Kemik metabolizması kemik hücreleri arasındaki devamlı iletişim mekanizması sayesinde düzenlenmektedir (32).

Osteoklastlar ve osteoblastlar, kemik yapım yıkım olaylarının gerçekleşmesinde aktif rol oynayan ana iki hücredir. Osteoklastlar kemik turnoverinin erken safhasında eski veya hasarlı kemiğin rezorbsiyonunu sağlarken, osteoblastlar osteoklastların aktivitesinin ardından kemik metabolizma ünitesi bölgelerine gelerek rezorbe olan kemiğin yerine yeni kemik oluştururlar. Osteoblastların henüz kalsifiye olmamış kemik matriksiyle (osteoid) BMU bölgesini doldurmasıyla yeni kemik oluşum süreci sona erer (31).

Kemik remodelasyonu; başlangıç, geçiş ve terminal olmak üzere 3 fazdan meydana gelir (32).

2.2.3.1. Başlangıç fazı

Başlangıç fazı; osteoblast öncül hücrelerinin toplandığı, farklılaştığı ve osteoblastların aktive olduğu aynı zamanda kemik yıkımında başladığı fazdır (32).

BMU bölgelerindeki osteoblast hücreleri ile osteoklast prekürsör hücreleri arasındaki etkileşim ile osteoklastogenezis başlar. Osteoblastlar tarafından RANKL sentezlenir ve osteoklast prekürsör üzerindeki RANK uyarılarak osteoklast faaliyeti başlar. Osteoklastlar kemik içindeki mineralleri çözüp, organik matriksi hidrolize ederek trabeküler ve kortikal kemikte çukurcuklar meydana getirir. Bu çukurcuklar belli bir derinliğe geldiğinde osteoklastlar bu bölgeden başka bir bölgeye doğru kemik boyunca yer değiştirirler. Bu dönemde ortamın asidik koşullarda kalabilmesi için H⁺ iyonu salgılanır. Makrofaj-osteoklast hattındaki hücrelerin yaşamının devamı için gerekli olan makrofaj-koloni uyarıcı faktör osteoblastlar tarafından üretilir(32–34).

2.2.3.2. Geçiş fazı

Geçiş fazı osteoklastik kemik rezorpsiyonunun azaldığı, osteoklastların apoptozise uğradığı ve rezorbe olan kemiklerin osteoblastlar tarafından yapım aşamasının başladığı dönemdir. Hücresel düzeyde kemik yıkımından kemik yapımına geçiş “Coupling” olarak isimlendirilir (35).

Osteoklastlar tarafından aktive edilen osteoblastik kemik yapımı coupling te önemli bir basamaktır, hücre-hücre bağlantısı olmadan da gerçekleşebilir. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) II, kemik morfojenetik proteinler, transforming büyüme faktörü β (TGF- β) osteoklastik kemik rezorpsiyonu sonucu kemik matriksinden çözünürler ve kemik yapımını başlatırlar (32,36).

Osteoblastlar tarafından mineralize olmamış matriks (osteoid) salgılanır ve bu matriks oluşumundan birkaç gün sonrasında mineralizasyon başlar (37).

2.2.3.3. Terminal faz

Osteoblastik kemik üretimi bu fazda yavaşlayarak devam eder. Bu dönem boyunca osteoblastlar osteoprogerin salgılayarak osteoklast farklılaşmasını inhibe ederler (32).

Rezorbe olan kemiğe eşit miktarda kemik yapıldığında kemik üretimi sona erer. Kemik oluşumunu baskılamak için osteositler tarafından sklerostin salgılanır (38). Kemik oluşumu tamamlandığında yüzey hücreleri kemik yüzeyini kaplayarak yeni bir yeniden yapılanma siklusuna kadar hücresel aktivitenin minimum düzeyde olduğu dinlenme dönemini başlatır.

Yeniden yapılanma siklusu yıkım 3 gün, dönüş 14 gün, yapımın ise 70 gün sürdüğü yaklaşık 3 aylık bir periyot da tamamlanır ve birbirini takip eden yapım yıkım olayları sonrasında kemik kütleinde bir değişiklik olmaz (37).

2.2.3.4. Kemik yapım yıkım metabolizmasını etkileyen faktörler

2.2.3.4.A. Sistemik Faktörler

1. Paratiroid Hormon (PTH): Paratiroid hormon paratiroid bezlerden salgılanır ve kalsiyum dengesinin sağlanmasında en etkin düzenleyici faktördür. Osteoblastların üzerindeki kalsiyum reseptörleri serum kalsiyum miktarının azaldığını algılayarak PTH salgılanmasını sağlarlar. PTH ise serum kalsiyum seviyesini; böbrek ve iskelet sistemini direk, barsağı ise indirek şekilde etkileyerek arttırmırlar. Serum kalsiyum seviyesi ile PTH arasında negatif feedback mekanizması vardır ve artan kalsiyum düzeyide PTH seviyesini kontrol eder. PTH osteoblastlar üzerindeki reseptörlerine bağlandığı zaman, osteoklastlar aktive olur ve kemik yıkımı başlar. PTH'ın miktarı osteoblastlar üzerindeki etkisini değiştirir. Yüksek miktarlarda kemik yapımını durdururken, düşük miktarlarda ise kemik yapımını uyarırlar bu sayede kemik dokuda hem yapımı hem yıkımı uyaran hormon olarak görev alırlar (39). PTH böbrek üzerindeki etkisini distal tübüllerden kalsiyum (Ca) geri emilimini arttırıp, fosfor (P) emilimini azaltarak, barsak üzerindeki etkisini ise 1,25-(OH)₂ vit D3 üzerinden indirek yolla Ca ve fosfor emilimini arttırarak ortaya koyarlar.
2. Kalsitonin: Farmakolojik dozlarda kalsitonin direk olarak osteoklastları etkiler, osteoklastların hareketliliğini azaltarak ve proteolitik enzimlerin salınımını inhibe ederek kemik yıkımını engeller. Endojen kalsitonin miktarının ise osteoklast aktivitesi üzerinde doğrudan bir etkisinin olduğuna dair bir kanıt yoktur (40).
3. Vitamin D: 1,25 dihidroksi vitamin D3 (kalsitriol) vitamin D nin en aktif formudur. Barsakta bulunan reseptörlerine bağlanarak Ca ve P geri emilimini arttırmırlar. Ca miktarını arttırdığından PTH oluşumunu azaltırlar. Böbrekte 1- α hidroksilaz enzimini inhibe ederek kendi aktiflenmelerini durdururlar (41).
4. Glukokortikoidler: Glukokortikoidler, kemik hücreleri üzerinde hem uyarıcı hem de inhibitör etkiler gösterir. Mezenkimal progenitör hücrelerden

farklılaşmalarını destekleyerek osteoblast olgunlaşmasını kolaylaştırırlar. Ancak uzun süreli yüksek doz kullanımlarda osteoblastlar üzerine inhibitör etki yaparak kollejen sentezini bozarlar. Böbreklerden Ca geri emilimini bozarlar ve buna bağlı olarak PTH miktarının artmasına neden olurlar. Bu etkiyle de dolaylı olarak osteoklastik aktiviteyi arttırırlar. Yüksek konsantrasyonlarda büyümeyi inhibe ederler (42). Sekonder osteoporoz oluşumunun en yaygın etkeni olarak kortikosteroidler gösterilmektedir. Kortikosteroidler trabeküler kemikten, kortikal kemiğe nazaran daha fazla kemik kaybına sebep olurlar (43).

5. Tiroid Hormonları: Tiroid hormonları hem kemik rezorpsiyonunu hem de oluşumunu uyarır. Büyüme hormonuna karşı oluşan cevabı arttırır. Kıkırdak gelişimi ve farklılaşması için gereklidir. Hipertiroidizmde kemik yapım yıkım siklusu sıklaşır ve bu nedenle kemik kaybı oluşabilir (44).
6. Büyüme Hormonu (GH) ve İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF): Büyüme hormonu kemik dokusu üzerinde kemik yapımını arttırıcı etki gösterir. Çevre dokulardaki etkisini çoğunlukla insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) sistemi üzerinden gerçekleştirir. Büyüme hormonu (GH) / IGF-1 sistemi ve IGF-2, endokondriyal kemik oluşumu sırasında iskelet büyümesi için önemlidir. IGF'lerin kemik yapım ve yıkımında görev alan tüm hücreler üzerinde etkisi vardır. Osteoblastik aktivitenin her aşamasında etkilidir aynı zamanda IGF-1 kollejen yıkımını azaltarak matriksin bütünlüğünü korur (45).
7. Seks Hormonları: Östrojenler osteoklast progenitör hücrelerin RANKL'a tepkisini azaltır, böylece osteoklast oluşumunu önler (46). Ayrıca, östrojenler osteoblast proliferasyonunu uyarır ve apoptozunu azaltır. OPG, IGF I, IGF II, ve TGF-beta salınımını arttırırlar (47). Androjenler, her türlü kemik hücresinde bulunan androjen reseptörü üzerindeki etkileri ile iskelet büyümesi ve bakımı için gereklidir (48).

2.2.3.4.B. Lokal Faktörler

Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-B) kollojen sentezini ve osteoblastların çoğalmasını arttırmalarıdır. 1, 25 - dihidroksi vitamin D3, seks steroidleri, PTH; TGF-B üretimini indüklerler. Kemik morfogenez proteinleri (BMP) de TGF-B' ya benzer etkiler göstererek kemik oluşumunu arttırmalarıdır (49).

Osteoblastlardan salgılanan fibroblast büyüme faktörleri (FGF) kıkırdak ve kemik gelişimini kontrol ederler. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve FGF kemik oluşumunda vaskülarizasyonda görev alırlar (49). Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF), osteoklast oluşumunu azaltıp, osteoblastların replikasyonunu arttırarak kemik metabolizmasını etkilerler (50).

İnflamatuar kemik hastalıklarında kemik yıkımından IL-1, IL-6, IL-12 ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- alfa) gibi sitokinler sorumludur. TNF- alfa hücre apoptozisinde de görev yapar. Osteoblast apoptozisini arttırıp, kas gücünü azaltarak kemik oluşumu üzerine negatif etki yaparlar. Prostaglandinler (PG), hareket kısıtlılığı sonrasında artış gösteren kemik rezorpsiyonunda rol oynarlar. Kemik rezorpsiyonunu arttırıcı etkisi en kuvvetli olan prostaglandin E iken, kollajen sentezini inhibe edici etkiyi prostaglandin F gösterir (51).

2.2.3.5. Kemik yapım ve yıkımında RANKL/RANK/OPG/IL-33'ün fonksiyonları

Kemik dokusu, osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu ve osteoblastlar tarafından kemik oluşumu yoluyla sürekli olarak yeniden şekillendirilir, böylece kemik miktarında dinamik bir denge sağlanır. Bu yeniden yapılanma sürecinde kemik yapım ve yıkımında görev alan hücreler arasındaki bağlantıyı sağlayan sinyal yolları ve protein mediyatörleri önemlidir. Bu süreçteki mekanizmanın çözülmesi çeşitli kemik hastalıklarının tedavisinde kullanılacak ajanların belirlenmesi içinde kritik bir değer taşımaktadır (52).

Nükleer faktör kappa B (RANK), RANK ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) sistemi reseptör aktivatörünün (RANK / RANKL / OPG sistemi) keşfi, son on yılda kemik biyolojisindeki en önemli gelişmelerden biri olmuştur (53).

2.2.3.5.A. RANKL

RANKL 317 aminoasitten oluşan, TNF ligand ailesinin üyesi olan bir peptiddir. Normal yeniden yapılanma sürecinde veya patolojik koşullara bağlı gelişen kemik yıkımlarının anahtar mediyatörüdür. Osteoblastlarda ve daha çok akciğer, timus ve lenf nodları olmak üzere kemik iliği ve dalak gibi dokularda sentezlenir. Hormonlar(1,25-dihidroksi vitamin D3 gibi), sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-11 ve TNF α gibi), büyüme faktörleri ve peptidler (TGF- β 1, fibroblast büyüme faktörü-2 ve PTH ilişkili protein gibi), glukokortikoidler gibi birçok faktör RANKL sentezinin düzenlenmesinde görev alır (54,55) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Sitokin ve hormonların RANKL ve OPG sekresyonu üzerine etkileri

	RANKL	OPG
Transforme edici büyüme faktörü- β	-	\uparrow
Paratiroid hormon	\uparrow	\downarrow
1,25(OH) $_2$ vitamin D $_3$	\uparrow	-
Glukokortikoid	\uparrow	\downarrow
Östrojen	-	\uparrow
Fibroblast büyüme faktörü 2	\uparrow	\downarrow
Prostaglandin E $_2$	\downarrow	\uparrow

RANKL; öncül ve olgun osteoklastlar, uyarılmış T ve dendritik hücrelerin üzerinde bulunan kendine özgü reseptörü RANK'a bağlanarak bu hücreleri uyarır. Bu uyarı sistemiyle osteoklastların sentezi, aktif hale gelmesi ve devamlılıklarını sürdürmeleri sağlanır. RANKL kemik metabolizması üzerindeki temel görevi osteoklast sentezlenmesini sağlamak, apoptozunu ise inhibe etmektir (54).

