



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**İDİYOPATİK BOY KISALIĞI OLAN
ÇOCUKLARDA K VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN
BOY KISALIĞI İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Muhammed Emin CEYLAN

Antalya, 2024



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**İDİYOPATİK BOY KISALIĞI OLAN
ÇOCUKLARDA K VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN
BOY KISALIĞI İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Muhammed Emin CEYLAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sebahat ÖZDEM

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2024

**Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından TTU-2021-5765 numaralı proje no ile desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda geçirdiğim uzmanlık eğitimi sürecimde başta tanımaktan onur duyduğum, her hali ile örnek olan, tez çalışmamın bütün aşamalarında çok büyük desteği ve emeği olan, sevgili danışman hocam Prof. Dr. Sebahat ÖZDEM'e

Uzmanlık eğitimim boyunca; babacan tavrı ile yanımda olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Akın YEŞİLKAYA'ya, bizler için kapısı her zaman açık olan Prof. Dr. S. Halide AKBAŞ'a, pozitif enerjisi ve güler yüzlü yaklaşımı için Dr. Öğr. Üyesi İkbâl ÖZEN KÜÇÜKÇETİN'e, destekleri, bilgi birikimleri ve tecrübeleri ile öğrenimime katkıda bulunan tüm saygıdeğer bölüm hocalarıma,

Tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mesut PARLAK'a

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım mesai arkadaşlarım Merkez Laboratuvarı çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimini birlikte aldığım değerli asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim başta rahmetli annem ve sevgili aileme,

Tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Tablolar Dizini	ix
Şekiller Dizini	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Büyümenin Takibi	4
2.1.1. Antropometrik Ölçümler	4
2.1.2. Persantil Tabloları ve Eğriler	4
2.1.3. Biyokimyasal Laboratuvar Tetkikleri	5
2.2. Boy Kısaldığının Etiyolojik Sınıflandırılması	12
2.2.1 Primer büyüme bozuklukları	14
2.2.2. Sekonder büyüme bozuklukları	18
2.2.3. İdiyopatik boy kısaldığı	22
2.3. K Vitamini	25
2.3.1. K Vitamini Emilimi	26
2.3.2. K Vitamini Metabolizması ve Fonksiyonu	27
2.3.3. K vitaminin Kemik Sağlığı Üzerindeki Etkileri	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Olguların Seçilmesi	34
3.2. Dışlama Kriterleri	34
3.3. Laboratuvar Çalışmaları	35
3.3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	35
3.3.2 Kullanılan Malzemeler	35
3.3.3 Kullanılan Cihazlar	37
3.3.4. Ölçüm Yöntemleri	37
3.4. İstatistiksel Analiz	59
4. BULGULAR	60
5. TARTIŞMA	84

6. SONUÇLAR	95
7. ÖZET	96
8. ABSTRACT	97
9. KAYNAKLAR	98
10. EKLER	112
Ek 1. Etik Kurul Onayı	112
Ek 2. Aydınlatılmış Onam Formu	113



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
25(OH)D	25-hidroksivitamin D
µg	Mikrogram
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ALP	Alkalen fosfataz
BCG	Bromokrezol Yeşili (Bromocresol Green)
BH	Büyüme Hormonu
BMD	Kemik Mineral Yoğunluğu (Bone Mineral Density)
BMP-2	Kemik Morfogenetik Protein-2
cm	Santimetre
cOC	Karboksile Osteokalsin (Carboxylated Osteocalcin)
CRP	C-Reaktif Protein
CV	Varyasyon Katsayısı (Coefficient of Variation)
dk	Dakika
dL	Desilitre
E	Erkek
ECLIA	Elektrokemilüminesans İmmunoassay (Electrochemiluminescence Immunoassay)
ELISA	Enzim Bağlantılı İmmunassay (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)
ESI	Elektrospray İyonizasyon
FGF-2	Fibroblast Büyüme Faktörü-2 (Fibroblast Growth Factor- 2)
FWS	Fetal Warfarin Sendromu
g	Gram
GAS-6	Büyümeyi Durdurmaya Özgü Protein-6 (Growth arrest-specific Protein 6)

GDF-15	Büyüme Farklılaşma faktörü-15 (Growth/differentiation Factor-15)
Gla	Karboksiglutamat
Glu	Glutamat
GRP	Gla Açısından Zengin Protein (Gamma-carboxylation of Gla Rich Protein)
H	Hidrojen
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)
HRP	Horseradish Peroksidaz
IGF-BP3	İnsülin Benzeri Büyüme Hormonu Bağlayan Protein-3
IGF-I	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I
IGF-II	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-II
ISTD	İnternal Standart
IUBG	İntrauterin Büyüme Geriliği
İBK	İdiyopatik Boy Kısallıkları
K	Kız
K1	Filokinon
K2	Menakinon
K2-EDTA	Potasyum 2-Etilen Diamin Tetra Asetikasit
K3	Menadion
kg	kilogram
L	Litre
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
LOD	Saptama Limiti (Limit of Detection)
LOQ	Ölçüm Limiti (Limit of Quantification)
m/z	Kütle/Yük
mg	Miligram
MGP	Matriks Gla Proteini
MK-4	Menakinon-4

MK-7	Menakinon-7
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
mm³	Milimetreküp
ms	Milisaniye
MS/MS	Ardışık Kütle Spektrometresi (Tandem Mass Spectrometry)
n	Sayı
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hidrojen
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
ng	Nanogram
nm	Nanometre
N-mid	N-Terminal Orta Parçası
OC	Osteokalsin
OH	Hidroksil
OPG	Osteoprotegerin
pg	Pikogram
pH	Potansiyel hidrojen iyon
PLF	Periostin Benzeri Faktör (Periostin-Like Factor)
PRGP	Prolin Açısından Zengin Gla Proteini
PTH	Paratiroid Hormon
RANK	Nükleer Faktör kappa-B Reseptör Aktivatörü (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B)
RANKL	Nükleer Faktör kappa-B Reseptör Aktivatörü Ligandı (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand)
ROC	Receiver Operating Characteric
RPM	Dakika Başına Devir (Revolutions Per Minute)
SD	Standart Deviasyon

SDS	Standart Sapma Skoru
SGA	Gebelik Yaşına Göre Küçük (Small for Gestational Age)
SRM	Planlanmış Reaktif İzleme (Selected Reaction Monitoring)
SXR	Steroid ve Ksenobiyotik Reseptörünü
TMB	Tetra Metil Benzidin
TMG	Transmembran Gla Protein
TSH	Tiroid Uyarıcı Hormon (Thyroid-Stimulating Hormone)
U	Ünite
UBIAD1	UbiA prenilttransferaz domain içeren protein-1 (UbiA Prenyltransferase Domain Containing 1)
ucOC	Ankarboksile Osteokalsin
UHPLC	Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (Ultra High Performance Liquid Chromatography)
V	Volt
VDBP	D Vitamini Bağlayıcı Protein
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Very Low Density Lipoprotein)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
α	Alfa
γ	Gama
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
μm	Mikrometre

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2. 1. Gla proteinleri, sentez yerleri ve fonksiyonları	28
3. 1. Taranan parametreler-SRM tablosu	38
3. 2. K vitamini analizlerine ait LOD ve LOQ değerleri	43
3. 3. N-Mid osteokalsin kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	44
3. 4. Ankarboksile osteokalsin ELISA kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	45
3. 5. MGP ELISA kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	46
3. 6. IGF-I kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	48
3. 7. IGF-BP3 kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	49
3. 8. Total 25(OH)D vitamini kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	49
3. 9. İntakt PTH kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	50
3. 10. Albümin kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	51
3. 11. Kalsiyum kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	52
3. 12. Fosfor kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	52
3. 13. Magnezyum kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	53
3. 14. Total ALP kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	53
3. 15. CRP kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	54
3. 16. Glukoz kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	55
3. 17. Total kolesterol kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	55
3. 18. Trigliserid kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	56
3. 19. HDL kolesterol kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	57
3. 20. LDL kolesterol kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları	58
4. 1. Grupların yaş ve cinsiyet dağılımı	60
4. 2. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda biyokimyasal parametre değerleri (Ortalama $\pm$ SD)	62

4. 3. İdiyopatik boy kısalığı grubu cinsiyete göre ayrıldığında istatistiksel olarak farklılık bulunan biyokimyasal parametre ve değerleri (Ortalama $\pm$ SD)	63
4. 4. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda lipid paneli ve glukoz düzeyleri (Ortalama $\pm$ SD)	63
4. 5. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda hemogram parametre değerleri (Ortalama $\pm$ SD)	64
4. 6. N-Mid osteokalsin ile toplam ALP, boy uzunluğu, IGF-I ve intakt PTH arasındaki ilişkinin tablosu	70
4. 7. Ankarboksile osteokalsin düzeyi ve logaritmik dönüştürülmüş ankarboksile osteokalsin değerleri ile ilişkili parametreler	72
4. 8. Karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin oranı ile ilişkili parametreler	74
4. 9. MGP ve MGP/MK-4 oranı ile ilişkili parametreler	77
4. 10. VKİ ile ilişkili parametreler	79
4. 11. Boy uzunluğuna etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucu	80
4. 12. Boy uzunluğu-SDS'sine etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucu	81
4. 13. N-Mid osteokalsine etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucu	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2. 1. 0-3 yaş erkek ve kız çocuklarında vücut ağırlığı persantil eğrileri	7
2. 2. 0-3 yaş erkek ve kız çocuklarında boy uzunluğu persantil eğrileri	8
2. 3. 2-18 yaş erkek ve kız çocuklarında vücut ağırlığı persantil eğrileri	9
2. 4. 2-18 yaş erkek çocuklarında boy uzunluğu persantil eğrileri	10
2. 5. 2-18 yaş erkek ve kız çocuklarında VKİ persantil eğrileri	11
2. 6. K vitamini formlarının kimyasal yapıları	26
2. 7. K vitamini döngüsü ve warfarin inhibisyonu	27
2. 8. K vitamininin kemik homeostazisi üzerindeki etki mekanizmaları	30
3. 1. K vitamini ölçümlerinde kullanılan Ultimate 3000 UHPLC analizörü	38
3. 2. K vitamini ölçümlerinde kullanılan TSQ Fortis MS/MS analizörü	38
3. 3. K1 vitamini standart kalibratör grafiği	40
3. 4. K1 vitamini için örnek kromatogram görüntüsü	40
3. 5. Menakinon-4 standart kalibratör grafiği	41
3. 6. Menakinon-4 için örnek kromatogram görüntüsü	41
3. 7. Menakinon-7 standart kalibratör grafiği	42
3. 8. Menakinon-7 için örnek kromatogram görüntüsü	42
3. 9. Ankarboksile osteokalsin ELISA kiti standart grafiği	45
3. 10. Matriks Gla protein ELISA kiti standart grafiği	47
4. 1. İdiyopatik boy kısalığı grubu ile kontrol grubu boy uzunlukları (ortalama±SD)	60
4. 2. Gruplar arasında vücut ağırlıklarının karşılaştırılması (ortalama±SD)	61
4. 3 (a ve b). İdiyopatik boy kısalığı grubu ile kontrol grubunda IGF-I ve IGF-BP3 düzeyleri (ortalama±SD)	62
4. 4 (a, b, c ve d). İdiyopatik boy kısalığı ile kontrol grubunda toplam K vitamini, filokinon, menakinon-4, menakinon-7 düzeyleri (ortalama±SD)	65
4. 5 (a, b, c ve d). K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) ile boy uzunluğu arasındaki korelasyon grafikleri	66

4. 6 (a, b, c ve d). K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) ile vücut ağırlığı arasındaki korelasyon grafikleri	67
4. 7 (a, b, c ve d). K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) ile boy uzunluğu-SDS'leri arasındaki korelasyon grafikleri	68
4. 8 (a ve b). IGF-I düzeyleri ile menakinon-7 ve toplam K vitamini arasındaki korelasyonların grafikleri	69
4. 9. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda N-mid osteokalsin düzeyleri (ortalama±SD)	69
4. 10. İdiyopatik boy kısalığı grubunda cinsiyete göre N-mid osteokalsin düzeyleri (ortalama±SD)	70
4. 11. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda ankarboksile osteokalsin düzeyleri (ortalama±SD)	71
4. 12 (a ve b). Ankarboksile osteokalsin düzeyi ile boy uzunluğu ve vücut ağırlığı arasındaki korelasyonların grafiği	71
4. 13. Ankarboksile osteokalsin ile IGF-I arasındaki korelasyonun grafiği	73
4. 14. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda karboksile osteokalsin/anarboksile osteokalsin oranı (ortalama±SD)	74
4. 15. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda MGP düzeyleri (ortalama±SD)	75
4. 16 (a ve b). MGP ile boy uzunluğu ve boy uzunluğu-SDS arasındaki korelasyonların grafiği	75
4. 17 (a, b, c ve d). MGP ve K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) arasındaki korelasyon grafikleri	76
4. 18. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda MGP/MK-4 oranı (ortalama±SD)	77
4. 19. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda total 25(OH)D vitamini düzeyleri (ortalama±SD)	78
4. 20 (a ve b). 25(OH)D vitamini düzeyleri ile menakinon-4 ve toplam vitamin K düzeyleri arasındaki korelasyonların grafiği	78
4. 21. Menakinon-7 ve IGF-I düzeylerinin idiyopatik boy kısalığı tanısındaki yerlerinin değerlendirildiği ROC analiz grafiği	83

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Büyüme ve gelişme çocukluk döneminin en önemli unsurlarındandır. Bu unsurlar hem çocukluk dönemlerinde hem de bütün yaşamları boyunca birçok yönden bireyleri etkilemektedir. Sağlıklı ve yeterli büyüme için birçok bileşenin bir arada olması gerekir. Sağlıklı bir büyüme için; normal hücre yapısına, yeterli ve dengeli besine, uygun koşullara, normal genetik yapıya, etkin büyüme faktörlerine, sağlıklı endokrin sisteme ve uygun metabolik ortama ihtiyaç duyulur.