RANKL kemik metabolizması üzerindeki etkilerinin yanında immun sistem üzerinde de bazı etkilere sahiptir. Malign tümör hücrelerinin RANKL ile birlikte RANK da sentezlediğinin farkedilmesiyle RANKL ın tümör hücre proliferasyonunun tetiklenmesinden sorumlu olabilecekleri düşünülmüştür. RANKL miktarındaki artışa

bağlı kemik yıkımının da artmasıyla ortaya çıkan büyüme faktörleri tümör hücrelerinin bölünme hızının ve yaşam sürelerinin artmasına neden olur. Bunların yanında RANKL'in kemik metastazı yapan kanser hücrelerinin damarlanmasında uyarıcı faktör olduğu düşünülmektedir (56).

2.2.3.5.B. RANK

RANK 616 aminoasitten meydana gelen transmembran proteindir. RANKL'in osteoklast öncül hücrelerine bağlanmasında görev alan tek reseptördür. RANK reseptörü T ve B lenfositleri, dendritik hücreler, fibroblastlar ve osteoklastların yüzeylerine yerleşmişlerdir (55).

RANKL'in RANK reseptörüyle birleşebilmesi için hücre içinde minimum yedi tane sinyal yolağı indüklenir. Bunlardan dört tanesi (NF- κ B inhibitörü/NF- κ B, c-jun aminoterminal kinaz/aktivatör protein-1, c-myc ve kalsinörin/uyarılmış T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) c1) direk osteoklast sentezinde görev alırken geri kalan üç tanesi ise osteoklastların aktivasyonuna (src ve MKK6/p38/MITF) ve devamlılığında (src ve hücre dışı sinyal-düzenleyici kinaz) görev alırlar (52).

RANKL, RANK ile birleştikten sonra meydana gelen ilk sinyal tümör nekroz reseptör faktör (TNFR) ile ilişkili faktör (TRAF) lerin RANK'ın sitoplazmasında bulunan kendine özel kısma bağlanmasıdır (57,58). RANK'a bağlanan TRAF2, TRAF5 ve TRAF6 dan sadece TRAF6 nın osteoklastlar üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (59). TRAF'ların aracılığıyla gerçekleşen sinyal iletiminde birçok adaptor molekül görev yapar, bunlardan Grb-2 ilişkili bağlayıcı protein-2 RANKL ile uyarılan osteoklast sentezinde en önemli olanıdır (60). Sinyal mekanizması tamamlandığında RANKL/RANK kompleksi hücre içine alınarak lizozomlarda yıkılır (54).

2.2.3.5.C. Osteoprotegerin

Osteoprotegerin (OPG) tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) ailesinin bir üyesi olup TNFR süper ailesinin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez. Osteoblastların yanı sıra kemik iliği, beyin, kalp,

karaciğer, böbrek ve dalak gibi organlardan da salgılanır (53). OPG, RANK/RANKL kompleksine ters etki yaparak öncül hücrelerden osteoklast sentezini inhibe eder, hipokalsemik ve antiresorptif etki gösterirler. Bu etkilerini RANKL'a bağlanıp tuzak reseptör gibi davranarak RANKL'ın RANK' a bağlanmasına engel olarak gerçekleştirirler (61).

Transforme edici büyüme faktörü (TGF)- α , TGF- β , IL-1 α , IL-18, kemik morfojenetik proteinleri OPG sentezini arttırırken, glukokortikoidler, osteoporoz ve vasküler hastalık oluşturma eğilimi olan siklosporin A, paratiroid hormon (PTH), prostaglandin E2 ve fibroblast büyüme faktörü-2 ise OPG sentezini inhibe ederler (Tablo 2.2).

2.2.3.5.D. İnterlökin-33

İnterlökin (IL)-33, bünyesinde IL-1a, IL-1b ve IL-18'ide içeren IL-1 ailesinin bir üyesidir. IL-33, çeşitli dokularda, özellikle endotel hücrelerde ve epitel hücrelerinde, gastrointestinal kanalda ve dış ortamla bariyer olarak işlev gören üst solunum yollarında bulunmaktadır (62).

IL-33 hücre hasar, mekanik hasar veya nekroz gibi durumlardan sonra ekstraselüler ortama salınır. IL-33 etkilerini, membrana bağlı ST2 ve IL-1RAcP'den oluşan bir heterodimerik reseptör üzerinden gerçekleştirir (63).

IL-33; T hücreleri, bazofiller, mast hücreleri, eozinofiller, dendritik hücreleri tetikler ve TNF-alfa, IL-1b, IL-6 ve IFN-gama gibi proinflamatuvar mediatörlerin üretimine neden olurlar. TNF-alfa, IL-1b, IL-6 gibi sitokinler osteoklast üretimini tetikleyen sitokinlerdir (64). IL-33 ün de dâhil olduğu IL-1 ailesi osteoklastlar ve kemik rezorpsiyonunu düzenleyen sitokinlerin en önemlisidir.

IL-33 üzerine yapılan ilk çalışmalar sonucunda crohn hastalığı olan hastaların bağırsaklarında, enflamasyonlu bademciklerdeki kan damarlarında ve romatoid artritli hastaların sinoviyumundan salındığı ve bu salınımın inflamatuvar durumun şiddeti ile ilişkili olduğu görülmüştür. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ise nekroz geçirmiş osteoblast, osteosit, kemik iliği yağ hücrelerinden sekresyonunun gerçekleştiği ortaya

konulmuştur. IL-33, osteonekrotik kemiklerden salındıktan sonra hem doğrudan hem de dolaylı olarak kemik yeniden şekillenmesini etkileyerek bir rol oynayabilir (65).

2.3. Kortikosteroidlerin Kemik Dokusu Üzerine Etkileri

2.3.1. Osteoporoz

Osteoporoz kemik kütlesinde azalma, kemik dokusunun yapısında bozulma buna bağlı olarak kırık oluşum riskinin artmasıyla karakterize olan bir kemik hastalığıdır. Primer ve sekonder olmak üzere sınıflandırılır. Primer osteoporozda hastalığa neden olabilecek altta yatan herhangi bir neden yoktur, sekonder osteoporoz ise birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkabilir. Bu faktörler arasında endokrin nedenler, gastrointestinal nedenler, bağ dokusu hastalıkları, beslenme bozuklukları, malign hastalıklar, immobilizasyon, alkolizm ve bazı ilaçlar yer almaktadır. İlaç kullanımı sonucunda meydana gelen osteoporozun en sık nedeni ise kortikosteroidlerdir. Kortikosteroide bağlı gelişen osteoporoz tüm osteoporoz vakalarının beşte birini oluştururlar (66).

Kortikosteroid mazuriyeti kemik metabolizmasında osteoblast ve osteoklast arasındaki hassas dengeyi değiştirir (67). İnsan osteoblast ve osteoklastlarının üzerinde steroid reseptörleri bulunmuştur (68). Spesifik olarak, steroidlerin kemik metabolizması üzerindeki iki ana etkileri bulunmaktadır, bunlardan birincisi osteoblastlarda ve osteositlerde apoptosisi teşvik etmek ve böylece kemik oluşumunu azaltmakken; ikincisi ise osteoklastların ömrünü uzatmak ve kemik erimesini arttırmaktır (69). Steroidler, yaşam süreleri boyunca osteoblastları etkiler ve osteoblastlara kök hücre farklılaşmasını düzenlerler. Kök hücrelerin adipositlere çoğalmasını sağlar ve böylece osteoblast sayısını azaltırlar. Osteoblastlardan IGF-1 büyüme faktörünün salınımını azaltarak proliferasyonu ve anabolik aktiviteyi azaltırlar bunun sonucunda osteoid matrisin salgılanması ve yeni kemik oluşumu azalır. Kortikosteroidler osteoklastogenezisi tetikleyen RANKL ve CSF-1 salınımını artırıp, OPG salınımını azaltarak kemik yıkımına katkıda bulunurlar. Bu mekanizmaya ek olarak gastrointestinal sistemden kalsiyum geri emilimini azaltıp, idrarla kalsiyum atılımını

arttırdığından PTH salgılanmasını sağlarlar. Böylece kemikten mineral kaybına neden olurlar (42).

2.3.2. Osteonekroz

Osteonekroz (ON), osteositlerin ve kemik iliğinin ölümü ile karakterize olan bir klinik hastalıktır. Osteonekrozu takiben nekrotik dokular rezorbe olur ve yerine yeni ancak daha zayıf kemik oluşumu gerçekleşir böylece kemik yapısı bozulur ve ilerleyen dönemlerde subkondral kırık meydana gelme olasılığı yükselir. Bu hastalığın çoğunlukla femur başında meydana geldiği ve sebebinin de o bölgedeki kan dolaşımının bozulmasına bağlı olduğu ortaya konmuştur (70).

Avasküler nekroz (AVN), iskemik nekroz, subkondral AVN, kemiğin aseptik nekrozu gibi terimlerde osteonekroz yerine kullanılabilir. AVN ya da iskemik nekroz, vasküler etiyolojilerini tanımlamak için kullanılırken, aseptik nekroz, enfeksiyonun osteonekroz oluşumunda ve gelişmesinde önemli bir rol oynamadığını belirtmek için kullanılır (70).

Osteonekroz; herhangi bir etyolojik faktöre bağlı olmadan gelişen idiopatik (primer) osteonekroz, travmatik ve travmatik olmayan osteonekroz dahil olmak üzere etiyolojinin açıkça tanımlanabilir olduğu sekonder osteonekroz olmak üzere iki tip olarak sınıflandırılır (70). Sekonder osteonekroz çeşitli etyolojik faktörlerin farklı mekanizmaları etkilemesiyle meydana gelebilir. (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Osteonekroz etiyolojisi ve ilgili mekanizmalar

Hastalık	Mekanizma
Kortikosteroidler	Emboli, kemik iliği basınç artışı, damar duvar hasarı
Alkol	Emboli, kemik iliği basınç artışı, damar duvar hasarı
Travma	Mekanik hasar
Hiperlipidemi	Emboli, kemik iliği basınç artışı
Vaskülitler	Damar duvar hasarı
Pıhtılaşma bozuklukları	Emboli
SLE, Romatoid artrit	Damar duvar hasarı
Kronik böbrek hastalığı	Kemik iliği basınç artışı
Dekompresyon hastalığı	Emboli, kemik iliği basınç artışı
Orak hücreli anemi	Emboli
Hemodiyaliz	Damar duvar hasarı
Radyasyon	Damar duvar hasarı
Gelişimsel kalça displazisi	Mekanik hasar

Osteonekrozun en yaygın nedeni travmadır ve kan dolaşımının doğrudan bozulmasına neden olur. Kortikosteroid kullanımı ve alkolizm ise avasküler nekrozun travmatik olmayan nedenlerinin %90'ını oluşturur (71).

2.3.2.1. Steroide bağlı osteonekroz

Steroidler, travmadan sonra osteonekroz etyolojisinde ikinci sırada yer almaktadır. Steroide bağlı osteonekroz gelişimi sadece bir mekanizmaya bağlı değil, birden çok mekanizmaya ve bu mekanizmaların bu süreçte birbirini etkilemesi sonucu meydana gelir. Bunlar kemik iliği kök hücre havuzundaki anormallikler, hiperlipidemi, yağ embolisi, damar içi pıhtılaşma, vasküler endotelial disfonksiyon ve kemik dokularının apoptozisi gibi anormallikleri içeren farklı mekanizmalardır. Bütün bu etkileşimler sonucunda kemik iliği iskemisi gelişir ve buna bağlı olarak osteonekroz meydana gelir (72).

Steroide bağlı osteonekrozun erken safhalarındaki yetersiz onarımın sebebi kemik iliğindeki kök hücrelerin aktivitelerinin azalması ve kemik hücresi dışında hücrelere farklılaşmasının artışı olarak ortaya konmaktadır.

Steroidler adiposit transkripsiyon gen faktörlerini arttırarak kemik iliğinde kök hücrelerin adipositlere farklılaşmasını sağlarken, osteoblast transkripsiyon gen faktörlerini azaltarak kök hücrelerin osteojenik hücrelere farklılaşmasını azaltır. Böylece kemik iliğinde büyük yağ hücrelerinin oluşmasını ve lipid birikiminin artmasına neden olurlar(73).