Büyümede; birinci dönemde (intrauterin), insülin, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-I ve IGF-II gibi faktörler gerekli iken, ikinci dönemde (ekstrauterin) tiroid hormonları, büyüme hormonu (BH) ve cinsiyet hormonları gibi hormonlar ve beslenme başlıca etkili olan faktörler konumundadır.

Farklı sebepler nedeni ile büyümenin düzgün gerçekleşmemesi boy kısalığı ile sonuçlanır. Boy kısalığı, yüzde (%) 3-5'lik bir insidansa sahip olup yaygın kabul edilen bir durumdur (1). Pediatri polikliniklerine ve pediatrik endokrinoloji polikliniklerine en sık başvuru nedenlerinden sayılmaktadır (2).

Boy kısalığı olan bir çocuğun klinik değerlendirmesinde öncelikle boy kısalığının olup olmadığının doğru ölçüm yöntemleri ile değerlendirilmesi gerekir. Her boy kısalığı patolojik değildir. Boy kısalığı varsa bunun normal veya patolojik olduğunun ayrımı yapılmalıdır. Boy kısalığının klinik yaklaşım basamakları arasında; kapsamlı öykü alınması, büyümenin değerlendirilmesi, detaylı fizik muayene yapılması ve elde edilen bulgular doğrultusunda uygun laboratuvar tetkiklerinin planlanması yer alır.

Çocuklarda büyümenin değerlendirilebilmesi için normal değerlerin bilinmesi gereklidir. Antropometrik ölçümlerle ilgili ilk düzenli kayıtlar 18. yüzyıla kadar uzanmaktadır. Ülkemizde ise sağlıklı Türk çocuklarının büyüme eğrileri ilk kez 1978 yılında yayınlanmış ve bu veriler 1950'li yıllarda doğmuş varlıklı ailelerin çocuklarının uzun dönem takiplerinden elde edilmiştir. Otuz yıl sonra, Türk çocukları için büyüme eğrileri yenilenmiş ve bu eğriler 2000'li yıllarda Amerika

Birleşik Devletleri standartları ile karşılaştırılınca birbirlerine yakın olduğu görülmüştür.

Boy kısalıkları etiyolojik olarak; primer büyüme bozuklukları, sekonder büyüme bozuklukları ve idiyopatik boy kısalıkları (İBK) olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılmaktadır.

Primer boy kısalıkları çoğunlukla genetik nedenlere bağlı etiyolojileri içerirken sekonder büyüme bozuklukları doğumdan sonra başlayan ve büyümeyi etkileyen olumsuz durumları içerir. Boy kısalığının etiyolojisi araştırılırken neden olabilecek bilinen etiyolojik durumlar dışlandığında ve kişinin gestasyon haftasına göre boy uzunluğu -2 standart sapma skoru (SDS) ve altında olması halinde idiyopatik boy kısalığından söz edilir. Boy kısalıklarının %15-20'sini patolojik boy kısalıkları oluştururken, kısa boylu çocukların yaklaşık %80'i düşük doğum ağırlığı ve/veya herhangi bir boy kısalığına neden olabilecek durum saptanmadığı için idiyopatik boy kısalığı olarak adlandırılır (3). İdiyopatik boy kısalığı tanısı bir nevi dışlama tanısıdır. Çocuklarda boy kısalığının büyük çoğunluğu, uluslararası kabul görmüş tanıma göre idiyopatik boy kısalığı olarak adlandırılabilir (2).

Gama(γ)-glutamil karboksilaz enzimi için bir kofaktör olan K vitamini, kemikte osteoblastik aktiviteyi artırırken, osteoklastik aktiviteyi azaltarak kemik ve kas homeostazında önemli bir rol oynayan osteokalsin (OC) ve matriks gla protein (MGP) de dahil olmak üzere farklı 17 proteinin translasyon sonrası aktivasyonu için gereklidir (4).

Bu çalışmada K vitaminin kemik metabolizmasındaki bilinen etkinliğinden yola çıkarak idiyopatik boy kısalığı tanısı alan çocuklarda K vitamini düzeylerini değerlendirmek ve bu değerlendirme neticesinde idiyopatik olarak tanımlanan grubun etiyolojik sebeplerinin araştırmasına katkı sunabilmek ve eğer boy kısalığı ile K vitamini arasında bir ilişki kurulabilirse, idiyopatik boy kısalığında bir tedavi seçeneği olarak uygun K vitamini takviye stratejilerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Boy kısalığına sahip bireyler yaşamları boyunca toplumun nahos yaklaşımlarına maruz kalabilmektedirler. Psikolojik ve fiziksel olarak bu durumun zorluklarıyla baş etmekte zorlanabilmektedirler. Bunun tam tersine boy uzunluğunun; toplumda sosyal statü kazandırdığı, sağlıklı, başarılı ve prestijli olmayı sembolize ettiği birçok sosyolojik çalışmada ortaya konmuştur. Boy kısalığı ile ilgili yapılan literatür taramasında ilk çalışmanın Dwarfizm’le alakalı olup 1910 yılında yayınlandığı görülmektedir (5).

Ülkemizde de boy kısalığı nedeniyle çocuk hekimlerine, sağlık kuruluşlarına başvuru sıklığı son yıllarda giderek artmaktadır. Boy kısalığı nedeniyle sağlık kuruluşlarına başvuruların etiyojolojiye dönük yapılan çalışmalarda vakaların %85 civarında patolojik olmayan, normalin varyantı olarak değerlendirilen boy kısalığı olduğu bildirilmiştir (6).

Boy kısalığının erken saptanmasının öncelikli şartı büyümenin takibidir. Büyüme intrauterin dönemden itibaren başlar ve en hızlı büyüme bu dönemde gerçekleşir. Bu dönemde annenin var olan hastalıkları, beslenme düzeni, plasentanın durumu, bebekteki patolojik durumlar ve büyüme faktörleri fetusun büyümesinde etkilidir (7). Doğuma doğru boy uzaması azalır vücut ağırlığı artmaya başlar.

Doğumda bir bebeğin boyu ortalama 50 santimetre (cm)’dir. Doğumdan sonra büyüme hızının en yüksek olduğu dönem süt çocukluğu dönemidir. İlk yıl büyüme hızı yaklaşık olarak 25 cm’dir. Dört yaştan sonra yıllık büyüme hızı sabit kalır, en düşük olduğu dönem de ergenlik döneminin hemen öncesidir (4,5-5 cm/yıl). Cinsiyet hormonlarının da etkisiyle ergenlikte büyüme sıçraması görülür. Erkekler ergenliğe 1-2 yıl daha geç girdikleri ve ergenlik süresince kızlara göre 4-5 cm daha fazla boy kazandıkları için son boyları kızlara göre 12-13 cm daha uzundur. Büyüme plaklarının kapanması ile boy uzaması son bulur (8).

2.1. Büyümenin Takibi

Büyümenin değerlendirilmesinde kullanılan en etkin ve önemli yöntem kontrol muayenelerinde boy uzamalarını ölçerek o ülke için oluşturulan ulusal büyüme tablolarında son durumu saptamaktır (7).

Yenidoğanların ve iki yaşından küçük çocukların ölçümlerinin doğru yapılması oldukça zordur (9).

2.1.1. Antropometrik Ölçümler

Vücut ölçülerinin değerlendirilmesi için boy ve vücut ağırlığı ile baş çevresi, göğüs çevresi, bel ve kalça çevresi ile oturma yüksekliği ve kulaç uzunluğu mutlaka ölçülmelidir.

Boy ölçümü kişinin ayakkabıları çıkarılarak yapılmalıdır. İki yaşın üzerindeki çocuklar ayakta, dik pozisyonda, topuklar birbirine ve arka platforma bitişik, baş dik ve karşıya düz bakacak şekilde olmalı, gövde sağa ya da sola eğik olmamalıdır. Topuklar, kalça, omuzun arka yüzü ve başın arkası platforma değmelidir. Ölçülen boy mümkünse milimetrik olarak not edilmelidir. İki yaşın altındaki çocukların boyları yatar pozisyonda, dizleri tam ekstansiyonda ve gövdeleri düzgün postürde iken ölçülmelidir (10). Antropometrik ölçümlerin doğru alınması tanı için oldukça önemli verilerin elde edilmesini sağlar.

2.1.2. Persantil Tabloları ve Eğriler

Çocuğun yaşıtları ile karşılaştırıldığında yüzdelik sıralamadaki yerini belirten değere persantil adı verilir. Büyüme eğrileri yedi persantil çizgisinden oluşur. Bunlar 3, 10, 25, 50, 75, 90 ve 97. persantillere karşılık gelen eğrilerdir. Ölçülen değerin 3. persantil ile 97. persantil aralığında olması normal dağılım olarak kabul edilir. Üç persantilin altındaki değerler yetersiz büyümeyi, 97. persantilin üzerindikiler ise aşırı büyümeyi işaret eder.

Büyüme ve gelişme çocuklarda süregelen bir süreçtir. Değerlendirilmesi ve takibi çocuk hastalıklarının birincil görevleri arasındadır. Akut hastalıklar vücut

ağırlığı persantilinde duraklama ve gerilemeye yol açarken, hastalık uzadıkça ve kronikleştikçe boy ve baş çevresi persantili de etkilenir (11).

Büyümenin takibinde kontrol muayenelerinde ölçülen boy uzunluklarının persantil tablosunda kaydedilmesi önemlidir. Tabloya kaydedilen değerler erken aşamada boy kısalığı durumunu saptamak açısından önemli veriler sağlar. Türk çocukları için Neyzi ve arkadaşları (12) tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada boy, vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi (VKİ) persantil tabloları oluşturulmuştur (13). Persantil tabloları şekil 2.1, şekil 2.2, şekil 2.3, şekil 2.4 ve şekil 2.5'te gösterildi.

Çocuklar için oluşturulan bu persantil eğrileri kullanılarak hem çocuğun kendi büyüme eğrisi kontrolden kontrole değerlendirilir hem de her yaş için uygun eğrilerle kıyaslamalar yapılarak çocuğun o an ki büyüme durumu rakamsal değerler üzerinden ortaya koyulur.

Teknolojinin hayatımıza girmesiyle birlikte büyüme eğrilerini kullanırken ya da ölçümlerin SDS'lerini hesaplarken Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği tarafından pediatrist ve çocuk endokrinolojisi hekimlerinin kullanımına yönelik olarak geliştirilen ÇEDD-Çözüm (<https://www.ceddcozum.com>) veya mobil uygulaması kullanılabilmektedir (14).

2.1.3. Biyokimyasal Laboratuvar Tetkikleri

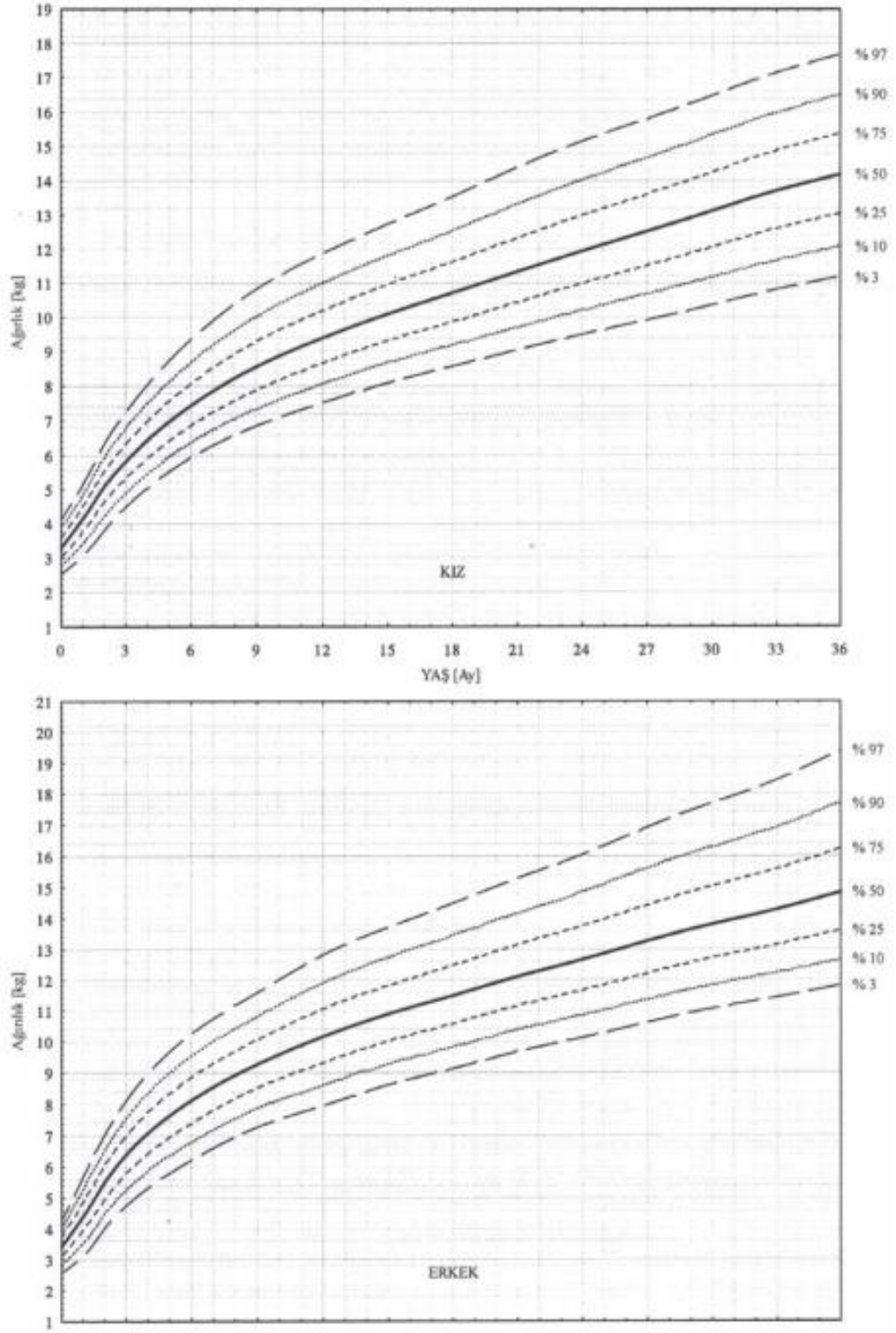
Boy kısalığı, etiyolojik sınıflandırmada uzun bir listeye sahiptir. Boy kısalığına yaklaşım; öz geçmiş, soy geçmiş, fizik muayene rehberliği ile laboratuvar tetkikleri olmak üzere aşama aşama ilerlemelidir (9).