Medullar kavite içerisindeki trabeküler kemik, kemik iliği hücreleri ve yağı çevreleyen kortikal bir tabaka vardır. Bütün bu yapılar kapalı bir kompartman içinde bulunduğundan yapılardan herhangi birinin artışı kemik içindeki basıncın artmasına neden olmaktadır. Steroide bağlı kemik iliğinde yağ hücrelerinin ve kemik içinde lipid miktarının artışında basıncı arttırarak medullar kavitede perfüzyonun bozulmasına sebep

olur. Damar trombozu ve venöz boşalımdaki azalma sonucu arteriyel dolaşım azalır ve osteonekroz gelişir (73).

Steroide bağlı osteonekroz gelişiminin erken safhasında, nekrotik dokunun rezorpsiyonundan sonra yerine yeni ve zayıf kemiğin oluşma aşamasında anjiogeneziste tam olarak gerçekleşmez. Çünkü steroidin dozuna ve kullanım süresine bağlı olarak vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) salınımı azalır. VEGF endotelial hücreler üzerinde önemli rol oynar ve kemik iyileşmesi boyunca yeni damar oluşumunu sağlar. Steroide bağlı VEGF ve kollajen sentezinin azalması ile kapiller büyüme durur aynı zamanda damar düz kaslarına Ca^{2+} alınımının artması, endotelial nitrik oksit sentaz salınımının azalması ile güçlü damar kasılması gerçekleşir. Böylece dokuda iskemi buna bağlı olarak osteonekroz gelişir (74).

Kortikosteroidler kullanım süresi ve doza bağlı olarak damar içi pıhtılaşma mekanizmasını etkileyebilirler. Doku plazminojen aktivatör aktivitesini (t-PA) azaltıp, plazma plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) antijen seviyesini artırarak fibrinolitik aktiviteyi inhibe ederler. Kortikosteroidler osteoblast, osteosit ve endotel hücrelerinde apoptoza neden olabilirler. Apoptoza uğrayan endotel hücreleri trombositlerin endotel hücrelerine yapışmasını tetikleyerek trombosit aktivasyonunu ve tromboz oluşumunu sağlar. Bütün bu mekanizmalar damar içi pıhtılaşmaya neden olarak iskemiye ve osteonekroza neden olurlar (75).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 51 protokol numaralı 10.01.2018 tarihli onayı ile "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" kuralları çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen, ortalama 6 aylık Wistar Albino cinsi 48 erkek sıçan kullanıldı. Deneklerin tamamı Gaziantep Üniversitesi hayvan deneyleri merkezinden temin edilip, çalışmanın her aşaması Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarın da gerçekleştirildi.

Denekler çalışma süresi boyunca, ortalama (SD) 24 (2) C⁰ sıcaklıkta, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda bekletildi. Her kafeste 12 denek olacak şekilde uygun kafeslere yerleştirilerek standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

3.2. Çalışma Grupları

Denekler, her bir grupta 12 deney hayvanı olacak şekilde biri kontrol üçü deney grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Gruplardaki hayvanların yarısı 1. haftada, diğer yarısı ise 4. haftanın sonunda sakrifiye edilerek örnekler toplandı.

1. Gruptaki hayvanlara kontrol amaçlı tek doz intra-musküler % 0.9 luk 1ml fizyolojik salin enjekte edildi.
2. Gruptaki hayvanlara tek doz 2 mg/kg metilprednizolon intra-musküler olarak enjekte edildi.
3. Gruptaki hayvanlara tek doz 4 mg/kg metilprednizolon intra-musküler olarak enjekte edildi.

4. Gruptaki hayvanlara tek doz 20 mg/kg metilprednizolon intra-musküler olarak enjekte edildi.

3.3. Biyokimyasal Çalışma

3.3.1. Kan örneklerinin toplanması

Örneklerin toplanması sırasında ki tüm işlemler 10 mg/kg Ksilazin HCL (Rompun, Bayer, Almanya) ve 100 mg/kg Ketamin-HCL (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile sağlanan dissosiyatif anestezi altında, deney hayvanları ile çalışma sertifikası olan aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi.

Kan örnekleri çalışma prosedürüne uygun olacak şekilde 1. ve 4. hafta sonunda alındı. Anestezinin derinleşmesinden sonra çalışma masasının üzerine sırt üstü yatırılan sıçanlar ön ve arka ayakları açık olacak şekilde sabitlenip üzerleri steril örtü ile örtüldü. Daha sonra hayvanın toraksı orta hattan dikey insizyonla açılarak kalbe ulaşıldı ve intrakardiyak olarak deneklerin yaşamına son verecek miktarda kan alındı. Alınan kan örnekleri, üzerinde grup ve denek numarası yazılı, içerisinde heparin bulunan tüplere yerleştirildi.

3.3.2. Biyokimyasal inceleme

Deneklerden intrakardiyak olarak alınan kan heparinli tüpler içerisine konduktan sonra, 4500 rpm devirde 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kan örneklerinden elde edilen serum kısım tüplerden ependorflara alınıp biyokimyasal incelemeler gerçekleşinceye kadar herhangi bir bozulma olmaması için -80 derecede saklandı ve incelemelere başlamadan önce örneklerin oda sıcaklığına ulaşması beklendi. Biyokimyasal parametrelerden Reseptör Aktivatör Nükleer Faktör Kappa-B Ligand (RANKL), Osteoprogenin (OPG), İnterlökin 33 (IL-33) ELISA yöntemiyle incelendi. Kemik yapım-yıkım döngüsünün hangi tarafa bozulduğunu belirlemek için RANKL, OPG oranı değerlendirildi. Ayrıca deneklerin serum örneklerinden LDL, HDL, trigliserit ve total kolesterol gibi lipid metabolizmasını gösteren markerlar da çalışıldı (Beckman

Coulter au5800, ABD). Kemik iliği dokusu gibi periferik dokulara lipit taşınmasını yansıttığı düşünüldüğünden LDL ve HDL kolesterolün birbirine olan oranı değerlendirildi.

3.3.2.1. Osteoprogenin (OPG)

Tüm serum örneklerinin OPG düzeyleri sıçana özel OPG ELISA kiti (Elabscience, Çin) kullanılarak ölçüldü. Bu kit OPG serum düzeylerini ölçmek için sandviç ELISA tekniğini kullanmaktadır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, sıçan OPG 'sine özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Örnekler mikro ELISA plaka kuyucuklarına eklenerek, spesifik antikor ile birleştirildi. İnkübasyon yapıp, biyotin ile etiketlenmiş OPG antikorları ve immunkompleks oluşturmak için Avidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) eklendi. Tekrar inkübasyon yapıp bağlanmamış materyalleri uzaklaştırmak için yıkama yapıldı. Substrat solüsyonu eklenerek mavi rengin ortaya çıktığı görüldü. Daha sonra enzim-substrat reaksiyonunu durdurucu solüsyon eklendi ve son rengin sarıya dönüştüğü görüldü. Renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ELISA okuyucu ile 450 nm' de okundu (Biotek ELX800, ABD).

3.3.2.2. Reseptör aktivatör nükleer faktör Kappa-B Ligand (RANKL)–interlökin 33 (IL-33)

Tüm örneklerin RANKL ve IL-33 düzeylerinin belirlenmesi için her bir markere spesifik sıçan ELISA kiti (SunRed, Çin) kullanıldı. Değerler RANKL ve IL-33 monoklonal antikor ile önceden kaplanmış mikropalaklar kullanılarak, ikili antikor sandviç ELISA tekniğiyle ölçüldü. İnkübasyon yapıp, biyotin ile etiketlenmiş RANKL ve IL-33 antikorları ve immunkompleks oluşturmak için Streptavidin-HRP eklendi. Yeniden inkübasyon yapıldıktan sonra yıkama yapılarak bağlanmamış materyaller uzaklaştırıldı. Ardından kromojen A ve B çözeltisi eklendi ve mavi renkli sıvının oluştuğu görüldü. Reaksiyonu durdurmak için asit eklendiğinde ise rengin sarıya dönüştüğü gözlemlendi. Renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ELISA okuyucu ile değerlendirildi.

3.4. Histopatolojik Çalışma

3.4.1. Doku örneklerinin alınması

Biyokimyasal çalışma için kan örnekleri alındıktan sonra femur başı ve mandibular kondilden biyopsi örnekleri alındı. Femur başına ulaşabilmek için trokanter majorün hemen üzerinden sağ kalça eklemi hissedilerek kalem ile işaretlendi ve yatay olarak 2 cm femur başına doğru ilerletildi. Bu noktadan insizyonla, cilt, cilt altı dokular, fasya geçilerek lateral vastus lifleri arasından femur başına ulaşıldı ve femur başının 1cm altından olacak şekilde eksize edildi. Mandibular kondile ise ağız içinden yapılan insizyonla ulaşılarak sağ kondil başı eksize edildi. Çıkarılan kondil ve femur başları içerisinde %10'luk formalin solüsyonu bulunan üzerinde grup ve denek sayısını belirten numaraların bulunduğu kutulara yerleştirildi.

Örnekler %10 formalin solüsyonu içerisinde 1 hafta bekledikten sonra dekalsifikasyon işlemi için % 20 lik formik asit solüsyonuna konularak 5 gün bekletildi. Dekalsifikasyon işleminden sonra femur başı ve temporamandibular eklem başı örnekleri proksimal 1/3 lük kısımdan kesildi. Kesilen parçalar ikiye bölünerek örneklendi ve LEİCA ASP 300 (Leica Biosystems, USA) cihazında 15 saatlik doku takip işlemine tabi tutuldu. Daha sonra örnekler parafine gömüldü ve LEİCA RM 2245 (Leica Biosystems, USA) mikroton cihazında 5 mikrometre kalınlığında koronal kesitler alındı. Kesilen örnekler polizimli lamlara alındı ve LEİCA AUTO STAINER XL (Leica Biosystems, USA) otomatik doku boyama cihazında hematoksilin eosin boyama işleminden sonra histopatolojik inceleme için hazır hale getirildi.

3.5. İstatistiksel Yöntem:

Analizler SPSS 22 Windows versiyonu kullanılarak yapılmıştır. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shaphiro Wilk's testi ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılım gösterdiği durumda gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA), fark saptanması durumunda Post-Hoc olarak LSD testi; normal dağılım göstermediği durumlarda ise Kruskal-Wallis Testi, Post-Hoc olarak da

All Pairwise testi kullanıldı. Yine verilerin normal dağılım gösterdiği ikili grup karşılaştırmalarda Student t-Testi, dağılımın normal olmadığı durumlarda ise Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Yapılan power analizi sonucu her bir grup için gerekli olan minimum denek sayısı 5 olarak belirlenmiştir ($\alpha=0,05$, $1-\beta=0,80$). Çalışmaya 48 denek dâhil edilmiş ancak 2mg/kg ve 20 mg/kg 4. hafta gruplarındaki 2 hayvan çalışma sırasında öldüğünden, veriler 46 denek üzerinden değerlendirilmiştir.

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Kemik metabolizması ile ilgili bulgular

4.1.1.1. OPG

Birinci hafta sonunda, OPG değerinin kontrol grubunda ortalama (SD) 329,45 (103,92), 2 mg/kg doz grubunda 140,82 (79,15), 4 mg/kg doz grubunda 96,82 (123,99), 20 mg/kg doz grubunda ise 49,65 (16,50) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ($p=0,005$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda kontrol grubuyla 4 mg/kg ($p=0,004$) ve 20 mg/kg doz grupları ($p=0,001$) arasında önemli bir fark olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Dördüncü hafta sonunda OPG değerinin kontrol grubunda ortalama (SD) 446,72 (255,03), 2 mg/kg doz grubunda 205,79 (146,61), 4 mg/kg doz grubunda 173,84 (90,01), 20 mg/kg doz grubunda ise 97,02 (35,63) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ($p=0,01$). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun OPG değerlerinin, 20 mg/kg doz grubu ($p=0,002$), 4 mg/kg doz grubu ($p=0,008$) ve 2 mg/kg doz grubundan ($p=0,022$) anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 4.1).

1. ve 4. hafta OPG değerleri karşılaştırıldığında, kontrol, 2 mg/kg ve 4 mg/kg doz gruplarında önemli bir fark olmadığı ($p>0,05$), 20 mg/kg grubunun 4. hafta OPG

değerlerinin ise 1. haftaya nazaran önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (p=0,017), (Tablo 4.1).

4.1.1.2. RANKL

Birinci hafta sonunda kontrol grubunda RANKL değerinin ortalama (SD) 18,35 (5,64), 2 mg/kg doz grubunda 20,83 (8,28), 4 mg/kg doz grubunda 31,13 (9,67), 20 mg/kg doz grubunda ise 32,68 (7,18) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir (p=0.009). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun RANKL değerlerinin 4 mg/kg doz grubu (p=0,010) ve 20 mg/kg doz grubundan (p=0,005) anlamlı derecede düşük olduğu, 2 mg/kg doz grubunun RANKL değerlerinin 4 mg/kg doz grubu (p=0,034) ve 20 mg/kg doz grubundan (p=0,016) anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Dördüncü hafta da RANKL değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark bulunamamıştır (p>0,05), (Tablo 4.1).

Tüm gruplarda 4. hafta RANKL değerleri 1. hafta değerlerine göre yükseliş gösterirken, bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05), (Tablo 4.1).

4.1.1.3. RANKL/OPG

Birinci hafta sonunda kontrol grubunda RANKL/OPG değerinin ortalama (SD) 0,06 (0,03), 2 mg/kg doz grubunda 0,27 (0,29), 4 mg/kg doz grubunda 0,68 (0,53), 20 mg/kg doz grubunda 0,72 (0,26) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir (p=0.006). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun RANKL/OPG değerlerinin, 4 mg/kg doz grubu (p=0,004) ve 20 mg/kg doz grubundan (p=0,003) anlamlı derecede düşük olduğu, ayrıca 2 mg/kg doz grubunun RANKL/OPG değerlerinin 4 mg/kg doz grubu (p=0,044) ve 20 mg/kg doz grubundan (p=0,027) anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Dördüncü hafta sonunda, kontrol grubunda RANKL/OPG değerinin ortalama (SD) 0,09 (0,10), 2 mg/kg doz grubunda 0,24 (0,21), 4 mg/kg doz grubunda 0,22 (0,10), 20 mg/kg

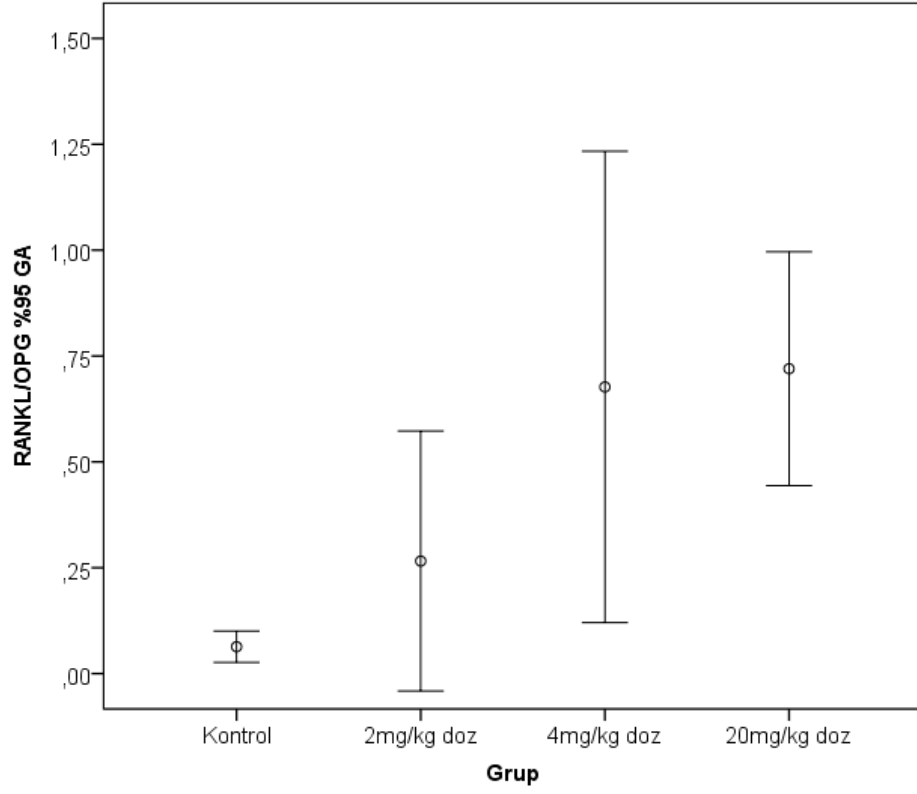
doz grubunda 0,43 (0,12) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir (p=0.013). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun RANKL/OPG değerlerinin 20 mg/kg doz grubundan anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur (p=0,001), (Tablo 4.1, Şekil 4.2).

1. ve 4. hafta RANKL/OPG değerleri arasında ise önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05), (Tablo 4.1).

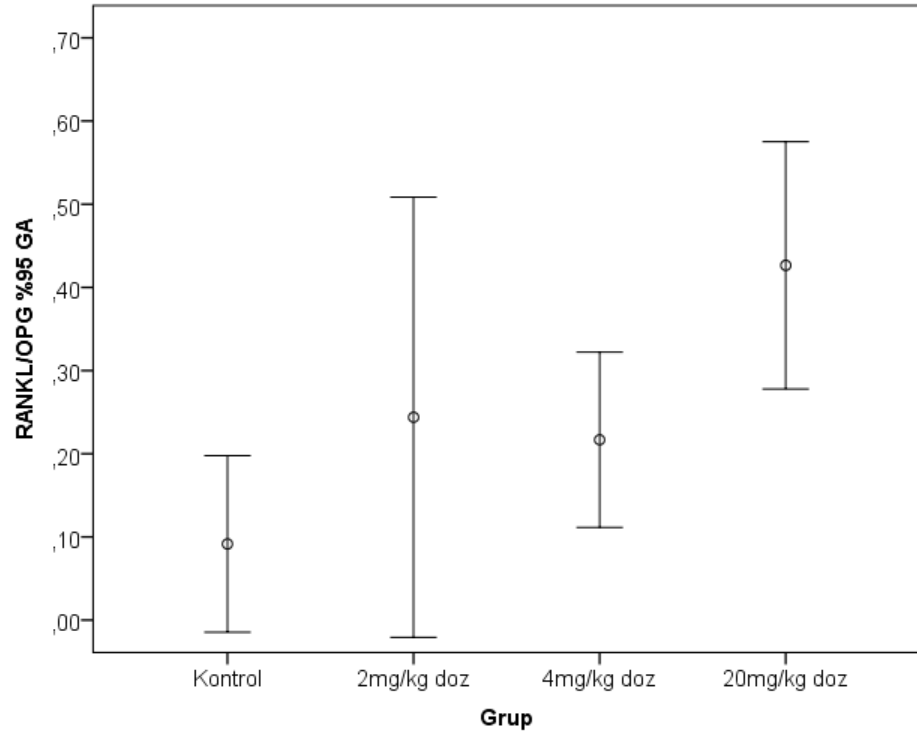
Tablo 4.1. 1. ve 4. haftalarda kemik metabolizması ile ilgili veriler ve analiz sonuçları

		Kontrol Ortalama(SD)	2 mg/kg Ortalama(SD)	4 mg/kg Ortalama(SD)	20 mg/kg Ortalama(SD)	p
OPG	1.Hafta	329,45(103,92)	140,82(79,15)	96,82(123,99)	49,65(16,50)	0,005 ^b
	4.Hafta	446,72(255,03)	205,79(146,61)	173,84(90,01)	97,02(35,63)	0,010 ^a
	p	>0,05	>0,05	>0,05	0,017	
RANKL	1.Hafta	18,35(5,64)	20,83(8,28)	31,13(9,67)	32,68(7,18)	0,009 ^a
	4.Hafta	23,51(10,54)	28,20(7,71)	30,90(6,66)	38,27(6,49)	>0,05 ^a
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
RANKL / OPG	1.Hafta	0,06(0,03)	0,27(0,29)	0,68(0,53)	0,72(0,26)	0,006 ^a
	4.Hafta	0,09(0,10)	0,24(0,21)	0,22(0,10)	0,43(0,12)	0,013 ^b
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
IL-33	1.Hafta	5,47(2,62)	8,02(2,83)	8,03(3,29)	10,87(2,32)	0,028 ^a
	4.Hafta	8,40(2,10)	10,86(3,16)	11,84(2,71)	11,84(1,60)	>0,05 ^b
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

^a ANOVA, ^b Kruskal Wallis Test



Şekil 4.1. 1. hafta RANKL/OPG düzeyleri



Şekil 4.2. 4. hafta RANKL/OPG düzeyleri

4.1.1.4. IL-33

Birinci hafta sonunda kontrol grubunda IL-33 değerinin ortalama (SD) 5,47 (2,62), 2 mg/kg doz grubunda 8,02 (2,83), 4 mg/kg doz grubunda 8,03 (3,29), 20 mg/kg doz grubunda 10,87 (2,32) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ($p=0.028$). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda kontrol grubunun IL-33 değerlerinin 20 mg/kg doz grubunun IL-33 değerlerinden anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır (LSD, $p=0,003$), (Tablo 4.1).

Dördüncü hafta sonunda IL-33 değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$), (Tablo 4.1).

Grupların 1. ve 4. hafta IL-33 değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$), (Tablo 4.1).

4.1.2. Yağ metabolizması ile ilgili bulgular

4.1.2.1. Total kolesterol, trigliserit, HDL kolesterol

Tablo 2’de görüldüğü gibi, total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol değerleri açısından hem 1. hafta hem de 4. haftada gruplar arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Ayrıca bu parametrelerle ilgili 1. ve 4. hafta değerleri arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.2. 1. ve 4. haftada yağ metabolizması ile ilgili elde edilen veriler ve analiz sonuçları

		Kontrol Ortalama(SD)	2 mg/kg Ortalama(SD)	4 mg/kg Ortalama(SD)	20 mg/kg Ortalama(SD)	P
Total kolesterol	1.Hafta	83,00(7,32)	95,17(22,34)	100,50(14,02)	147,67(101,49)	>0,05 ^b
	4.Hafta	76,83(21,37)	84,60(14,26)	106,83(33,87)	113,60(48,52)	>0,05 ^a
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
Trigliserit	1.Hafta	98,83(22,93)	100,50(40,63)	104,00(17,38)	219,83(228,02)	>0,05 ^b
	4.Hafta	91,00(68,08)	123,60(30,88)	136,17(71,42)	191,40(145,72)	>0,05 ^b
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
HDL kolesterol	1.Hafta	53,67(6,86)	54,00(7,95)	74,50(27,79)	51,83(6,18)	>0,05 ^a
	4.Hafta	60,33(15,58)	63,00(23,48)	51,83(7,47)	46,40(13,50)	>0,05 ^b
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
LDL kolesterol	1.Hafta	24,33(3,20)	30,00(9,94)	36,33(12,52)	51,00(19,79)	0,009 ^b
	4.Hafta	29,33(5,61)	29,40(12,70)	36,33(15,65)	44,40(19,54)	>0,05 ^a
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
LDL/HDL kolesterol	1.Hafta	0,46(0,06)	0,55(0,10)	0,53(0,19)	0,97(0,25)	0,001 ^a
	4.Hafta	0,50(0,14)	0,48(0,21)	0,69(0,22)	0,89(0,29)	0,041 ^b
	p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

^a ANOVA, ^b Kruskal Wallis Test

4.1.2.2. LDL Kolesterol

Birinci hafta sonunda kontrol grubunda LDL kolesterol değerinin ortalama (SD) 24,33 (3,20), 2 mg/kg doz grubunda 30,00 (9,94), 4 mg/kg doz grubunda 36,33 (12,52), 20 mg/kg doz grubunda ise 51,00 (19,79) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir (p=0.009). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda 20 mg/kg doz grubunun LDL kolesterol değerleri kontrol grubunun LDL kolesterol değerlerinden (p=0,001) ve 2 mg/kg doz verilen grubun LDL kolesterol değerlerinden (p=0,033) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 4.2).

Dördüncü hafta sonunda LDL kolesterol değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark bulunamamıştır (p>0,05), (Tablo 4.2).

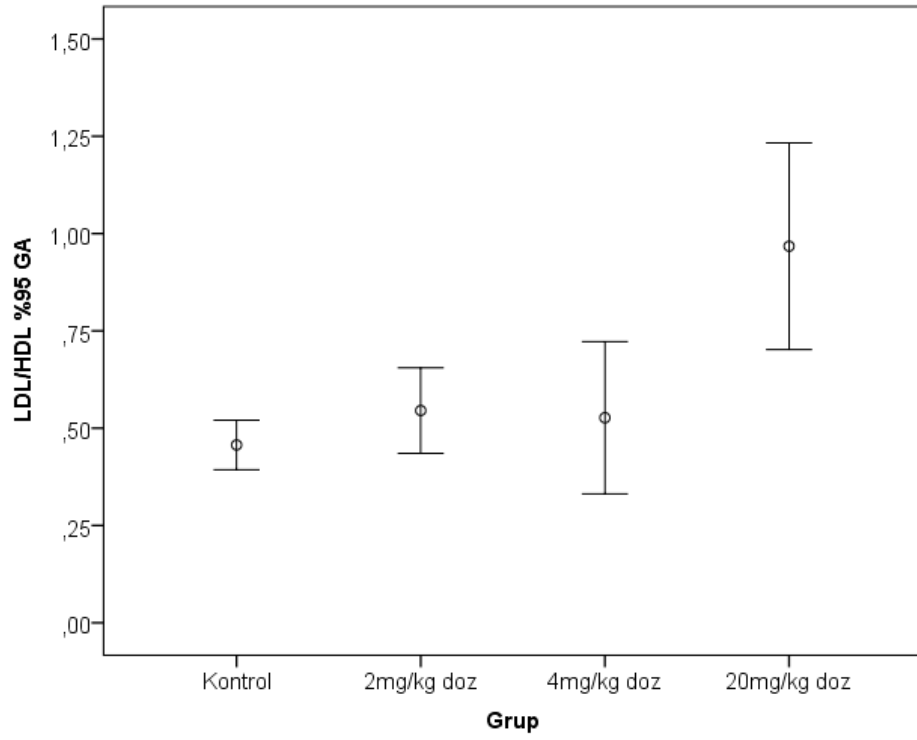
LDL kolesterol ile ilgili 1. ve 4. hafta değerleri arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05) (Tablo 4.2).