Laboratuvar tetkiklerini boy kısalığı olan tüm çocuklardan istemek yerine klinik değerlendirmelere göre algoritma çerçevesinde belirlenmelidir (15). Daha önce yapılan "The Growth Hormone Research Society" konsensusu asemptomatik kısa çocuklarda altta yatan bir hastalık için rutin laboratuvar taraması yapılmasını önermektedir (2). Fakat yapılan çalışmalarda bu yaklaşımın verimsiz olduğu öne sürülmüştür (16).

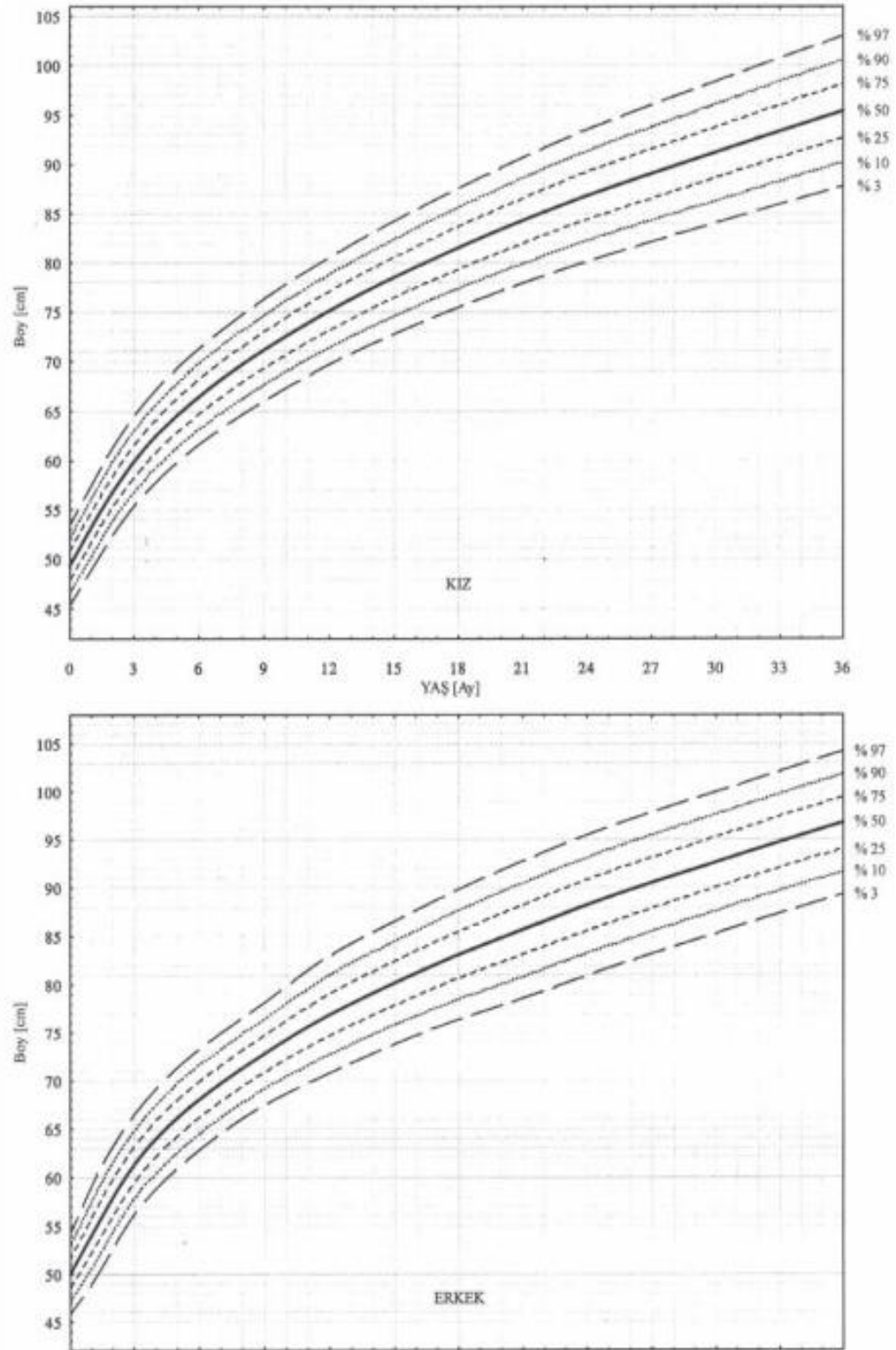
Klinisyenin lüzum görmesi halinde aşama aşama istenebilecek laboratuvar tetkikleri; kan sayımı, eritrosit sedimantasyon hızı, kreatinin, elektrolitler, bikarbonat, kalsiyum, fosfat, total alkalen fosfataz (ALP), albümin, C-reaktif protein (CRP), tiroid uyarıcı hormon (TSH), serbest T4, intakt paratiroid hormon (PTH), total 25-hidroksi (OH) D vitamini, adrenokortikotropik hormon (ACTH), IGF-I, insülin benzeri büyüme hormonu bağlayan protein 3 (IGF-BP3) ve büyüme hormonu düzeyleri olarak özetlenebilir.



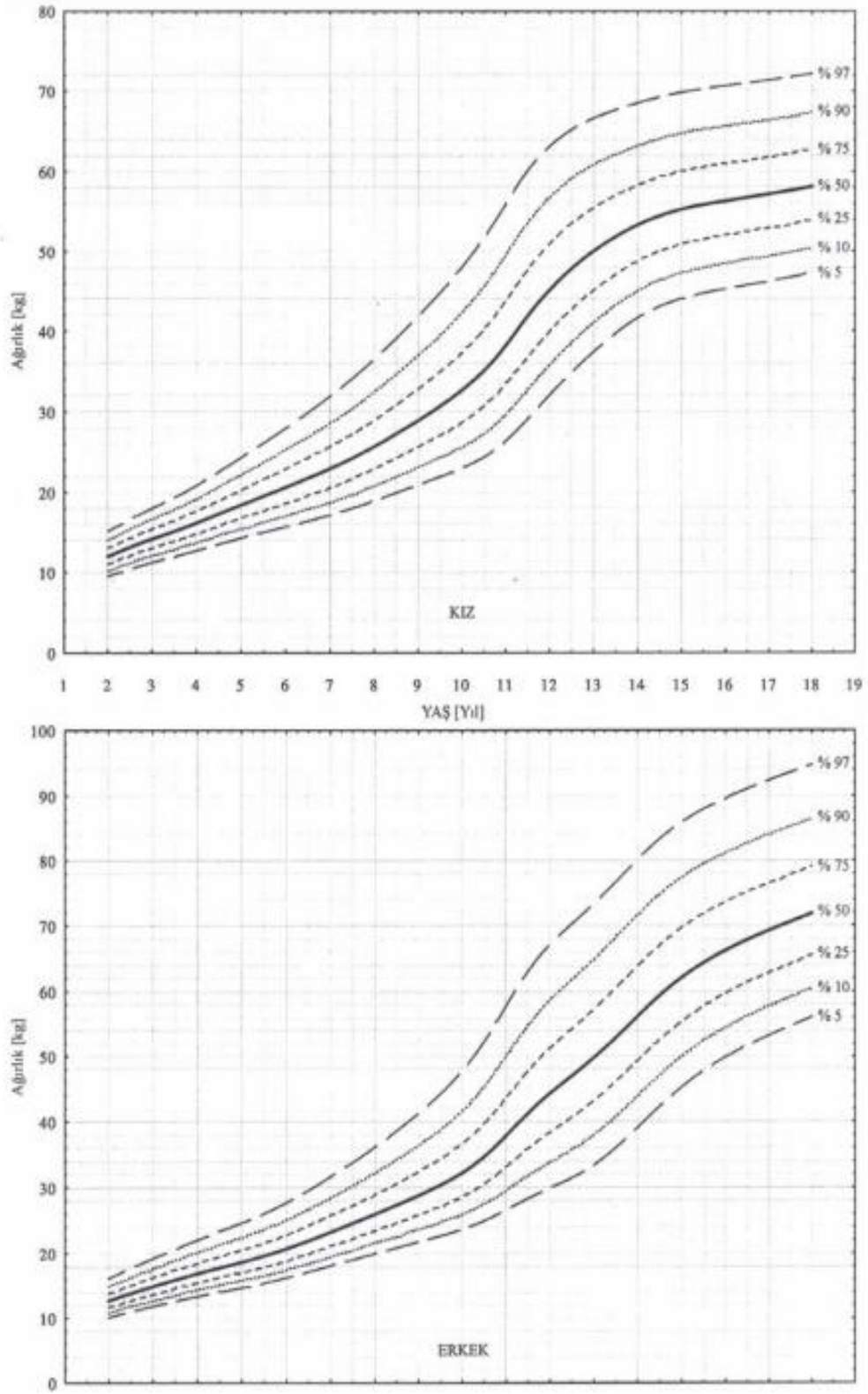
0-18 yaş arası Türk çocuklarının boy, vücut ağırlığı ve VKİ persantil eğrileri



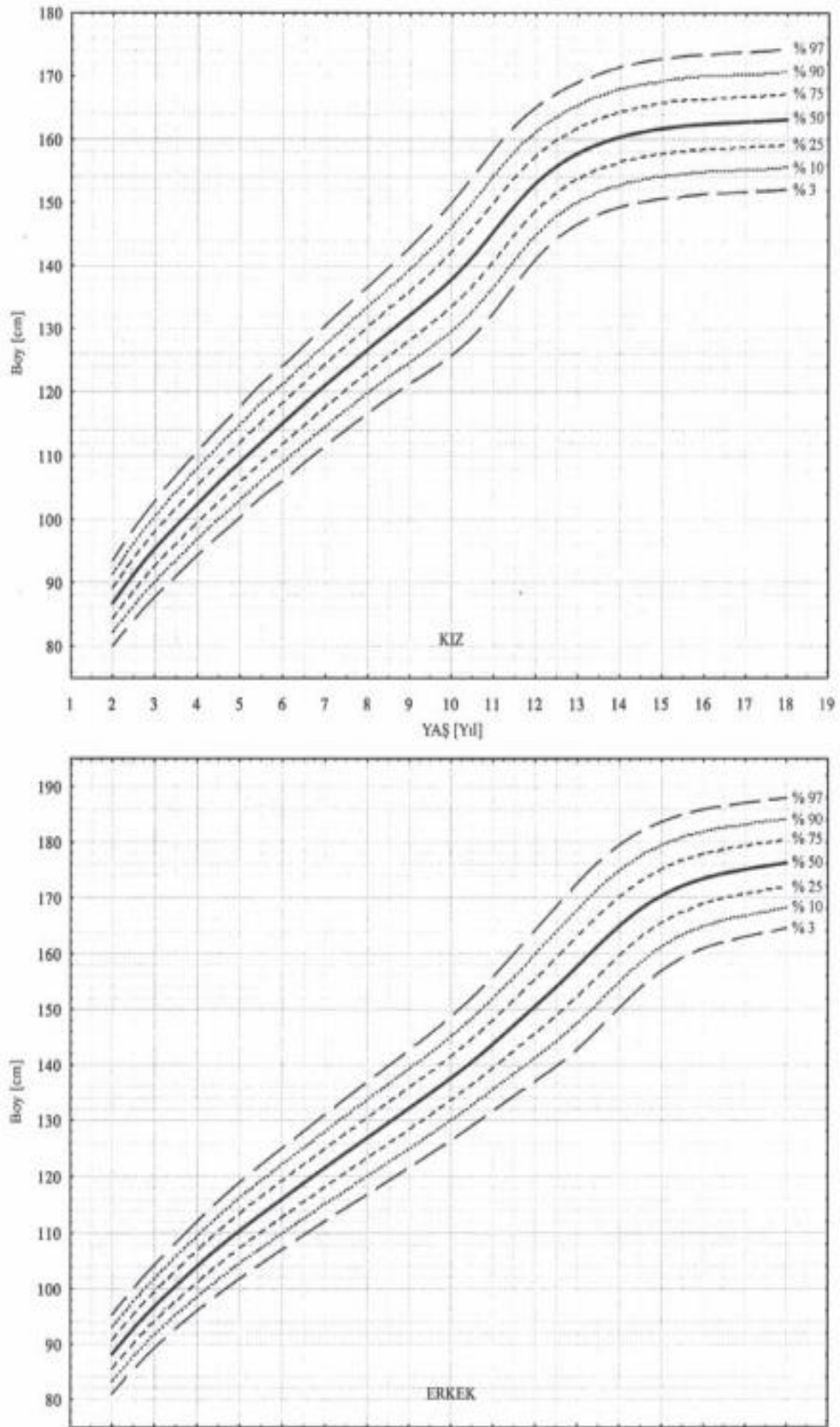
Şekil 2. 1. 0-3 yaş erkek ve kız çocuklarında vücut ağırlığı persantil eğrileri (12).



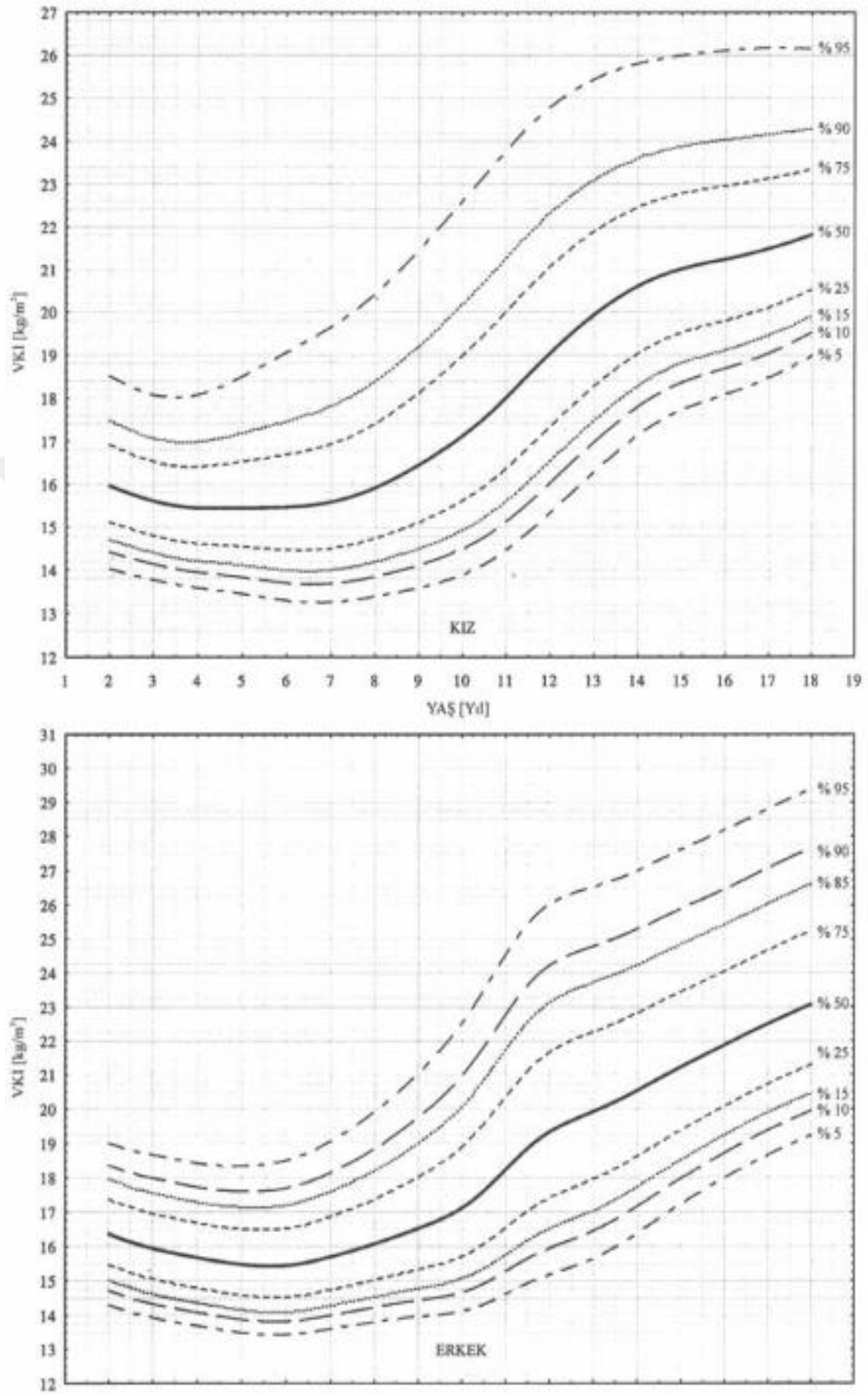
Şekil 2. 2. 0-3 yaş erkek ve kız çocuklarında boy uzunluğu persantil eğrileri (12).



Şekil 2. 3. 2-18 yaş erkek ve kız çocuklarında vücut ağırlığı persantil eğrileri (12).



Şekil 2. 4. 2-18 yaş erkek çocuklarında boy uzunluğu persantil eğrileri (12).



Şekil 2. 5. 2-18 yaş erkek ve kız çocuklarında VKİ persantil eğrileri (12).

2.2. Boy Kısallığının Etiyolojik Sınıflandırılması

2.2.1. Primer büyüme bozuklukları

A. Klinik olarak tanımlanmış sendromlar

- Turner sendromu
- Down Sendromu
- Cornelia de Lange sendromu
- DiGeorge sendromu (velokardiyofasiyal sendrom)
- Noonan sendromu
- Prader-Willi sendromu
- Silver-Russell sendromu

B. Büyüme yakalayamayan (SGA) doğum öyküsü olanlar

C. İskeletin genetik hastalıkları

- Akondroplazi
- Hipokondroplazi
- Diskondrosteoz
- Osteogenesis imperfekta I–VI
- Mukopolisakaridoz (tip IH, IS, II–VII)
- Mukolipidoz (tip II ve III)

2.2.2. Sekonder büyüme bozuklukları

A. Yetersiz besin alımı (malnütrisyon)

B. Organ sistemlerindeki bozukluklar

- Kardiyak bozukluklar

- Pulmoner bozukluklar
- Karaciğer bozuklukları
- Bağırsak bozuklukları
- Kısa bağırsak sendromu
- Böbrek bozuklukları
- Kronik anemi

C. Büyüme hormonu eksikliği (sekonder IGF-I eksikliği)

D. Büyüme hormonu-IGF aksının diğer bozuklukları (primer IGF-I eksikliği ve direnci)

E. Diğer endokrin bozukluklar

- Cushing sendromu
- Hipotiroidizm
- Diabetes mellitus
- İleri kemik yaşına bağlı boy kısalıkları

F. Metabolik bozukluklar

- Kalsiyum ve fosfor metabolizması bozuklukları
- Karbonhidrat metabolizması bozuklukları
- Lipit metabolizması bozuklukları
- Protein metabolizması bozuklukları

G. Psikososyal nedenler

- Duygusal yoksunluk
- Anoreksiya nervoza
- Depresyon

H. İyatrojenik nedenler

- Sistemik glukokortikoid tedavisi
- Lokal glukokortikoid tedavisi (inhalasyon, bağırsak, diğer)
- Diğer ilaçlar
- Çocukluk çağı malignite tedavisi
- Tüm vücut ışınlaması
- Kemoterapi
- İyatrojenik nedenler

2.2.3. İdiyopatik boy kısalığı

2.2.1 Primer büyüme bozuklukları

A. Klinik olarak tanımlanmış sendromlar

Turner sendromu: Canlı doğan kız çocuklarının yaklaşık olarak 100.000’de 50’sinde görülmektedir. X kromozomunun anormallikleri ile ilişkili genetik bir hastalıktır. Turner sendromunda cinsiyet kromozomlarının (X ve/veya Y kromozomları) tamamen veya kısmen yokluğu söz konusudur (17). Hasta fenotip olarak dişidir, ancak gonadlar hipoplaziktir, hatta klasik vakalarda fibröz bant görünümündedir. Turner sendromu, önemli büyüme geriliği sebeplerinden biridir. Fizik muayene bulgusu olarak; yele boyun, ensede düşük saç çizgisi, ayırık meme başları, kubit valgus, konjenital kalp ve böbrek anomalileri önemli bulgulardır. Erişkinlikteki boy uzunlukları çoğunlukla 135-145 cm civarındadır. Kesin tasını karyotip bakılması ile konur (17).

Down sendromu: Zihinsel engellilikle alakalı en yaygın kromozomal patolojik tablodur ve çeşitli ek klinik bulgularla karakterizedir. Dünya çapında canlı doğumların yaklaşık 800’de 1’inde görülür. Trizomi 21 ya ayrılmama (47 kromozomun varlığı ile) ya da ek bir 21. kromozomun başka bir kromozoma

translokasyonu ile oluşur. Prenatal tanı için amniyosentez veya koryon villus örnekleme ile elde edilen karyotipin genetik analizi %99 doğrudur ve Down sendromunun kesin teşhisi için gereklidir. Doğum sonrası fizik muayene, tecrübeli bir klinisyenin tanı koymasında çok önemli bir yer tutar (18).

Cornelia de Lange sendromu: Yaygınlığı 1/10.000 ile 1/60.000 arasında değişen konjenital bir hastalıktır. Prenatal büyüme gelişme geriliği, mikrosefali, gür ve birleşik kaşlar, uzun kıvrık kirpikler, konkavitesi aşağı bakan üst dudak ile karakterize yüz görünümü vakaların tümünde saptanabilmektedir. Tanısı tipik klinik bulgularla konulur (19,20).

Rubinstein Taybi sendromu: Nadir görülen otozomal dominant kalıtılan sendromdur ve yaklaşık görülme sıklığı 125.000 canlı doğumda 1'dir. Doğum sonrası belirginleşen büyüme geriliği mevcuttur. Ergenlik döneminde aşırı vücut ağırlığı veya obeziteye eğilim gözlenebilir. Fizik muayenede; yüzde öncelikle düşük ön saç çizgisi, kalın kaşlar, aşağı eğimli palpebral fissürler, gaga burun, düşük kulaklar, diş patolojileri ve hemen hemen tamamen kapalı gözlerle atipik gülümseme görülebilir (21).

Russel-Silver sendromu: Çoğunlukla şiddetli intrauterin ve postnatal büyüme geriliği ile karakterize klinik ve genetik birlikteliği olan bir hastalıktır. Kraniyofasiyal semptomlar, belirgin alın, mikrognati, aşağı dönük ağız köşeleri ve kulak anomalileri ile karakteristik küçük, üçgen bir yüz görülür. Öğrenme ve konuşma güçlükleri bazı vakalarda eşlik edebilir (22).

Dubowitz sendromu: Düşük doğum ağırlığı, orta derecede mikrosefali, boy kısalığı, cilt döküntüsü, hafif gelişimsel gecikmeler ve artmış malignite riski ile karakterize edilen bir sendromdur (23).

Johnson Blizzard sendromu: Prenatal başlangıçlı büyüme geriliği (%60), zihinsel yetersizlik, sensörinöral işitme kaybı (%75), hipotoni (%80), hafif ila orta derecede mikrosefali (%50) gözlenen otozomal resesif geçtiği bilinen bir hastalıktır (24).

Smith Lemli Opitz sendromu: 7-dehidrokolesterol redüktaz eksikliğinin neden olduğu bir malformasyon sendromudur. Smith-Lemli-Opitz sendromunun

fenotipik spektrumu, davranış ve öğrenme sorunları olan hafif bir bozukluktan ölümcül malformasyonların eşlik ettiği duruma kadar çok geniş spektruma sahiptir. Klinik teşhisi, tahliller neticesinde yüksek 7-dehidrokolesterol bulunmasıyla doğrulanır. Kolesterol seviyesinin normal olması bu hastalığı dışlamaz. Ekstremitte anomalileri sıklıkla bulunmaktadır. Bunlar arasında kısa başparmaklar, tek palmar çizgi, ikinci ve üçüncü ayak parmaklarında sindaktili (yaklaşık %95) bulunur (25).

Noonan sendromu: Belirgin yüz özellikleri, gelişimsel gecikme, öğrenmede zorluk yaşama, boy kısalığı, konjenital kalp hastalığı, böbrek anomalileri, lenfatik malformasyonlar birlikteliğinin bulunduğu birçok sistemin bozuk olduğu genetik bir hastalıktır. Turner benzeri stigmalar, düşük saç çizgisi, yele boyun, kubitus valgus, mikropenis, kriptorşidizm, sensörinöral işitme kaybı, yüksek damak ile karakterizedir. Gonadal disgenezi vardır. Sendromlu kişilerde lösemi ve malignite riski artmıştır. Zeka çoğunlukla normalin alt sınırındadır. Vakaların 1/4'ünde hafif düzeyde zihinsel engel eşlik eder (26).

Prader-Willi sendromu: Gelişme geriliği, zihinsel yetersizlik, obezite, boy kısalığı, hipogonadizm ve dismorfik bulgular ile karakterizedir. Sendromik obeziteye en fazla neden olan hastalıktır. Sendromlu çocuklara intrauterin dönemden itibaren hipotoni ve beslenme güçlükleri eşlik eder. Erken çocukluk döneminden sonra aşırı iştah olur ve bu durumda obeziteye çok sık rastlanır (27) .