4.1.2.3. LDL/HDL

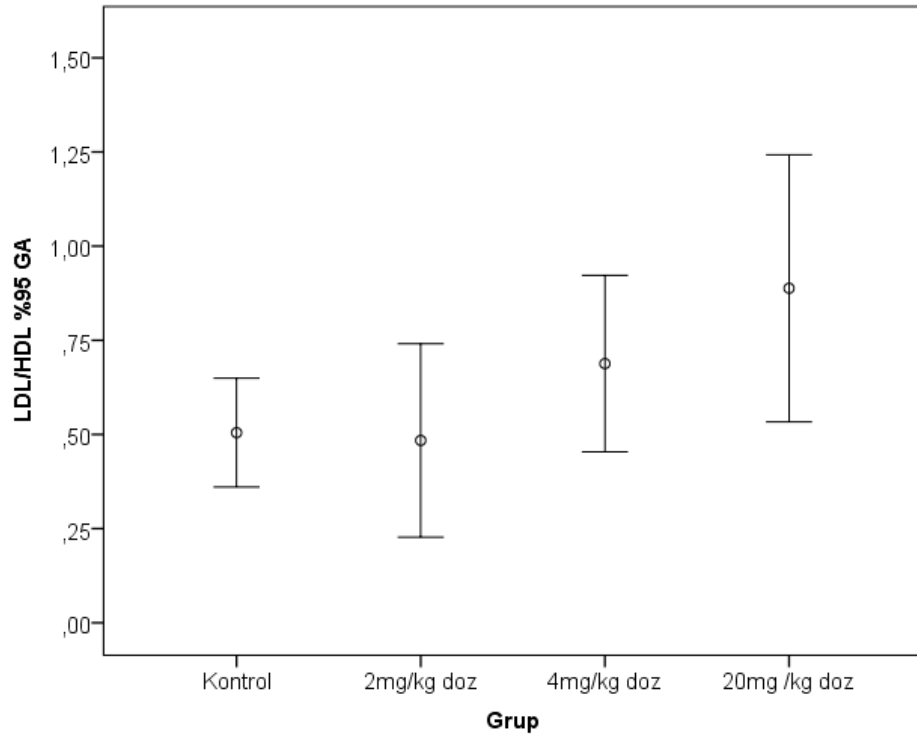
Birinci hafta sonunda kontrol grubunda LDL/HDL değerinin ortalama (SD) 0,46 (0,06), 2 mg/kg doz grubunda 0,55 (0,10), 4 mg/kg doz grubunda 0,53 (0,19), 20 mg/kg doz grubunda ise 0,97 (0,25) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ($p=0.001$). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda 20 mg/kg doz verilen grubun LDL/HDL değerlerinin kontrol grubu ($p=0,001$), 2 mg/kg doz grubu ($p=0,001$) ve 4 mg/kg doz grubunun LDL/HDL değerlerinden ($p=0,001$) anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.3).

Dördüncü hafta sonunda kontrol grubunda LDL/HDL değerinin ortalama (SD) 0,50 (0,14), 2 mg/kg doz grubunda 0,48 (0,21), 4 mg/kg doz grubunda 0,69 (0,22), 20 mg/kg doz grubunda ise 0,89 (0,29) olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ($p=0.041$). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda 20 mg/kg doz grubu LDL/HDL değerlerinin kontrol grubu ($p=0,014$) ve 2 mg/kg doz grubunun LDL/HDL değerlerinden ($p=0,025$) anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.4).

LDL/HDL ile ilgili 1. ve 4. hafta değerleri arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.2).



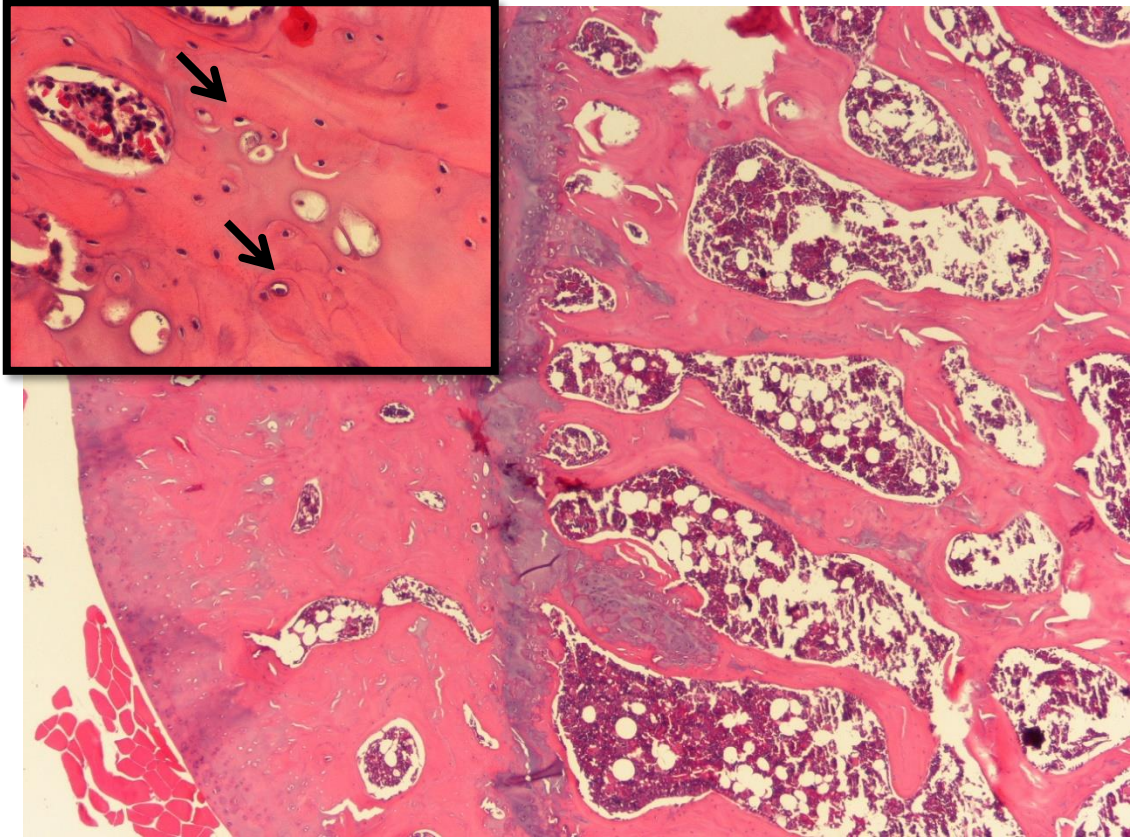
Şekil 4.3. 1.hafta LDL/HDL düzeyleri



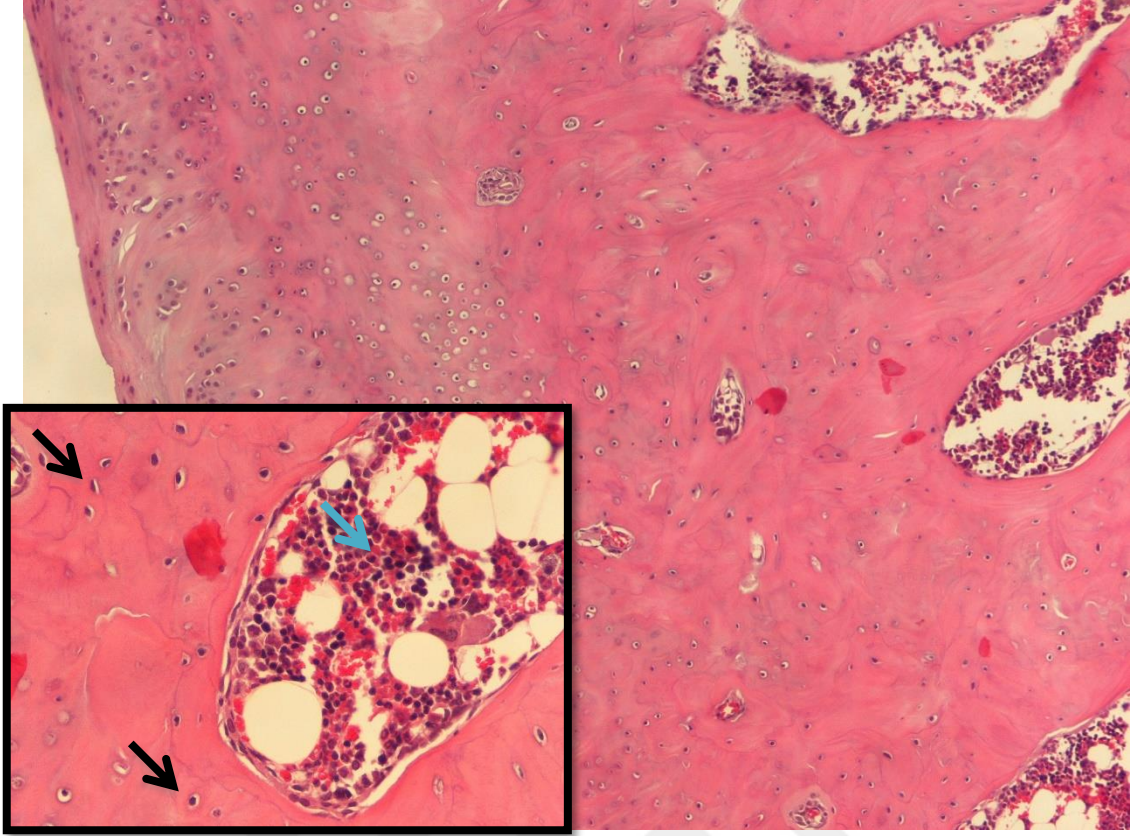
Şekil 4.4. 4. hafta LDL/HDL düzeyleri

4.2. Histopatolojik Bulgular

Birinci hafta ve 4. haftada sakrifiye edilen kontrol ve deney gruplarında deneklerden alınan femur başı ve temporomandibular kondil başından elde edilen kesitler ışık mikroskobu altında incelenmiş ve yapılan inceleme sonucunda kemik dokusunda önemli bir patolojik değişikliğin meydana gelmediği gözlemlendi (Şekil 4.5, Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Femur başına ait nekroz içermeyen, düzenli yapıda kemik doku, H&E x100, kemik içinde osteositleri taşıyan boşluklar (lakünler), H&Ex400



Şekil 4.6. Mandibular kemiğe ait nekroz içermeyen, düzenli yapıda kemik doku, H&E x100, kemik içinde osteositleri taşıyan boşluklar (lakünler) ve kemik iliği hücre mesafesi (mavi ok), H&Ex400

5. TARTIŞMA

Kortikosteroidler, adrenal korteksten doğal olarak salınan steroid hormonlarıdır. Bu hormonların laboratuvarında sentezlenen analogları olan sentetik kortikosteroidler yarım yüzyıldan fazla bir süredir birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle kortikosteroidlerin hangi sistemler üzerine etkili oldukları ve etki mekanizmaları hakkında çok kapsamlı bilgilere elde edilmiş durumdadır. Bununla birlikte bu ilaçların etkilerini daha ziyade karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması üzerinde gösterdikleri ifade edilmektedir. Kortikosteroidler, özellikle hücrelerden karaciğere aminoasit geçişini ve karaciğerde glukoneogenezisi arttırlar. Kaslarda glukoz tüketim hızını düşürerek insülin salgısını tetiklerler. Karaciğer dışında tüm hücrelerde protein depolarını azaltır, yağ asitlerinin depolardan salınımını arttırlar. Kortikosteroidlerin kemik metabolizması üzerine etkisi doza ve uygulama süresine bağlı olarak değişir. Yüksek doz ve uzun süre kullanımda kollajen ve osteokalsin sentezini, osteoblastların replikasyonunu doğrudan etkileyerek kemik oluşumunu inhibe ederler (43).