B. Büyümeyi yakalayamayan SGA doğum öyküsü olanlar

Gebelik yaşına göre küçük (small for gestation age: SGA) ve intrauterin büyüme geriliği (IUBG) tanımlamaları birbirinden çok farklıdır. SGA, bir bebeğin doğum sonrası, pediatrist tarafından fizik muayenesine göre belirlenir. IUBG ise çoğunlukla kadın doğum uzmanı tarafından tanısı konulan doğum öncesi dönemde olması gereken büyüme oranına sahip olmayan fetusu tanımlayan terimdir. Eğer bebeğin doğum ağırlığı <10 persantil ise, bebek SGA olarak tanımlanır.

IUBG ile ilişkili maternal faktörler içerisinde malnütrisyon, kronik hastalıklar, hipertansiyon, hipoksemi, ilaçlar ve aynı zamanda alkol, sigara, narkotikler bilinen nedenlerdendir. Plasental ağırlıkta ve yüzey alanında azalma, villöz plasentit, enfarkt, tümör, plasental ayrılma, ikizden ikize transfüzyon

sendromu ile plasenta ile ilgili IUBG sebeplerindendir. Fetal sebeplere kromozomal bozukluklar, kronik fetal enfeksiyonlar, konjenital anomaliler, çoklu gebelikler, insülin eksikliği, insülin benzeri büyüme faktörü tip I eksikliği gibi birçok sebep gösterilebilir.

IUBG; simetrik ve asimetrik olarak ikiye ayrılır. Simetrik IUBG’nde baş çevresi, uzunluk ve ağırlık eşit derecede etkilenmiştir, asimetrik IUBG’nde ise baş büyümesi göreceli olarak korunmuştur.

Çoğu çocuk, bir veya iki yaşında genellikle normal gelişimini yakalar. Çocukların %15- 20’si yaşlıları kadar gelişmeyebiliyorlar. Bu çocuklarda verilen büyüme hormonu tedavileri nihai boyu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (19,28,29).

C. İskeletin genetik hastalıkları

İskeletin büyüme ve gelişmesindeki aksaklıklardan kaynaklanır. Ciddi boy kısalığına neden olur. Tıp literatüründe tanımlanmış 400'den fazla iskelet displazisi vardır. Yaklaşık 1/5.000 çocukta görülmektedir. Hafif formları olduğu gibi çocuğun ölümüne neden olabilecek ağır formları da mevcuttur. İskelet displazisinin birçok formu ciddi boy kısalığı ile sonuçlanır bununla birlikte yaşamı tehdit etmez. Bazı durumlarda, neden olan genin iskelet dışındaki dokularda da fonksiyonel rolleri olduğu için diğer organ sistemleri de etkilenir. Örneğin, birçok iskelet displazisi hastasında işitme kaybı vardır. Bu hastalarda nörolojik tutulum ve görme sorunları da eşlik edebilir. Bu tip hastalarda ciddi komplikasyonlar için acil müdahale gerekliliği açısından yakından takip edilmelidir. Günümüzde iskeletin genetik hastalıklarından etkilenen kişiler için herhangi bir farmakolojik tedavi bulunmamaktadır (30,31).

Uluslararası Nozoloji komitesi her beş yılda bir iskelet displazisi konusunda uzman bir ekip tarafından güncellenmektedir. Uluslararası Nozolojinin 2019 yılında yayımlanan güncel versiyonuna göre klinik, radyografik ve moleküler kriterlere göre 42 grup altında incelenen toplam 437 gen defektinden en az birinin etken olarak gösterildiği 461 genetik iskelet hastalığı tanımlanmıştır (30,32).

2.2.2. Sekonder büyüme bozuklukları

A. Yetersiz besin alımı (malnütrisyon)

Büyüme çağında olan çocuğun normal büyüyebilmesi için yeterli beslenme son derece önemlidir. Beslenme bozukluğunun üç aydan kısa süreli olması akut malnütrisyon olarak adlandırılır ve genellikle patolojik bir sebebe bağlı olarak, besin alımında veya günlük beslenme kalitesinde ani azalma ile gözlenmektedir. Çocukların üç aydan daha uzun süre beslenme bozukluğunun etkisinde kalması kronik malnütrisyon olarak adlandırılır ve bu durum kalıcı büyüme-gelişme geriliği ile ilişkilidir. Kronik malnütrisyon, özellikle hayatın hızlı büyüme ve gelişme dönemi olan ilk iki yaşta ortaya çıkarsa daha belirgin etkilere yol açmaktadır (33).

B. Organ sistemlerindeki bozukluklar

Organ istemlerinin sağlıklı olması büyüme gelişmenin eksiksiz olması için olmazsa olmazlardandır. Bir organ sistemindeki anormallik düzen içerisinde işleyen tüm sistemin çalışmasına olumsuz etkisi eder.

Emilim ve alım yetersizlikleri, dolaşım sistemi bozuklukları, üriner sistem bozuklukları, hematolojik anormallikler, solunum sistemi hastalıkları, kronik enfeksiyonlar, kronik hastalıklar uzun dönemde boy kısalığı oluşmasına neden olabilirler.

Çölyak hastalığı glutene karşı gelişen antikorlar sonucu ince bağırsak mukozasına hasara sebep olan otoimmün kronik bir hastalıktır. Oluşan mukozal hasar bağırsaktan besin emilimini kötü yönlü etkileyerek büyümeye negatif etken oluşturur. Hastaların sağlık kuruluşlarına başvuruda görülen şikayetlerinde sıklıkla; ishal veya kabızlık, karın ağrısı, karında gerginlik, vücut ağırlığında azalma gibi gastrointestinal sistem bulguları görülür. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde gastrointestinal sistem dışı bulgular eşlik edebilir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, hastaların %51'nin boyunun -2,5 SDS'nin altında olduğu görülmüştür (34).

Dolaşım sistemi hastalıklarının olması durumunda da doğum sonrası büyüme geriliği saptanabilir. Kaliteli kan dolaşımının gerçekleşmemesi diğer organ

sistemlerini de olumsuz etkiler. Kronik dolaşım sistemi hastalıklarında sık sık hastane yatış ihtiyacı doğabilir. Bu yatışlarda gereken cerrahi ve medikal uygulamalar hastalarda beslenme sorunlarına neden olmaktadır ve bunun sonucunda büyüme geriliği artar. Uygulanan medikal işlemler sonucu sağlıklı hale gelen çocuklar, sonrasında büyüme eğrilerinde yaşıtlarına yakın büyüme ve gelişmeyi yakalayabilmektedirler.

Üriner sistem hastalıklarında boy kısalığı sık karşılaşılan durumlardan biridir. Böbreklerden enerji metabolitlerinin kaybı, elektrolit kaybı, minarellerin kaybı normal büyümeyi olumsuz etkiler. Metabolik asidoz veya metabolik alkaloz, yetersiz 1,25-dihidroksikolekalsiferol yapımı, insülin direnci, kronik anemi ve ikincil etkilerle diğer organ fonksiyonlarının bozulması boy kısalığına sebep olabilir. Bu hastalarda primer hastalığın çözöme ulaştırılması önemlidir. Tedavi sürecinde var olan malnütrisyon, potansiyel hidrojen (pH) iyon bozukluklarının düzeltilmesi büyümenin olumsuz etkilenmemesi için gereklidir.

Solunum sistemi hastalıkları oksijenizasyonu olumsuz etkilediği için büyüme geriliğine neden olur. Akciğer ve pankreas tutulumuyla ilerleyebilen kistik fibrozis hastalarının %17'sinde büyüme geriliği saptanmıştır (35).

Hematolojik sistem hastalıklarında dokulara yeterli oksijen ve diğer metabolitlerin taşınamaması büyüme geriliğine sebep olabilir. Talasemilerde gereken kan transfüzyonları sonucu dokularda artmış demirin oluşturduğu toksik etkide büyüme geriliğini derinleştir.

C. Büyöme hormonu eksikliği (sekonder IGF-I eksikliği)

Büyöme geriliği olan çocuklarda eksikliğinin araştırılması gereken önemli etkenlerden birisi de büyüme hormonu düzeyleridir. Büyöme hormonu eksikliği tanısı alan çocuklara verilecek tedavinin planlaması ölkeler arası farklılıklar göstermektedir. Tanı doğrulandığında vakit kaybetmeden rekombinant büyüme hormonu tedavisi başlanmaktadır. Bu tedaviyle çocuğun yaşıtlarını büyüme açısından yakalama ve erişkinlikte normal büyümeye ulaşılması hedeflenir (36).

Tedavide beklenen büyüme hızı gerçekleşmemişse, tedaviye istenen uyumun gösterilmemesi, enjeksiyonun doğru yapılmaması, BH direnci gibi altta

yatan başka sebepler, hastada var olan kronik hastalıklar, yanlış tanı gibi olasılıklar akla getirilmelidir (37).

D. Büyüme hormonu-IGF aksının diğer bozuklukları (primer IGF-I eksikliği ve direnci)

Bazı çocuklarda normal ve hatta yüksek BH seviyelerine rağmen büyüme geriliği vardır. Bu çocukların IGF-I düzeylerinin çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu tablo primer insülin benzeri büyüme faktörü eksikliği olarak adlandırılır. IGF-I düzeylerinin laboratuvar tetkikleri ile saptanamaması veya çok düşük olması durumunun bilinen en iyi şekli Laron sendromu adı verilen durumdur. Büyüme hormonu normal veya yüksek olmasına karşın IGF-I seviyeleri çok düşüktür. Bu tip hastalarda BH tedavisine yanıt alınamaz ve tedavide IGF-I aparatlarının kullanılması gereklidir (38).

E. Diğer endokrin bozukluklar

Hipotiroidizm dolaşımda tiroid hormonlarının eksikliğinin bulunması halidir. Hipotiroidizm doğuştan veya sonradan gelişmiş olabilir. Tarama programları sayesinde doğuştan hipotiroidi vakaları hızla saptanır ve verilen tedavi neticesinde bireylerin yaşamlarının boyunca karşılaştıkları olumsuzlukların önüne geçilir. Konjenital hipotiroidi saptanan ve tiroid bezi normal yerleşimli olan çocukların yaklaşık %35'inde hipotiroidi kalıcı değildir ve hayat boyu tedavi gerektirmez (28).

Cushing vakalarında olduğu gibi aşırı ACTH salınımı ve bunun sonucundan kanda yüksek miktarda glukokortikoidler bulunması epifiz plaklarının erken kapanmasına ve büyümenin erken sonlanmasına neden olur. Bu tip durumlar da glukokortikoid etkisinin sınırlandırılması tedavi sürecinde büyük önem arz eder (39).

İyi regüle edilemeyen diyabetes mellitus, erken gelişmeye neden olan puberte prekoks, konjenital adrenal hiperplaziler, eksojen steroid kullanımı boy kısalığına neden olan diğer endokrinolojik nedenlerdir.

F. Metabolik bozukluklar

Kemik dokusu, besin alımı veya kısıtlanması durumlarına fizyolojik olarak uyum sağlayan aktif bir dokudur. Kemik yapısının, yaklaşık olarak %35'i proteinden oluşur ve bu proteinlerin çoğunluğu da kolajendir. Geri kalan %65'lik kısmı ise kalsiyum ve fosfor hidroksiapatit kristallerinin oluşturduğu mineral bileşenidir. İskelet dokusu, devamlı olarak osteoblastik ve osteoklastik aktivitelere uğrayarak değişim gösterir (40).

Kalsiyum ve fosfat dengesinde oluşan bozukluklar boy kısalığına neden olabilir. Raşitizm eklem hasarlarına ve boy kısalığına neden olduğu bilinen klasik bir kemik hastalığıdır (41).

Yağ alımı ile kalsiyumun bağırsaktan emilimi arasındaki ilişkiyi aydınlatmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Diyet içeriğinde yağ miktarının gereğinden fazla olmasının kalsiyum emilimini olumsuz etkilediği çalışmalarla gösterilmiştir (42).

Yüksek glukoz alımı ve böbreklerden kalsiyum atılımını araştıran birçok çalışmada, glukoz alımı sonrası kalsiyum atılımının arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda sakkaroz içeriği yüksek gıdalarla beslenenlerde kemik gücünün dengeli beslenenlere oranla anlamlı şekilde azaldığı da belirlenmiştir (43).

G. Psikososyal nedenler

Boy kısalığının duygusal sebeplerini 1967'de "anneden mahrumiyet sendromu" olarak tanımlanmıştır (44). Ebeveyn ilgisinden mahrum çocuklarda büyüme geriliği belirlenmiştir. Çocuğun çevresel şartlarının değiştirilmesi büyüme üzerine olumlu sonuçlanır. Kötü koşullar içerisinde bulunan çocuğun duygusal durumu değiştirilmediği takdirde boy kısalığı kalıcı hale gelir. Ciddi yetersiz gıda alımının büyüme üzerindeki etkilerinin değerlendirmek için yapılan bir çalışmada yetersiz beslenmenin olduğu dönemle şartların düzeltildiği dönem arasında anlamlı istatistiksel farklılıklar elde edilmiştir (45).

Depresyon ve boy kısalığı ilişkisi tam olarak çözülememiştir. Boy kısalığı tanısı alan çocuklarda yapılan değerlendirmelerde depresyon oranı yüksek gözlenmiştir. Bu durum boy kısalığı olduğu için mi depresyonda olduğunu veya

depresyon sebebi ile mi boy kısalığı geliştiğinin araştırılmasını gerektirmektedir (46).

H. İyatrojenik nedenler

Kronik hastalığı sahip olan çocukların hastalığının oluşturduğu olumsuz durumdan ziyade tedavisi için kullanılan ilaç/ajan/uygulamalar boy kısalığının derinleşmesine sebep olur. Tedavide kullanılan steroidler, kemoterapötik ajanlar, tüm vücut radyoterapi uygulamaları boy kısalığına neden olur. Hastaların gerekli olan tedaviler sonucu hedef boylarında 1 SDS'lik kayıp görülebilmektedir. Bu azalma erkek çocuklarda kız çocuklara nazaran daha çoktur (47).

2.2.3. İdiyopatik boy kısalığı

İdiyopatik boy kısalığı, boy kısalığı tanımı için geçerli olan boyun -2 standart sapma skorunun altında olması (3.persantilin altında) ve kişinin belirlenebilen başka bir hastalığa sahip olmamasıdır. Bireyin altta yatan başka bir hastalığının araştırılmasına yönelik fizik muayenesi, laboratuvar tahlilleri ve görüntüleme yöntemleri kullanılır. Bütün bu araştırmalar sonucu etyopatogenezinin belirlenememesi durumunda kişi idiyopatik boy kısalığı tanısı alır (3).

İdiyopatik boy kısalığı tanısının konulmasında kullanılan değerlendirme ölçütleri (48);

- Doğum ağırlığı gestasyona göre normal olmalı,
- Vücut oranları normal olmalı,
- Kronik hastalık bulgusu olmamalı,
- Psikiyatrik veya duygusal bir bozukluk bulunmamalı,
- Beslenme durumu normal olmalı,
- Endokrin bir sorunu olmamalı,
- Büyüme hızı normal ya da normalin alt sınırında olmalıdır.

İdiyopatik boy kısalığı tanısı alan çocuklar yeme alışkanlığı bakımından normal çocuklardan farklılık gösterebilirler ve vücut kitle indeksleri sağlıklı çocuklara nazaran biraz düşük olabilir. Beslenme alışkanlıklarındaki farklılığın boy kısalığına neden olduğu düşünülmemektedir (3).

Boy kısalığı dışında belirgin şikayeti olmayan sağlıklı olan kısa boylu çocuklarda etyopatogenezin aydınlatılması için yapılan çalışmalar etkin maliyet ve fizibilite tartışmalarına sebep olmaktadır (49).

İdiyopatik boy kısalığına sahip çocukların belirlenebilmiş bir nedeni yoktur, durum çok heterojendir ve ailesel veya ailesel olmayan özellikte olabilir (13).

Kişinin yetişkin boyunu; genetik olarak sahip oldukları, doğumundan itibaren maruz kaldığı çevresel etkenler gibi birçok faktörün birleşimi tarafından belirlenir. Esasında hiçbir yöntem yetişkin boyunun ne olacağını net ve doğru bir şekilde tahmin edemez. Kullanılan tahmin yöntemleri arasında ciddi farklılıklar olabilmektedir. Kişinin biyolojik ailesine ait boyları, boy takip çizelgeleri, iskelet gelişim basamakları gibi veriler kullanılarak yetişkin boyu tahminleri geliştirilmektedir. Elde edilen verilerle çocuğa uygulanacak tedavi yaklaşımlarına karar verilir. Çoğu toplumda, erkek bireyler için tahmin edilen <160 cm boy ve kız bireyler için tahmin edilen <150 cm boy kısa boy olarak kabul edilmektedir (9).

Çocuğun nihai boyuna yönelik tahmin; erkek çocuklar için (anne boyu + baba boyu + 13) / 2 $\pm$ 7, kız çocuklar için (anne boyu + baba boyu - 13) / 2 $\pm$ 7 formülü ile hesaplanır. Bu hesaplama "hedef boy" olarak da bilinir. Formül için gerekli olan anne ve baba boyları mümkünse değerlendiren kişiler tarafından ölçülmesi daha uygun olur. Hedef boy ile elde edilen değer persantil eğrileri kullanılarak yorumlanır (9).

Çocuğun kemik yaşı incelendiğinde kemik yaşı ile takvim yaşı arasında uyumsuzluk saptanabilir. Bu durumlarda kemik yaşı esas alınarak değerlendirme yapılmalıdır. Çocuğun belirlenen hedef boyu ebeveyn boylarıyla kıyaslanarak ebeveyn boylarıyla uyumlu ise normalin bir varyantı kabul edilen ailesel boy kısalığı olarak kabul edilir. Ebeveyn boyları ile uyumsuz ise anormal ölçüde kısa kabul edilebilir (9).

Ailevi boy kısalığı ve yapısal boy kısalığı tanımları idiyopatik boy kısalığı tanımının içerisinde değerlendirilir (2).

Ailesel (veya genetik) boy kısalığı, boy kısalığı olmasına rağmen normal büyümenin bir çeşidi olarak kabul edilir. Bu tip çocukların ebeveynleri toplumsal boy ölçütlerinin alt kısımlarında yer alırlar. 10 persantilin hatta 3 persantilin altında boy uzunluklarına sahiplerdir. Ailesel boy kısalığı olarak değerlendirilen çocuklar genetik materyallerini ebeveynlerinden aldıkları için var olan boyları ve hedef boyları aile ile uyumludur. Bu çocukların puberte başlangıcı ve kemik yaşının, takvim yaşı ile uyumlu olduğu görülmektedir (50).

Kısa anne-babaya sahip çocukların kısa olması beklenen bir durum olmakla beraber bu çocuklar toplumsal normallerde boy uzunluğuna da sahip olabilirler. Ailevi boy kısalığını tespit etmek için yukarıda da bahsedildiği gibi ebeveyn boylarının ortalaması kullanılır. Hedef boy belirlenen aralığın içerisinde ise büyük olasılıkla kişi ailevi boy kısalığıdır (51).

Yapısal büyüme ve ergenlik gecikmesi, normal büyümenin başka bir yaygın varyasyonunu temsil eder. Bu kişilerin ergenlikleri yaşitlarına göre daha geç başlar. Kişilerin soy geçmişlerinde geç ergenliğe girme öyküsü mevcuttur. Kemik yaşları yaşitlarının gerisinde olabilir. Yaşları itibari ile persantil eğrilerinin alt kısmında bulunur. Ergenliğe girdikten sonra hızlı ergenlik büyümesi ile yaşitlarını yakalayabilir veya bulunan persantil eğrilerinde üst basamaklara çıkarlar. Yapısal boy ve ergenlik gecikmesi tanısı alan çocuklar için tedavi zorunluluğu yoktur. Takipleri esnasında bazı çocuklara gerekli görülmesi halinde erkeklere androjen, kızlara östrojen tedavisi uygulanabilir (9).

Kız çocukları 13 yaşına ulaşmasına rağmen Tanner evre 2'de kalmışsa ve erkek çocukları 14 yaşına ulaşmasına rağmen testis volümleri 4 mililitre (mL)'den az ise gecikmiş ergenlik olarak tanımlanır. Bununla birlikte kızlarda 13, erkeklerde 14 yaşından önce puberte başlangıcının zamanlaması konusunda kesinlik elde edilemeyeceği kabul edilmelidir. Kız çocuklarında 13 yaş ve erkek çocuklarında 14 yaş puberte başlangıçları için belirlenen son yaşlar olduğu için bu yaşlar öncesinde kemik yaşı tespiti başvurularını doğru değerlendirmek çok önemlidir (3).

Boy kısalığı olgularında bireylerin normalin varyantı olarak kabul edilen ailesel boy kısalığı veya yapısal boy kısalığı tanıları pediatristler tarafından konur. Bu tip olgularda pediatristler süreci gerekli şekillerde yönetirler (50).

2.3. K Vitamini

K vitamini lipofilik yapısı sayesinde yağda iyi çözüldüğü bilinen bir metabolittir. İlk kez 1929 yılında Danimarkalı bilim insanı Henrik Dan tarafından bölgede bulunan tavuklarda görülen kanama bozukluklarının araştırılması esnasında tespit edilmiştir (52). Vitaminin K harfini almasının sebebi vitamine dair ilk keşiflerin Danca dili (Danimarka'da konuşulan, İskandinavca) bir dergide yayımlanması ve vitaminin pıhtılaşmada rol alması nedeniyle bu yazılarda Koagulations-vitamin şeklinde yer almasından gelir. Takip eden yıllarda yapılan çalışmalarda kimyasal yapısının 2-metil-1,4 naftakinon olduğu saptanmıştır (53–56). Henrik Dan, Amerikalı bilim insanı Edward A. Doisy ile 1943 yılında K vitamini keşfi ve kimyasal yapısının aydınlatılması nedeniyle Nobel Ödülü almıştır (57).

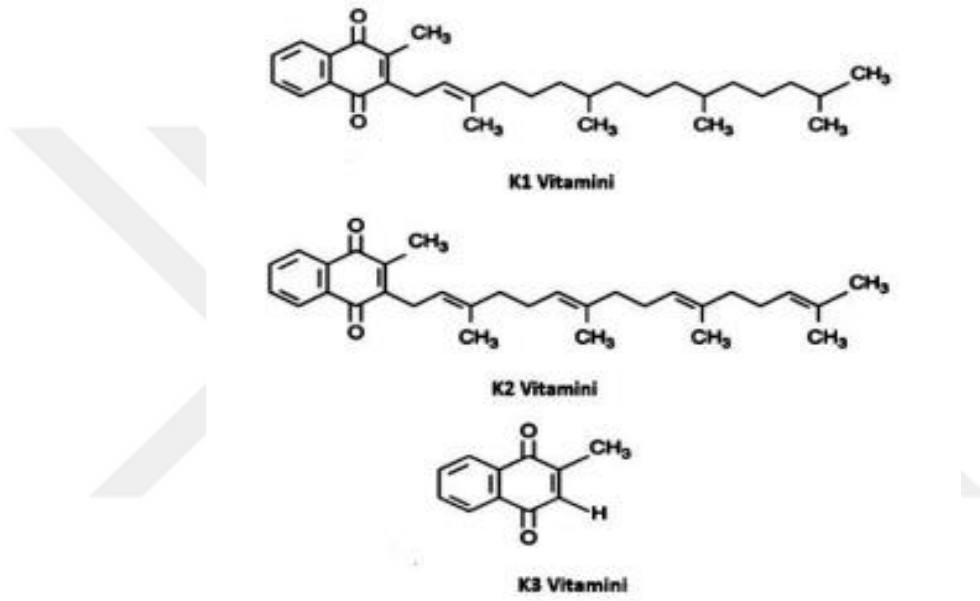
K vitamini formları ortak olarak 2-metil-1,4 naftakinon halkasını bulundurur. Doğal olarak bulunan iki formu ve sentetik olarak üretilmiş bir formu dahil toplamda üç formu bulunmaktadır (58).

Filokinon olarak adlandırılan K1 vitamini yeşil yapraklı; kivi, avokado, üzüm, brokoli, marul, maydanoz, ıspanak gibi sebze ve meyvelerde mevcuttur. Besinler ile alınan K vitamininin büyük kısmı filokinon formundadır (59). Filokinon yapısında, 4 adet izopren birim içeren yan zincir bulunur.

Menakinon olarak adlandırılan K2 vitamini hayvansal besinlerle alınmakla birlikte bağırsak mikrobiyotası tarafından da sentezlenir. Natto (fermente soya), tavuk, yumurta sarısı gibi besinlerde de bulunmaktadır. İçerdikleri izopren yan zincir sayılarına göre farklı menakinon formlarından bahsedilir, menakinon (MK)-4'ten MK-13'e kadar adlandırılır (60). En yaygın formu menakinon-4 formudur (61).

Besinlerle oral olarak alınan filokinon yapısının, bağırsaklarda endoplazmik retikulumda bulunan UbiA prenilttransferaz domain içeren protein-1 (UBIAD1) enzimi ile MK-4'e dönüştürülebildiği gösterilmiştir (62).

Menadion olarak adlandırılan K3 vitamin formu kimyasal olarak üretilir. Yan zincir içermez ve suda çözünür formdur. Alımı sonrası karaciğerde işlem sonucu aktif form olan menakinon formuna dönüştürülür (63). K vitamini formlarının kimyasal yapıları şekil 2.6'da gösterildi.



Şekil 2. 6. K vitamini formlarının kimyasal yapıları (64).