Kortikosteroidlerin, hidrokortizon (kortizol), prednizon, prednizolon, prednizolon asetat, metilprednizolon, triamsinolon asetonid, deksametazon, betametazon, budesonid, flunisolid gibi sentetik formları bulunmaktadır ve bu ilaçların etkinlik değerleri ve plazma yarılanma ömürleri yönünden birbirine göre farklılıklar gösterdikleri bilinmektedir (76). Szefer ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada metilprednizolonun dokularda ulaştığı maksimum konsantrasyonun ve vücutta kalma süresinin prednizolona oranla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (77). Metilprednizolon kortizolle kıyaslandığında kortizole oranla 4-5 kat daha fazla kortikosteroid etki gösterirken, antienflamatuvar etki bakımından diğer kortikosteroidlerle kıyasla en uzun etkili olanıdır (78). Bu çalışmada da etkinliğinin fazla, etki süresinin uzun olması ve düşük adrenal supresif etki göstermesi nedeniyle metilprednizolon tercih edilmiştir.

Kortikosteroid tedavilerden oldukça olumlu sonuçlar elde edilebilmesine rağmen, uygulanan doz ve uygulama süresine bağlı olarak, büyümenin baskılanması, miyopati, depresyon, enfeksiyon gelişmesine eğilim, yara iyileşmesinde gecikme, diyabet, katarakt, hiperkalsiüri, ayrıca kemik metabolizması üzerine olumsuz etkilerinden dolayı

osteoporoz, spontan kırık ve osteonekroz gibi ciddi komplikasyonların gelişebileceği belirtilmektedir (79). Kortikosteroid tedavisinin kısa dönemde kemik üzerindeki etkisi ilk fazda %10-20 arasında kemik kaybı ile başlar ve bir kaç ay devam eder. Bu durum kemik formasyonunda azalma ve kemik rezorbsiyonunda artmayla ortaya çıkar ve ilk altı aydan sonra kemik kaybı azalarak devam eder (80). Bu konuyla ilgili olarak Lo Cascio ve arkadaşları kortikosteroid tedavisi gören hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, çalışmaya dâhil edilen 23 hastanın 16'sında ilk 6 ayda % 27 trabeküler kemik kaybı olduğunu, devam eden üç ayda ise herhangi bir kayıp olmadığını belirlemişlerdir (81).

Kemik kaybı ile kortikosteroid dozu ile arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda, kemik kaybı için sınır dozun 7,5 mg/gün olduğu belirlenmiş olmakla birlikte daha düşük dozlarda da kemik kayıplarının meydana gelebileceği gösterilmiştir (82–86). Erken dönemde görülen yan etkilerden daha çok yüksek doz kortikosteroid uygulamaları sorumlu tutulurken, geç dönem görülenlerden daha ziyade kümülatif dozlar sorumlu tutulmaktadır. Dolayısıyla uzun süreli tedavilerde dozdan bağımsız kemik yoğunluğunda azalmalar görülebilmektedir (87).

Kortikosteroidlerin kemik üzerindeki en önemli yan etkilerinden biride avasküler nekrozdur. Mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsa da yağ embolilerinin neden olduğu iskemi ve osteosit apoptozu öne sürülen teorilerdir. Osteonekroz riskinin süre ve doz ile orantılı olarak artabileceği ve uzun süreli düşük doz veya kısa süreli yüksek doz steroid tedavilerden sonra görülebileceği ileri sürülmektedir (80). Bu konuyla bağlantılı olarak Massardo ve arkadaşları günlük 40mg/kg metilprednizolon tedavisi alan 36 sistemik lupus eritematosuz (SLE) hastasının 7'sinde tedavinin birinci ayında osteonekroz geliştiğini belirlemişlerdir (88). Ono ve arkadaşları ise günlük 30mg/kg doz olarak sürdürülen bir aylık steroid tedavisinin osteonekroz için risk faktörü olduğunu belirtmiş ve 62 hastanın 9'unda nekroz geliştiğini tespit etmişlerdir (89). Zicic ve arkadaşları ise steroid tedavisi alan 54 SLE hastasının 28 inde nekroz geliştiğini, bu hastalarında minimum dozunun günlük 20 mg/kg'ın üzerinde olduğunu belirtmişlerdir (90). Bununla birlikte, daha düşük dozlarda ve hatta tek doz steroid uygulamalarına bağlı olarak da osteonekroz gelişebileceğini gösteren vaka raporları ve deneysel çalışmalar yayınlanmıştır. Yamamoto ve arkadaşları şiddetli kasık ağrıları olan 78 kg'lık bir hastanın kalça eklemine intra-artiküler tek doz 80 mg metilprednizolon

uygulamasından 3 ay sonra, Günal ve arkadaşları ise alerji nedeniyle 8 ay önce tek doz 75.5 mg prednizolon tedavisi görmüş olan bir hastanın femur başında nekroz geliştiğini rapor etmişlerdir (91,92). Bununla birlikte Yamamoto ve arkadaşları deneysel olarak yaptıkları histopatolojik bir çalışmada, intramuskuler 20 mg/kg tek doz steroid enjekte ettikleri deneklerin femur başlarında, enjeksiyondan 4 hafta sonra % 43 oranında nekroz geliştiğini, Kabata ve arkadaşları ise tek doz 4 mg/kg intramuskuler steroid enjeksiyonundan 1 hafta sonra % 47 oranında nekroz geliştiğini belirtmişlerdir (93,94). Benzer bir çalışmada Motomura ve arkadaşları 1, 5, 20, 40 mg/kg tek doz intramusküler steroid enjeksiyonundan 4 hafta sonra 1 mg/kg'lık doz grubu hariç, 5 mg/kg'lık doz grubunda % 42, 20 mg/kg'lık doz grubunda % 70, 40 mg/kg'lık doz grubunda ise % 96 oranında nekroz geliştiğini tespit etmişlerdir (95).

Çalışmamızda deneklere intramusküler olarak 2, 4 ve 20 mg/kg tek doz halinde metilprednizolon enjeksiyonu uygulanarak, deneklerin femur ve kondil başlarından alınan kesitler histopatolojik olarak incelenmiş ve yapılan değerlendirmeler sonucunda ne 1. hafta ne de 4. hafta sonunda kemik yapısıyla ilgili önemli bir değişikliğin olmadığı ve nekroz veya benzeri bir patolojinin gelişmediği saptanmıştır.

Patolojik kemik yıkımlarının, osteoklastlar ve osteoblastlar arasındaki iletişim başta olmak üzere, kemik remodelasyonunu düzenleyen mekanizmaların herhangi bir safhasında ortaya çıkan bir bozukluk sonucu meydana geldiği kabul edilir. Osteoprotegerin (OPG) ve nükleer faktör kappa B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL), bu iletişimde anahtar rol oynayan yeni moleküllerdir (96). OPG osteoblastlar ve kemik iliği stromal hücreleri gibi çeşitli mezenşimal kaynaklı hücreler tarafından salgılanan bir glikoproteindir. OPG'nin temel fonksiyonu osteoklast farklılaşması ve aktivasyonunu inhibe etmektir. Bu nedenle OPG, kemik için koruyucu bir faktör olarak kabul edilmektedir. Bu konuyla ilintili olarak, OPG üretiminin aşırı artmasının osteopetrozis gelişimi ve osteoklastların sayısında azalmaya neden olduğu, üretiminin azalmasının veya durmasının ise şiddetli osteoporoz gelişimi ve osteoklast sayısında artışa neden olduğu belirtilmektedir (55). OPG kemik dokusunda koruyucu bir rol üstlenirken, RANKL kemik rezorpsiyonunun güçlü bir stimülatörü olarak görev almaktadır. RANKL'ın kemikteki ana görevi osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak kemik kaybı ve rezorpsiyonunu artırmaktır. Yapılan

çalışmalarda RANKL sentezinin artmasına bağlı olarak masif osteoporoz meydana gelebileceği gösterilmiştir (97).

Farklı dozlarda uygulanan steroid enjeksiyonlarının kemik dokusu üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada, OPG seviyesinin hem 1. hem de 4. hafta sonunda deney gruplarında daha dūřuk seviyede olduğu, RANKL değerlerinin ise 1. hafta sonunda deney gruplarında oldukça yūksək olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu, 4. hafta sonunda ise RANKL değerleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Kortikosteroidlerin kemik dokusu üzerine etkilerinin değerlendirmek amacıyla Jiang ve arkadaşları tarafından ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, araştırmacılar bizim bulgularımızla uyumlu olarak steroidlere bağlı olarak gelişen osteonekroz grubunda serum RANKL değerinin kontrol grubuna göre önemli derecede yūksək olduğunu, serum OPG değerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede dūřuk olduğunu gözlemlemişlerdir (98). Farklı bir çalışmada, Xiong ve arkadaşları ise 42 femur başı nekrotik dokusunda ki RANKL ve OPG mRNA seviyesinin normal dokuya göre daha yūksək olduğunu ve OPG değerlerinde ki artışın RANKL'a oranla daha fazla olduğunu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını not etmişlerdir (99).

Bununla birlikte, çalışmamızda sadece 20 mg/kg doz grubunun 1. ve 4. hafta OPG değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu, diğer grupların 1. ve 4. hafta OPG ve RANKL değerleri arasında ise önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Bu bulgular tek doz uygulanan steroid enjeksiyonlarının OPG ve RANKL değerlerinde, dolayısıyla kemik metabolizmasında önemli değişikliklere neden olduğunu, 20 mg/kg gibi daha yūksək doz uygulamalarında ise bu etkinin daha uzun sürebileceğini göstermektedir.

Diğer taraftan, RANKL'ın osteoklast öncül hücrelerde bulunan kendine özgü reseptörü RANK'a bağlanması kemik rezorpsiyonuna neden olabileceği, tuzak reseptörü OPG'ne bağlanması ise kemik rezorpsiyonunu inhibe edebileceği ifade edilmektedir. Genellikle RANKL seviyesindeki artma OPG seviyesindeki azalma ile birlikte ve RANKL/OPG oranı arttıkça osteoklastogenezis de artmaktadır. Bu nedenle RANKL/OPG ekspresyon oranı, osteoklastogenez, osteoklast aktivasyonu ve kemik

döngüsünün önemli bir belirleyicisi olarak kabul edilmektedir (100). Bu konuyla ilgili olarak, Grimaud ve arkadaşlarının, farklı osteolitik lezyonların RANKL/OPG oranlarını belirleyerek sağlıklı dokularla karşılaştırdıkları bir çalışmada, OPG seviyeleri yönünden önemli farklılık bulunamazken, patolojik gruplarda serum RANKL seviyesinin ve RANKL/OPG oranının kontrollere nazaran önemli derecede artmış olduğunu belirlemişlerdir. Grimaud ve arkadaşları bu sonuçların RANKL/OPG dengesinin osteolizde RANKL lehine bozulduğunu ve her iki proteinin de osteolizde kilit rol oynadığını belirtmişlerdir (101).

Araştırmacıları bu bulgularıyla uyumlu olarak, çalışmamızın hem 1. hem de 4. haftasında RANKL/OPG oranlarının deney gruplarında daha yüksek seviyede olduğu ve gruplar arasında istatistiksel önemli bir fark olduğu belirlenmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda 1 hafta sonunda 4 mg/kg doz grubu ve 20 mg/kg doz grubunun RANKL/OPG değerlerinin hem kontrol grubu hem de 2 mg/kg doz grubunun RANKL/OPG değerlerinden önemli derecede yüksek olduğu, 4. hafta da ise sadece 20 mg/kg doz grubunun RANKL/OPG değerlerinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular 4 mg/kg veya üzeri tek doz kortikosteroid uygulamalarının en az bir hafta boyunca kemik metabolizması üzerine olumsuz etkiler gösterebileceğini, daha yüksek dozlarda ise doku hasarı ve süresinin uzayabileceğini göstermektedir.