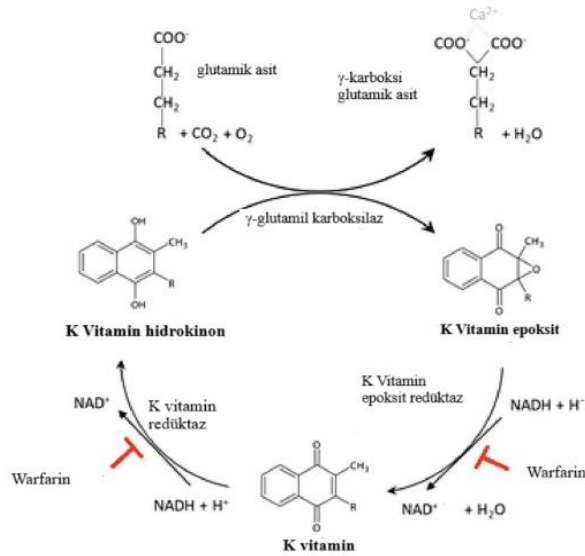
2.3.1. K Vitamini Emilimi

K1 vitamini ince bağırsağın jejunum bölgesinden aktif transport ile emilir. Besin, alınan takviye ve çok az miktarda mikrobiyaya kaynaklı K2 vitamini ise ince bağırsakta pasif difüzyon yolu ile emilir. Yağda çözünür özelliğinden dolayı iyi emilebilmesi için ortamda safra tuzları ve pankreatik lipaz gerekliliği vardır (65). Emilim oranları yan zincir uzunluklarına göre değişiklik gösterir. Ne kadar uzun yan zincire sahipse emilimleri o kadar zorlaşır (66). K vitamini kanda lipoproteinler tarafından taşınır. Farklı yarılanma ömürlerine sahiptirler. K1 vitamini kanda yaklaşık 4 ila 10 saat arasında saptanabilirken diğer formları 96 saate kadar kanda tespit edilebilir (67).

K vitamininin günlük alınması önerilen miktarı ülkeden ülkeye değişiklik gösterebilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde kadınlar için önerilen miktar 90 mikrogram (μg) /gün, erkekler için önerilen miktar 120 μg /gündür (59). Avrupa ülkelerinde genel olarak 70 μg /gün önerilmektedir (68) Dünya Sağlık Örgütü (WHO) günlük alınması gereken miktarı 1 μg /kilogram/gün olarak önermiştir (69).

2.3.2. K Vitamini Metabolizması ve Fonksiyonu

K vitamini γ -glutamil karboksilaz enziminin kofaktörü olarak görev alır. γ -Glutamil karboksilaz enzimi proteinlerin glutamat (Glu) kalıntılarına karboksil grubu ekleyerek onları aktif formları olan karboksiglutamat (Gla) haline dönüştürür. Bu reaksiyon şu şekilde özetlenebilir; K vitaminin indirgenmiş formu olan hidrokinon formu γ -glutamil karboksilazın gerçekleştirdiği reaksiyona eşlik ederek K vitamini 2,3-epoksit formuna yükseltgenir. 2,3-epoksit formu Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hidrojen ($\text{NADH} + \text{H}^+$) eşliğinde K vitamin epoksit redüktaz enzimi ile K vitamini formuna indirgenir, K vitamini de $\text{NADH} + \text{H}^+$ eşliğinde K vitamin redüktaz enzimi ile tekrar K vitamin hidrokinon formuna indirgenir (70). K vitamini döngüsü ve warfarin inhibisyonu şekil 2.7'de gösterildi. Antikoagülan amaçlı kullanılan warfarin grubu ilaçlar, K vitamin redüktaz ve epoksit redüktaz enzimlerini inhibe ederek döngüyü engeller (71).



Şekil 2. 7. K vitamini döngüsü ve warfarin inhibisyonu (72).

Aktif formlarına dönüşebilmek için K vitaminine ihtiyaç duyan K vitamini bağımlı proteinler olarak adlandırılan proteinler vardır. Bu proteinler: koagulan proteinler olan faktör 2, 7, 9, 10, MGP, büyümeyi durdurmaya özgü protein-6 (Gas6), antikoagulan proteinler C, S ve Z, osteokalsin, Gla açısından zengin protein (GRP), periostin (1–4 izoformları), periostin-benzeri faktör (PLF), Prolin açısından zengin Gla proteini (PRGP) 1, PRGP2, transmembran Gla proteini (TMG) 3 ve TMG 4 olmak üzere 17 adettir (73–75).

Tablo 2.1'de, farklı Gla proteinlerinin ve işlevlerinin bir özeti gösterilmektedir (76).

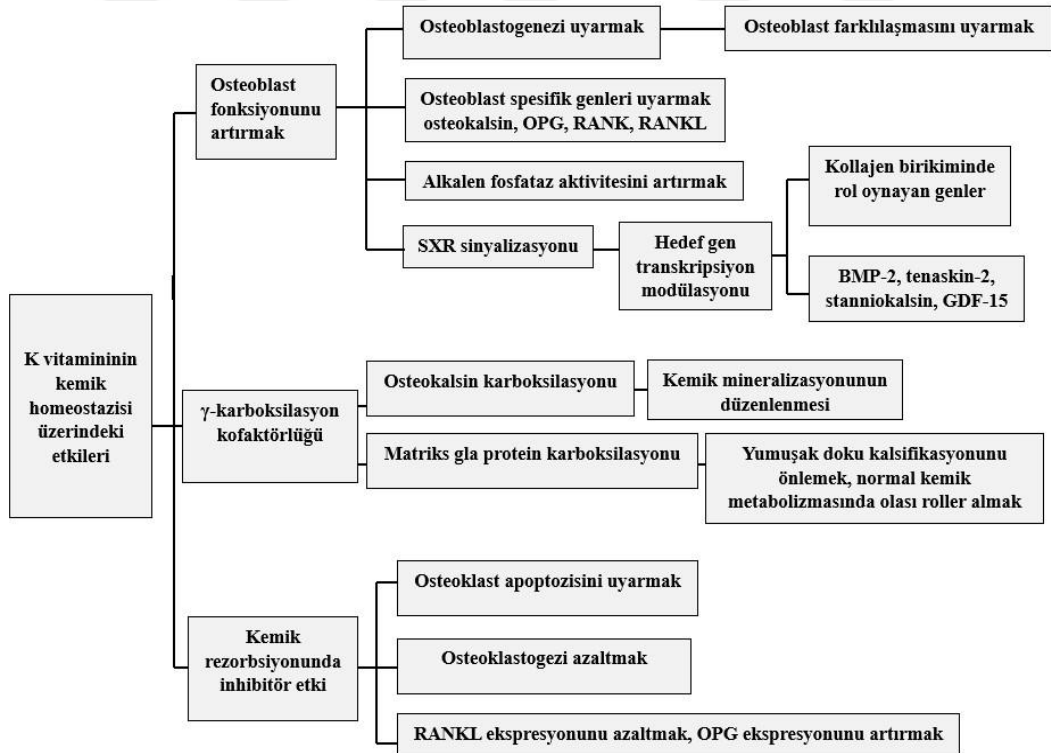
Tablo 2. 1. Gla proteinleri, sentez yerleri ve fonksiyonları.

Gla proteinleri	Sentez Yeri	Fizyolojik fonksiyonu
Pıhtılaşma faktörü II (protrombin)	Karaciğer	• Pro-koagulan
Pıhtılaşma faktörü VII (prokonvertin)	Karaciğer	• Pro-koagulan
Pıhtılaşma faktörü IX (antihemofilik faktör B)	Karaciğer	• Pro-koagulan
Pıhtılaşma faktörü X	Karaciğer	• Pro-koagulan
Antikoagulan protein S	Karaciğer	• Antikoagulan • Anti-inflamatuar • Bağışıklık düzenleme • Apoptotik hücre temizlenmesinin düzenleyicisi • Damar oluşumunu destekleyici • Anjiyogenezi destekleyici
Antikoagulan protein Z	Karaciğer	• Antikoagulan
Prolin açısından zengin Gla proteini-1 (Proline-rich Gla protein) 1)	Omurilik	• Sinyal iletimi
Prolin açısından zengin Gla proteini-2 (Proline rich Gla protein) 2)	Tiroid	• Sinyal iletimi

Transmembran Gla proteini-3	Kalp, Beyin, Böbrek	• Protein döngüsü • Hücre döngüsü ilerlemesi • Sinyal iletimi
Transmembran Gla proteini- 4	Böbrek, Pankreas, Plasenta	• Protein döngüsü • Hücre döngüsü ilerlemesi • Sinyal iletimi
Osteokalsin (OC)	Kemik	• Kemik homeostazının düzenleyicisi • Kemik mineral yoğunluğu • Sistemik glukoz, enerji metabolizması
Matriks Gla Proteini (MGP)	Akciğer, Kalp, Böbrek	• Yumuşak doku mineralizasyonunun inhibitörü
Büyümeyi durdurmaya özgü protein-6 (Growth arrest-specific protein-6 (Gas 6))	Beyin, Kalp, Akciğer, Böbrek	• Anti-vasküler kalsifikasyon • Hücre proliferasyonunun düzenleyicisi • Hücre göçü • Hücre apoptozu • Hücre yaşlanması • Anti-inflamatuar
Gla açısından zengin protein (Gla-rich protein (GRP))	Kemik, Kıkırdak	• Osteojenik farklılaşmanın inhibitörü • İskelet homeostazının düzenleyicisi • Anti-vasküler kalsifikasyon • Anti-inflamatuar
Periostin	Periosteum, Periodontal ligament	• Periosteum aktivasyonunun düzenleyicisi • Kardiyak fibrozisin düzenleyicisi • Hücre proliferasyonunu destekleyici • Hücre farklılaşmasını destekleyici • Hücre yapışmasını destekleyici • Anjiyogenezi destekleyici
Periostin-benzeri faktör (Periostin-like-factor)	Kalp, Kemik, Damar düz kas hücreleri	• Osteoblast proliferasyonunu destekleyici • Osteoblast farklılaşmasını destekleyici

2.3.3. K vitamininin Kemik Sağlığı Üzerindeki Etkileri

K vitamininin kemik homeostazisinde çok önemli rolleri bulunmaktadır. Osteoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını etkiler. Osteoblastlarda apoptozisi inhibe eder. Alkalen fosfataz aktivitesini artırarak anabolizan etki oluşturur. Osteoprotegerin (OPG) gibi sitokinlerin ekspresyonunu uyararak ve osteoblastlar/osteoklastlar üzerindeki nükleer faktör kappa-B ligandı reseptör aktivatörü (RANKL) ekspresyonunu inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu baskılar ve osteoblast farklılaşmasını artırır. Gen transkripsiyonunu düzenleyen bir nükleer reseptör olan steroid ve ksenobiyotik reseptörünü (SXR) üzerinden osteoblastik genlerin ve hücre dışı matriksle ilişkili genlerin transkripsiyon sayısının artışı sağlar. Tenascin C ve kemik morfogenetik protein-2 (BMP-2) genlerinin ekspresyonunu artırır. Büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF-15) ve stanniokalsin genlerinin aktivasyonunu sağlar. Osteokalsin, MGP gibi K vitamini bağımlı proteinlerin γ -karboksilasyonunu sağlar. K vitamininin kemik homeostazisi üzerindeki etki mekanizmaları şekil 2.8’de gösterildi (77).



Şekil 2. 8. K vitamininin kemik homeostazisi üzerindeki etki mekanizmaları (77).

Osteokalsin, kemik matriksinde en bol bulunan non-kollajen küçük (49 amino asit içeren, 6kDa'luk) bir proteindir, aynı zamanda kemik Gla proteini (osteokalsin) olarak da adlandırılır. Başlıca olgunlaşmış osteoblastlar (aynı zaman da odontoblastlar ve hipertrofik kondrositler) tarafından kemik matriksine salgılanır (78). Osteokalsin, 17, 21 ve 24. amino asitlerdeki üç γ -karboksiglutamat kalıntısı aracılığıyla hidroksiapatit kristallerine bağlanır ve kemik matriksinde mineralizasyonu sağlar. Proteine γ -karboksiglutamat kalıntılarının eklenmesi, K vitaminine bağımlıdır (79). Osteokalsin karboksile olmamış durumda hidroksiapatite bağlanamaz (80).

Osteokalsin geninin transkripsiyonu ve translasyonunda 1,25 dihidroksivitamin D₃ vitamini görev alır (81). Aktif osteokalsin anormal hidroksiapatit kristal oluşumunu engeller ve hızlı kırıldak mineralizasyonunu inhibe eder (82). Serum ankarboksile osteokalsin (ucOC) düzeylerinin yüksek oluşunun K vitamini eksikliğini belirlemede yardımcı olabileceği belirtilmiştir (83). Menakinon-7 (MK-7)'nin günlük 100 mikrogram ve üzeri alımları karboksile osteokalsin (cOC) düzeylerinin istenilen seviyede olmasını sağladığı gösterilmiş ve bu durumun kemik sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu ifade edilmiştir (84). Kanda yüksek ankarboksile osteokalsin seviyelerinin K vitamini eksikliğini göstermesi yanında artmış kemik kırığı riskini de gösterebileceği ifade edilmiştir (85). Farelerde yapılan bir çalışmada ovaryumların alınan deneklere verilen menakinon-4 (MK-4) takviyesinin kemik sağlığını artırdığı bildirilmiştir (86). Yapılan bir *in-vitro* çalışmada ise osteokalsinin erken aşamada osteoklast farklılaşmasını engellediği gösterilmiştir (87). K2 vitamininin osteoblast oluşumunu artırdığı ve apoptotik genleri inhibe ederek osteoblast ölümünü engellediği gösterilmiştir (88) Ek gıda (suplement) olarak verilen MK-7'nin osteojenik farklılaşmaya olumlu katkı yaptığı tespit edilmiştir (89). K vitamininin kemik oluşumuna olumlu etkilerinin olmasının yanı sıra kemik yıkımını da azalttığı gösterilmiştir (90,91). K vitamininin osteoblastik aktivite göstergesi olan alkalen fosfataz seviyelerini artırdığı belirlenmiştir (92). Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda K vitamini kemikte osteokalsin ve hidroksiapatit kristal miktarına pozitif etki ettiği tespit edilmiştir (93,94).