İnterlökin-33 (IL-33), kemik hemostazındaki rolü tartışmalı olan IL-1 ailesine ait pro-inflamatuar bir sitokindir. IL-33 reseptörü olan ST2'nin, osteoklastlar ve bunların öncülleri üzerinde eksprese edildiği bilinmektedir. Ancak IL-33'ün osteoklast fonksiyonu üzerine etkilerini belirleyebilmek amacıyla birçok çalışma yapılmasına rağmen bu konuda tam bir fikir birliğine varılamamıştır. Bu konuyla ilgili olarak, Izabella ve arkadaşları, Kiyomiya ve arkadaşları gibi araştırmacılar IL-33'ün osteoklast aktivitesini ve oluşumunu azalttığını belirtirken, Mun ve arkadaşları, Okragly ve arkadaşları gibi araştırmacılar ise artan IL-33 seviyesinin kemik kaybını ve osteoklastojenik aktiviteyi arttığını ileri sürmüşlerdir (102–105). Bununla birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalar IL-33'ün osteonekrotik hücrelerden salındığını ve femur başında meydana gelen nekrozların erken teşhisinde alarm etkisi yarattığını ortaya koymuştur. Zheng ve arkadaşlarının 125 femur başı nekrozu gelişen hastayla sağlıklı hastaların IL-33 değerlerini karşılaştırdıkları çalışmada, IL-33 değerlerinin nekrotik grupta anlamlı

derecede yüksek olduğunu belirlemişlerdir (106). Aynı şekilde Ma ve arkadaşları da femur başı nekrozu gelişmiş hastaların IL-33 değerlerinin sağlıklı bireylere göre önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (107).

Bu çalışmada her ne kadar kortikosteroid uygulamasına bağlı olarak femur ve kondil başlarında histopatolojik olarak herhangi değişiklik olduğu tespit edilememiş olmasına rağmen, 1. hafta sonunda, deney gruplarının IL-33 değerlerinin kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu belirlenmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda bu farkın kontrol grubu ile 20 mg/kg doz grubundan kaynaklandığı saptanmıştır. Ayrıca, 4. hafta sonunda IL-33 değerleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark olmadığı ve 1. ve 4. hafta sonuçları arasında da anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Oluşan iskeminin steroide bağlı gelişen kemik nekrozlarının en önemli patomekanizmalarından birisi olduğu, değişmiş yağ metabolizmasının serum lipit seviyelerini (trigliserit ve kolesterol) artırabileceği ve yağ embolisi ile iskemik tıkanıklığa neden olabileceği ileri sürülmektedir (108). Wang ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada kortikosteroidle tedavi edilmiş tavşanların femur başındaki yağ hücrelerinde % 25 artış olduğunu, bunun sonucunda basınç artışı ve buna bağlı olarak kan akımında azalma ve iskemi geliştiğini ortaya koymuşlardır (109). Motomura ve arkadaşları, tavşanlara intramuskuler tek doz 1, 5, 20 ve 40 mg/kg metilprednizolon uygulayarak 0, 1, 2, 3, 4. haftalarda kan örnekleri toplayarak kolesterol ve trigliseritin kan değerlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, enjeksiyondan 2 hafta sonra yapılan değerlendirmelerde, 1 ve 5 mg/kg doz gruplarında önemli bir değişiklik gözlenmezken 20 ve 40 mg/kg metilprednizolon enjekte edilen tavşanların serum lipit seviyelerinin hızla yükseldiğini gözlemlemişlerdir (95). Kabata ve arkadaşları ise haftada 4 mg/kg metilprednizolon uyguladıkları tavşanlardan 1. ve 3. gün, 1, 2, 4 ve 8. haftalarda kan örnekleri toplayarak osteonekroz gelişimiyle, hiperlipidemi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Kemik nekrozu gelişen grupta, total kolesterol, trigliserit ve serbest yağ asidinin 1 ve 2 hafta arasında anlamlı şekilde arttığını, HDL kolesterol düzeyinde ise enjeksiyondan 3. gün ile 1. hafta arasında belirgin şekilde azaldığını belirlemişlerdir (94). Miyanishi ve arkadaşları, toplam 38 tavşan üzerinde yaptıkları bir çalışmada, intramuskuler tek doz 20 mg/kg metilprednizolon uygulamasından 4 hafta sonra lipit taşınmasının serolojik bir göstergesi olarak kabul edilen LDL/HDL kolesterol oranının

nekroz gelişen olgularda anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılar yüksek LDL/HDL kolesterol düzeyinin nekroz gelişimi için önemli bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir (110).

Çalışmamızda 1. ve 4. haftalarda toplanan kan serum örneklerinde ayrıca total kolesterol, trigliserit, HDL ve LDL kolesterol değerlerini, LDL/HDL kolesterol oranı incelendi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda total kolesterol, trigliserit, HDL kolesterol değerlerini açısından hem 1. hafta hem de 4. haftada gruplar arasında önemli bir fark olmadığı tespit edildi. Bununla birlikte, 1. hafta sonunda, deney gruplarının LDL kolesterol değerlerinin kontrol grubuna nazaran oldukça yüksek olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu, dozun artmasıyla doğru orantılı olarak LDL kolesterol seviyesinin de arttığı belirlendi. Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda 20 mg/kg doz grubunun LDL kolesterol değerlerinin kontrol grubu ve 2 mg/kg doz verilen grubun LDL kolesterol değerlerinden anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Dördüncü hafta sonunda ise LDL kolesterol değerleri açısından gruplar arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, 2, 4 ve 20 mg/kg tek doz kortikosteroid uygulamalarının histopatolojik olarak femur ve kondil başında önemli bir değişikliğe neden olmadığı, ancak kemik metabolizmasını gösteren (OPG, RANKL, IL-33, LDL kolesterol değerleri, RANKL/OPG ve LDL/HDL kolesterol oranı gibi) biyokimyasal markerlar göz önünde bulundurulduğunda tek doz kortikosteroid uygulamalarının kemik metabolizmasında önemli değişikliklere neden olabileceği, kemiğin yapım-yıkım dengesinin yıkım yönünde değiştiği söylenilebilir.

KAYNAKLAR

1. Laurence DR, Bennett PN, Brown MJ. Clin Pharm, Eighth edition. 1997;599–614, 646–653.
2. Kendall EC. The development of cortisone as a therapeutic agent. Indian Med J. 1951;45(10):239–241.
3. Hardman JG, Limbird LE. Adrenocortical steroids. Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of theapeutics 9th ed. 1998;59:1465-1485.
4. Dural Ö. Farmakoloji İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2000:264–305.
5. MacLaren R, Jung R. Stress-Dose Corticosteroid Therapy for Sepsis and Acute Lung Injury or Acute Respiratory Distress Syndrome in Critically Ill Adults. Pharmacotherapy. 2002;22(9):1140–1156.
6. Van Der Meer JW. Immunomodulation by antimicrobial drugs. Neth J Med. 2003;61(7):233-234.
7. McGowan JE, Chesney PJ, Crossley KB, LaForce FM. Guidelines for the Use of Systemic Glucocorticosteroids in the Management of Selected Infections. J Infect Dis. 1992;165(1):1-13
8. Sorrells SF, Sapolsky RM. An inflammatory review of glucocorticoid actions in the CNS. Brain Behav Immun. 2007;21(3):259–272.
9. Barnes PJ. Glucocorticosteroids. Handb Exp Pharmacol. 2017;237:93-115.
10. Kim YS, Bigliani LU, Fujisawa M, Murakami K, Chang SS, Lee HJ, et al. Stromal Cell-Derived Factor 1 (SDF-1, CXCL12) Is Increased in Subacromial Bursitis and Downregulated by Steroid and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Agents. J Orthop Res. 2006;24:1756–1764.
11. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Pharmacology 5th ed. 2003;27:410-420.
12. Kayaalp SO. Glukokortikoidler. Tibbi farmakoloji. 2000;2:1301-1316.
13. Allen DB. Safety of inhaled corticosteroids in children. Pediatr Pulmonol. 2002;33:208-220.
14. Gravanis A, Margioris AN. Pharmacology of glucocorticoids: an overview. Adrenal Disorders Humana Press. 2001:59–70.
15. Sisk AL, Bonnington GJ. Evaluation of methylprednisolone and flurbiprofen for inhibition of the postoperative inflammatory response. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1985;60(2):137–145.
16. Whitworth JA, Brown MA, Kelly JJ, Williamson PM. Mechanisms of cortisol-induced hypertension in humans. Steroids. 1995;60(1):76–80.

17. Canalis E. Inhibitory actions of glucocorticoids on skeletal growth. Is local insulin-like growth factor I to blame. *Endocrinology*. 1998;139(7):3041–3042.
18. Samancı N, Balcı N. Kortikosteroidler ve Klinikte Kullanımları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2001;21(2):131–140.
19. Longui CA. Glucocorticoid therapy: minimizing side effects. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(5):163-177
20. Favus JM. Anatomy and ultrastructure of bone. *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism 4nd Ed*. 1999, chap1.
21. Murugan R, Ramakrishna S. Development of nanocomposites for bone grafting. *Compos Sci Technol*. 2005;65(15–16):2385–2406.
22. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Patolojiye Giriş*. Ankara: Palme Yayıncılık 2006.
23. Bloom W, Fawcett DW, Maximow AA. *Textbook of Histology*. (10th ed.). Philadelphia,USA. 1975.
24. Ovalle W, Nahirney P. *Netter's Essential Histology*. 2009:131–156.
25. Junqueira LC Carneiro J. *Basic Histology, Tenth Edition*: McGraw-Hill Companies. 2003:142–152.
26. Garant P. *Oral Cells And Tissues*. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: 2003 Chapter 7-8.
27. Ehrlich PJ, Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporos Int*. 2002;13(9):688-670.
28. Langer R, Vacanti JP. *Tissue engineering*. *Science*.1993;260: 920-926.
29. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. *J Bone Joint Surg Am*. 1995;77:1256.
30. Akay MT. *Genel Histoloji. Kemik dokusu*. 5nd ed. Ankara: Palme yayıncılık. p. 126–149.
31. Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem*. 1997;30(8):573–593.
32. Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473(2):201–209.
33. Yoshida H, Hayashi S, Kunisada T, Ogawa M, Nishikawa S, et al. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature*. 1990;345(6274):442-444.

34. Majumdar S. Magnetic resonance imaging of trabecular bone structure. *Top Magn Reson Imaging*. 2002;13(5):323-334.
35. Parfitt AM. The coupling of bone formation to bone resorption: a critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metab Bone Dis Relat Res*. 1982;41-46.
36. Pfeilschifter J, Mundy GR. Modulation hormones. 1987;84(7):2024-2028.
37. Ammann P, Rizzoli R. Bone strength and its determinants. *Osteoporos Int*. 2003;14(3):13-18.
38. van Bezooijen RL, Roelen BAJ, Visser A, van der Wee-Pals L, de Wilt E, Karperien M, et al. Sclerostin Is an Osteocyte-expressed Negative Regulator of Bone Formation, But Not a Classical BMP Antagonist. *J Exp Med*. 2004;199(6):805-814.
39. Kim CH, Takai E, Zhou H, von Stechow D, Dempster DW, et al. Trabecular bone response to mechanical and parathyroid hormone stimulation: the role of mechanical microenvironment. *J Bone Miner Res*. 2003;18: 2116-2125.
40. Kuo YJ, Tsuang FY, Sun JS, Lin CH, Chen CH, Li JY, et al. Calcitonin inhibits SDCP-induced osteoclast apoptosis and increases its efficacy in a rat model of osteoporosis. *PLoS One*. 2012;7(7).
41. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, Brun J, Crouzet B, et al. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women. *N Engl J Med*. 1992;327(23):1637-1642.
42. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanism of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest*. 1998;102(2):274-282.
43. Briot K, Roux C. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *RMD Open*. 2015;1(1):1-8.
44. Britto JM, Fenton AJ, Holloway WR, Nicholson GC. Osteoblasts mediate thyroid hormone stimulation of osteoclastic bone resorption. *Endocrinology* 1994;134(1): 169-176.
45. Wang J, Zhou J, Cheng CM, Kopchick JJ, Bondy CA. Evidence supporting dual, IGF-I-independent and IGF-I-dependent, roles for GH in promoting longitudinal bone growth. *J Endocrinol*. 2004;180(2):247-255.
46. Srivastava S, Toraldo G, Weitzmann MN, Cenci S, Ross FP, Pacifici R. Estrogen Decreases Osteoclast Formation by Down-regulating Receptor Activator of NF- κ B Ligand (RANKL)-induced JNK Activation. *J Biol Chem*. 2001;276(12):8836-8840.

47. Kameda T, Mano H, Yuasa T, Mori Y, Miyazawa K, et al. Estrogen inhibits bone resorption by directly inducing apoptosis of the bone-resorbing osteoclasts. *J Exp Med* 1997;186(4):489–495.
48. Sato T, Kawano H, Kato S. Study of androgen action in bone by analysis of androgen-receptor deficient mice. *J Bone Miner Metab.* 2002;20(6):326–330.
49. Grynblas MD. Cytokines and Bone Metabolism. *Calcified Tissue.* 1993:293–296.
50. Hock JM, Canalis E. Platelet-derived growth factor enhances bone cell replication, but not differentiated function of osteoblasts. *Endocrinology.* 1994;134(3):1–6.
51. Horowitz MC. Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects. *Science.* 1993;260(5108):626–627.
52. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(SUPPL.1).
53. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 473(2):139–146.
54. Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand. *J Biochem Cell Biol.* 2007;(39):1077–1081.
55. Khosla S. Minireview: The OPG/RANKL/RANK System. *Endocrinology.* 2001;142(12):5050–5055.
56. Jones DH, Nakashima T, Sanchez OH, Kozieradzki I, Komarova SV., Sarosi I, et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature.* 2006;440(7084):692–696.
57. Wong BR, Josien R, Lee SY, Vologodskaja M, Steinman RM, Choi Y. The TRAF family of signal transducers mediates NF- κ B activation by the TRANCE receptor. *J Biol Chem.* 1998;273(43):28355–9.
58. Galibert L, Tometsko ME, Anderson DM, Cosman D, Dougall WC. The involvement of multiple tumor necrosis factor receptor (TNFR)- associated factors in the signaling mechanisms of receptor activator of NF- κ B, a member of the TNFR superfamily. *J Biol Chem.* 1998;273(51):34120–7.
59. Lomaga MA, Yeh WC, Sarosi I, Duncan GS, Furlonger C, Ho A, et al. TRAF6 deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40, and LPS signaling. *Genes Dev.* 1999;13(8):1015–1024.
60. Wada T, Nakashima T, Oliveira-dos-Santos AJ, Gasser J, Hara H, et al. The molecular scaffold Gab2 is a crucial component of RANK signaling and osteoclastogenesis. *Nat Med.* 2005;11(4):394–399.
61. Hofbauer LC. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: Novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol.* 1999;141(3):195–210.

62. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005;23(5):479–490.
63. Lefrançois E, Cayrol C. Mechanisms of IL-33 processing and secretion: Differences and similarities between IL-1 family members. *Eur Cytokine Netw*. 2012;23(4):120–127.
64. Palmer G, Gabay C. Interleukin-33 biology with potential insights into human diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(6):321–329.
65. Saidi S, Magne D. Interleukin-33: A novel player in osteonecrosis of the femoral head. *Jt Bone Spine*. 2011;78(6):550–554.
66. Nawata H, Soen S, Takayanagi R, Tanaka I, Takaoka K, Fukunaga M, et al. Guidelines on the management and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis of the Japanese Society for Bone and Mineral Research (2004). *J Bone Miner Metab*. 2005;23(2):105–109.
67. Olney RC. Mechanisms of impaired growth: Effect of steroids on bone and cartilage. *Horm Res*. 2009;72(SUPPL. 1):30–35.
68. Yoshioka T, Sato B, Matsumoto K, Ono K. Steroid receptors in osteoblasts. *Clin Orthop Relat Res*. 1980;148:297–303.
69. Migliaccio S, Brama M, Malavolta N. Management of glucocorticoids-induced osteoporosis: Role of teriparatide. *Ther Clin Risk Manag*. 2009;5(1):305–310.
70. Assouline-Dayana Y, Chang C, Greenspan A, Shoenfeld Y, Gershwin EM. Pathogenesis and natural history of osteonecrosis. *Semin Arthritis Rheum*. 2002;32(2):94–124.
71. Mont MA, Hungerford DS. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Jt Surg Am*. 1995;77(3):459–474.
72. Gangji V, Toungouz M, Hauzeur J-P. Stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5(4):437–442.
73. Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, Dailiana ZH, Bargiotas K, Maris T. Osteonecrosis of the femoral head: Etiology, imaging and treatment. *Eur J Radiol*. 2007;63(1):16–28.
74. Wang G, Zhang CQ, Sun Y, Feng Y, Chen SB, Cheng XG, et al. Changes in femoral head blood supply and vascular endothelial growth factor in rabbits with steroid-induced osteonecrosis. *J Int Med Res*. 2010;38(3):1060–1069.
75. Dimmeler S, Haendeler J, Zeiher AM. Regulation of endothelial cell apoptosis in atherothrombosis. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13(5):531–536.
76. Arpacı AH. Ağız , Diş ve Çene Cerrahisinde Kortikosteroid Kullanımı. *Türkiye Klin J Oral Maxillofac Surg-Special Top*. 2017;3(2):77–84.

77. Szeffler SJ, Ebling WF, Georgitis JW, Jusko WJ. Methylprednisolone Versus Prednisolone Pharmacokinetics in Relation to Dose in Adults. *Eur J Clin Pharmacol.* 1986;30(3):323–329.
78. Montgomery MT, Hogg JP, Roberts DL Redding SW. The use of glucocorticosteroids to lessen the inflammatory sequelae following third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990;48(2):179–187.
79. Buchman AL. Side Effects of Corticosteroid Therapy | medcaretips.com. *J Clin Gastroenterol .* 2001;33(4):289–294.
80. Sargin H, Bulut G. Steroid kullanımı ve osteoporoz. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi.* 2002;2(13):147-149
81. Locascio V, Bonucci E, Imbimbo B, Ballanti P, Adami S, Milani S, et al. Bone loss in response to long-term glucocorticoid therapy. *Bone and Mineral.* 1990;8:39-51
82. Staa TP Van, Leufkens HGM, Cooper C. The Epidemiology of Corticosteroid-Induced Osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2002;44(13):777–787.
83. Hansen M, Podenphant J, Florescu A, Stoltenberg M, Borch A, Kluger E, et al. A randomised trial of differentiated prednisolone treatment in active rheumatoid arthritis. Clinical benefits and skeletal side effects. *Ann Rheum Dis.* 1999;58(11):713–718.
84. Haugeberg G, Myklebust G, Dovland H, Mikkelsen B, Gran JT. No permanent reduction in bone mineral density during treatment of polymyalgia rheumatica and temporal arteritis using low dose corticosteroids: A cross sectional study. *Scand J Rheumatol.* 2000;29(3):163–169.
85. Kroger H, Honkanen R, Saarikoski S, Alhava E. Decreased axial bone mineral density in perimenopausal women with rheumatoid arthritis - a population based study. *Ann Rheum Dis.* 1994;53(1):18–23.
86. Martin JC, Munro R, Campbell MK, Reid DM. Effects of disease and corticosteroids on appendicular bone mass in postmenopausal women with rheumatoid arthritis: comparison with axial measurements. *Br J Rheumatol.* 1997;36(1):43–49.
87. Van Staa TP, Leufkens HGM, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C. Use of oral corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res.* 2000;15(6):993–1000.
88. Massardo L, Jacobelli S, Leissner M, Gonz M, Villarroel L, Rivero S. High-Dose Intravenous Methylprednisolone Therapy Associated with Osteonecrosis in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus.* 1992;401–405.
89. Ono K, Tohjima T, Komazawa T. Risk factors of avascular necrosis of the femoral head in patients with systemic lupus erythematosus under high-dose cortico- steroid therapy. *Clin Orthop Relat Res.* 1992;277:89–97.

90. Zizic TM, Marcoux C, Hungerford DS, Stevens MB. Corticosteroid Therapy Associated with Ischemic Necrosis of Bone in Systemic Lupus Erythematosus. *Am J Med.* 1985;79(5):596-604.
91. Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG. Rapid Destruction of the Femoral Head After a Single Intraarticular Injection of Corticosteroid into the Hip Joint. *J Rheumatol.* 2006;33(8):1701–1704.
92. Gunal I, Karatosun V. Avascular necrosis of the femoral heads after single corticosteroid injection. *CMAJ.* 2006;175(1):32–33.
93. Yamamoto T, Irisa T, Sugioka Y, Sueishi K. Effects of pulse methylprednisolone on bone and marrow tissues. *Am Coll Rheumatol.* 1997;40(11):2055–2064.
94. Kabata T, Kubo T, Matsumoto T, Hirata T, Fujioka M, Takahashi KA, et al. Onset of steroid-induced osteonecrosis in rabbits and its relationship to hyperlipaemia and increased free fatty acids. *Rheumatology.* 2005;44(10):1233–1237.
95. Motomura G, Yamamoto T, Irisa T, Miyanishi K, Nishida K. Rabbits Dose Effects of Corticosteroids on the Development of Osteonecrosis in Rabbits. *J Rheumatol.* 2008;35(12).
96. Buckley KA, Fraser WD. Receptor activator for nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin: Regulators of bone physiology and immune responses/potential therapeutic agents and biochemical markers. *Ann Clin Biochem.* 2002;39(6):551–556.
97. Kohli SS, Kohli VS. Role of RANKL–RANK/osteoprotegerin molecular complex in bone remodeling and its immunopathologic implications. *Indian J Endocrinol Metab.* 2011;15(3):175–181.
98. Jiang Y, Zhang Y, Chen W, Liu C, Li X, Sun D, et al. *Achyranthes bidentata* extract exerts osteoprotective effects on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats by regulating rankl/rank/opg signaling. *J Transl Med.* 2014;12(1):1–13.
99. Xiong MY, Liu LQ, Liu SQ, Liu ZH, Gao HF. Effects of osteoprotegerin, RANK and RANKL on bone destruction and collapse in avascular necrosis femoral head. *Am J Transl Res.* 2016;8(7):3133–3140.
100. Lorenz C, Hofbauer MS. Clinical Implications of the Osteoprotegerin/RANKL/RANK System for Bone and Vascular Diseases. *Am Med Assoc.* 2004;292(4):490–495.
101. Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, Coipeau P, Moreau A, Passuti N, et al. Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand (RANKL)/Osteoprotegerin (OPG) Ratio Is Increased in Severe Osteolysis. *Am J Pathol.* 2003;163(5):2021–2031.

102. Lima ILA, Macari S, Madeira MFM, Rodrigues LFD, Colavite PM, Garlet GP, et al. Osteoprotective effects of IL-33/ST2 link to osteoclast apoptosis. *Am J Pathol*. 2015;185(12):3338–3348.
103. Kiyomiya H, Ariyoshi W, Okinaga T, Kaneuji T, Mitsugi S, Sakurai T, et al. IL-33 inhibits RANKL-induced osteoclast formation through the regulation of Blimp-1 and IRF-8 expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;460(2):320–326.
104. Mun SH, Ko NY, Kim HS, Kim JW, Kim DK, Kim AR, et al. Interleukin-33 stimulates formation of functional osteoclasts from human CD14+ monocytes. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(22):3883–3892.
105. Okragly AJ, Hamang MJ, Pena EA, Baker HE, Bullock HA, Lucchesi J, et al. Elevated levels of Interleukin (IL)-33 induce bone pathology but absence of IL-33 does not negatively impact normal bone homeostasis. *Cytokine*. 2016;79:66–73.
106. Zheng L, Wang W, Ni J, Li Z, Xiao T, Zhang Q, et al. Plasma interleukin 33 level in patients with osteonecrosis of femoral head: an alarmin for osteonecrosis of the femoral head. *J Investig Med*. 2014;62(3):635–637.
107. Ma J, Guo W, Li Z, Wang B, Li S, Wang P. Hip Osteonecrosis Is Associated with Increased Plasma IL-33 Level. *Mediators Inflamm*. 2017.
108. Xie XH, Wang XL, Yang HL, Zhao DW, Qin L. Steroid-associated osteonecrosis: Epidemiology, pathophysiology, animal model, prevention, and potential treatments (an overview). *J Orthop Transl*. 2015;3(2):58–70.
109. Wang GJ, Moga DB, Richemer WG, Sweet DE, Reger SI. Cortisone induced bone changes and its response to lipid clearing agents. *Clin Orthop Relat Res*. 1978;130:81–85.
110. Miyanishi K, Yamamoto T, Irida T, Yamashita A, Jingushi S, Noguchi Y, et al. A high low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ratio as a potential risk factor for corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology*. 2001;40(2):196–201.

EKLER

EK1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)
10.01.2018	1	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmanın Başlığı Research Title	Deneysel tek doz steroid enjeksiyonlarının kemik dokusu üzerine etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi Histopathological and biochemical examination of the effect of experimental single dose steroid injections on bone tissue
	Başvuru Tarihi Application Date	26.12.2017
	Protokol no Protocol no	51

KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2018/1 DecisionNo: 2018/1
	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul (Accepted) <input type="checkbox"/> Red (Not Accepted) Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ'ün yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, başvurunun "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

Yürütücü Coordinator	Prof. Dr. Metin GÜNGÖRMÜŞ Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

ETİK KURUL BİLGİLERİ
ÇALIŞMA ESASI
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	E	
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	E	
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Kimya	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karslı (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	E	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD.	H	E	
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜN Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	E	
Veteriner Hekim Celal Özsoyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	H	KATILMADI
Tekniker Hakan Parlar (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	H	KATILMADI

E: Evet, H: Hayır

ÖZGEÇMİŞ

Naci KAZAZ, 1989 yılında Gaziantep'te doğdum. İlköğretim eğitimini Özel Gaziantep Kolej Vakfı'nda ve lise eğitimini Gaziantep Merkez Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2013 yılında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldum. 2014 yılında Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız-Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak uzmanlık eğitimine başladım.