Dolaşımdaki osteokalsin kısa ömürlüdür (yarı ömrü yaklaşık 5 dakikadır) ve hızla parçalara ayrılır. Proteolitik bozulmaya bağlı olarak, hastaların serumunda hem tam hem de parçalanmış osteokalsin saptanabilir. Osteokalsin formlarının yaklaşık üçte biri (%49'a kadar olabilir) intakt osteokalsin molekülü olarak (amino asitler 1-49), üçte biri (%40'a kadar olabilir) osteokalsinin N-terminal orta parçası (N-terminal midfragment of osteocalcin=N-mid osteocalcin) olarak (amino asitler 1-43) ve son üçte biri C-terminal parçası olarak (amino asitler 44-49) bulunmaktadır. Serumda farklı olarak daha küçük parçalar (amino asitler 1-19, 20-43) da tespit edilmiştir (95). Osteokalsinin matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon kütle spektroskopik immünoassay yöntemi kullanılarak yapılan detaylı analizlerinde, 12'den fazla fragmenti olduğu gösterilmiştir (79).

Osteokalsinin dolaşıma salınan karboksile olmamış veya az karboksile olmuş osteokalsin formları da vardır (96). Üçten az Gla kalıntısı içeren osteokalsin, 'az karboksile osteokalsin' olarak adlandırılır". Az karboksile osteokalsin, immünoassay teknikler ile direkt veya karboksile osteokalsinin hidroksiapatitler aracılığıyla çöktürüldüğü yine osteokalsin ölçümleri kullanılarak indirekt olarak ölçülebilir. Toplam osteokalsinin %50'sine kadarını oluşturabilir ve düzeyleri besin ile alınan K vitamini miktarı ile ilişkilidir. Bu ilişkiye bağlı olarak kandaki K vitamini durumu, karboksile ile az karboksile osteokalsin oranı hesaplanarak değerlendirilebilir ve ortalama değeri yaklaşık 1.2'dir. Her ne kadar karboksile osteokalsin yüzdesi, K vitamini durumu ile ilişkili bulunsun da ve toplam osteokalsin ile sadece zayıf bir korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (97).

MGP; vasküler düz kas hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından üretilir ve dolaşıma salgılanır. Kalp, deri ve arter duvarı gibi dokularda yer alır (98). MGP, fosforilasyona ve/veya karboksilasyona uğrayabilir. Bu halleri farklı etkiler ortaya koyar. Karboksilasyona uğrayan MGP, kan damarlarındaki kemik morfogenetik protein 2 ile ortak yapı oluşturarak damara kalsiyum fosfat çökmesini engelleyerek güçlü bir endojen vasküler kalsifikasyon inhibisyonu sağlar (99). MGP knockout fare modelinde, büyüme plağını da içeren kıkırdak yapılarında kalsifikasyon, boy kısalığı, osteopeni ve kırıkların olduğu görülmüştür. Bu farelerde aynı zamanda arteriyel kalsifikasyonun yoğun olarak görülmesine bağlı

olarak, damar duvarı rüptürü ve prematüre ölümlerin de ortaya   ıktı   belirtilmiştir (100). Keutel Sendromu, MGP genindeki mutasyon nedeniyle oluşan nadir görülen diffüz kartilaj kalsifikasyonu, pulmoner stenoz, fasial hipoplazi ve distal falanksların anormal kısalığı ile karakterize otozomal resesif geçen bir hastalıktır (101). K vitamini eksikliği halinde defosforile ankarboksile MGP seviyelerinin artacağı bu durumun inflamasyona ve kemik mineral yoğunluğunun (BMD) azalmasına neden olabileceği d            r (102). Farelerde yapılan farklı bir çalışmada, K vitamininin MGP ekspresyonunu artırabileceği d             ve artan MGP'nin osteoklast aktivitesini engelleyerek kemik sağlığına olumlu katkı sağladığı tespit edilmiştir (103).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından **TTU-2021-5765** numara ile kabul edilen çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından **karar no: KAEK-220 (tarih: 28.04.2021)** ile onaylanmıştır (**Ek-1**). Çalışmaya dahil edilen tüm İBK ve kontrol grubundan aydınlatılmış onam formu alınmıştır. Bu aydınlatılmış onam formu **Ek-2**'de gösterilmiştir.

3.1. Olguların Seçilmesi

Çalışmamıza Ocak 2022 - Aralık 2022 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran ve yerel etik ilkeler gereğince bilgilendirilmiş yazılı onamı alınan idiyoPATİK boy kısalığı tanısı ile izlenmekte olan veya yeni tanı almış, 2-14 yaş aralığında kız ve erkek çocuklardan oluşan 44 gönüllü çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubuna herhangi bir sağlık sorunu olmayan boyu normal (>-2 SDS), yaş ve cinsiyet dağılımı İBK grubuna benzerlik gösteren 44 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir.

3.2. Dışlama Kriterleri

- Kronik hastalığı olanlar
- Endokrinolojik bozukluğu olanlar
- Beslenme bozukluğu olanlar
- Kromozom anomalisi, sendrom tanılı olanlar
- İntrauterin büyüme gelişme geriliği veya düşük doğum ağırlıklı olanlar
- İskelet displazilerinden herhangi birine sahip olanlar
- Kemik metabolizma bozukluğu (raşitizm) olanlar veya bununla ilgili ilaç kullananlar
- Hipofosfatemik raşitizm tanısı almış olanlar
- Uzun süreli steroid tedavisi alanlar

3.3. Laboratuvar Çalışmaları

3.3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışmaya dahil edilen tüm gönüllülerden aydınlatılmış yazılı onam alındıktan sonra örnek alım kılavuzlarına uygun şekilde venöz kan örnekleri; jelli biyokimya tüplerine, eser element tüplerine ve potasyum 2-etilen diamin tetra asetik asit (K2-EDTA) tüplerine alındı (104). K2-EDTA tüplerine alınan örneklerden önce hemogram testi çalışıldı. Daha sonra tüm tüpler 4000 dakika (dk) başına devir (rpm)'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kan örneklerinin serum ve plazma kısmı cryo tüplere ayrılarak, testlerin çalışılacağı zamana kadar -80 santigrat derece (°C)'de saklandı.

Çalışmaya katılan tüm gruplarda; hemogram, çinko, IGF-I, IGF-BP3, albümin, kalsiyum, fosfor, total alkalin fosfataz, intakt PTH, CRP, magnezyum, glukoz, total kolesterol, trigliserit, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol, total 25-hidroksi D vitamini, K vitamini (filokinon, menakinon-4 ve menakinon-7 formları), N-mid osteokalsin, MGP, ankarboksile osteokalsin testleri çalışıldı.

3.3.2 Kullanılan Malzemeler

- 1- Tek kullanımlık enjektör (10 mL) lik)
- 2- Sarı kapaklı jelli biyokimya tüpü (8 mL'lik)
- 3- Mor kapaklı K2-EDTA tüpü (6 mL'lik)
- 4- Mor kapaklı K2-EDTA tüpü (10 mL'lik)
- 5- Lacivert kapaklı eser element tüpü
- 6- Steril cryo tüp (2 mL'lik)
- 7- Derin dondurucuda örnek saklama kutuları
- 8- Otomatik pipet (A.B.T.® 10-100 mikrolitre (µL), A.B.T.® 100 µL-1000 µL)

- 9- Multi kanallı otomatik pipet (Axygen® 50-300 µL)
- 10- Hypersil Gold RP C18 (1.9 µm, 50x2.1 mm) UHPLC kolonu
- 11- Pipet ucu (mavi ve sarı)
- 12- Serum N-Mid Osteokalsin otoanalizör çalışma kiti
- 13- Matriks Gla protein ELISA manuel çalışma kiti (FineTest®)
- 14 Ankarboksile osteokalsin ELISA manuel çalışma kiti (FineTest®)
- 15- Serum Albümin otoanalizör çalışma kiti
- 16- Serum Kalsiyum otoanalizör çalışma kiti
- 17- Serum Fosfor otoanalizör çalışma kiti
- 18- Serum Total alkale fosfataz otoanalizör çalışma kiti
- 19- Serum Magnezyum otoanalizör çalışma kiti
- 20- Serum Total Kolesterol otoanalizör çalışma kiti
- 21- Serum Trigliserit otoanalizör çalışma kiti
- 22- Serum HDL otoanalizör çalışma kiti
- 23- Serum LDL otoanalizör çalışma kiti
- 24- Serum PTH otoanalizör çalışma kiti
- 25- Serum CRP otoanalizör çalışma kiti
- 26- Serum Total 25(OH)D vitamini otoanalizör çalışma kiti
- 27- Serum IGF-I otoanalizör çalışma kiti
- 28- Serum IGF-BP3 otoanalizör çalışma kiti
- 29- Serum Glukoz otoanalizör çalışma kiti

3.3.3 Kullanılan Cihazlar

- 1- Soğutmalı santrifüj cihazı (Nüve NF 1200R)
- 2- Buzdolabı (+4 °C Beko 7271 DF)
- 3- Derin dondurucu (Labor-İldam Sanyo -80°C)
- 4- Vorteks (İSOLAB Vortex-LED Göstergeli)
- 5- ELISA mikrolaka okuyucu cihazı (MicroQuant Plate Reader, BioTek Instrument Inc.)
- 6- Roche Cobas® 8000 otoanalizörü
- 7-Sysmex XN-1000 otoanalizörü
- 8- Siemens® IMMULITE® 2000 XPi otoanalizörü
- 9- Agilent® 240FS AA systems
- 10- Thermo Scientific® TSQ Fortis
- 11- Thermo Scientific® Ultimate 3000 UHPLC

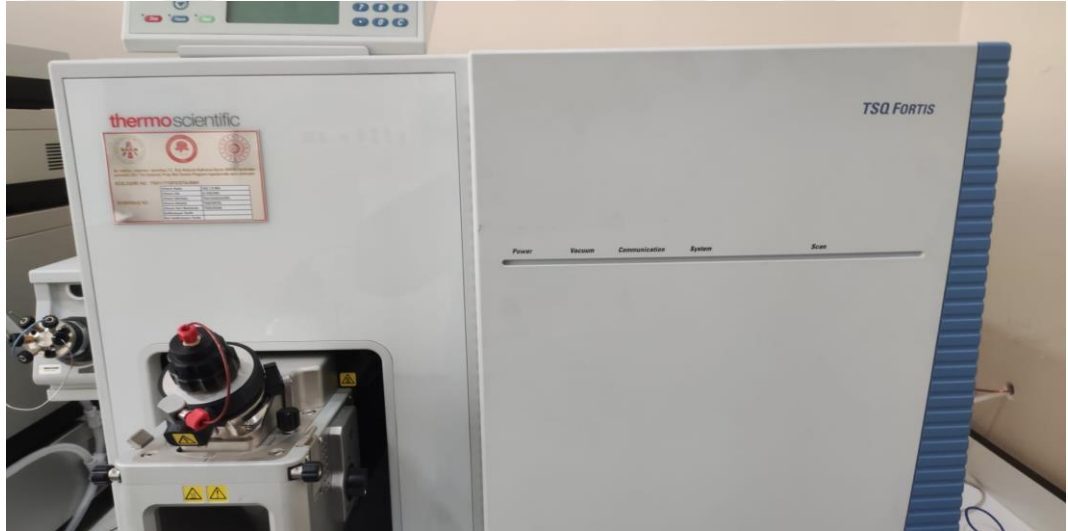
3.3.4. Ölçüm Yöntemleri

K vitamini Düzeyleri

Serum numunelerinde K vitamini, ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-ardışık kütle spektrometresi (UHPLC-MS/MS) yöntemi ile analiz edildi. Ultimate 3000 UHPLC analizörü (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, ABD) ile kombine TSQ (triple kuadropol) Fortis MS/MS analizörü (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, ABD) kullanıldı. Ölçüm için kullanılan analizörler şekil 3.1 ve şekil 3.2’de gösterildi. Analizör pozitif elektrospray iyonizasyon (ESI) modunda çalıştırıldı ve planlanmış reaktif izleme (scheduled reactive monitoring (SRM)) yöntemi kullanıldı. Taranan parametreler ve SRM bilgileri tablo 3.1’de gösterildi. Kromatografik analizler Xcalibur™ 3.1 Software (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Kromatografik ayırma işlemi için Hypersil Gold RP C18 (1.9 mikrometre (µm), 50x2.1 milimetre (mm)), (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, ABD) UHPLC kolonu kullanıldı.



Şekil 3. 1. K vitamini ölçümlerinde kullanılan Ultimate 3000 UHPLC analizörü.



Şekil 3. 2. K vitamini ölçümlerinde kullanılan TSQ Fortis MS/MS analizörü.

Tablo 3. 1. Taranan parametreler-SRM tablosu.

Parametre	Retansiyon zamanı (dk)*	Ana iyon (m/z)**	Parçalanmış iyon (m/z)	Çarpışma enerjisi (V)***	Her reaksiyonun izleme süresi (ms)****
K1 Vitamini	3,32	451,1	187,1/185,1	25/25	34,54
MK-4 Vitamini	5,67	445,1	227,1/186,9	15/20	34,54
MK-7 Vitamini	6,01	650,3	186,9/94,9	25/30	34,54

K3-D8 Vitamini (ISTD)	5,31	181,2	108,9/81,3	20/20	34,54
------------------------------	------	-------	------------	-------	-------

*dakika (dk), **kütle/yük (m/z), ***volt (V), **** milisaniye (ms)

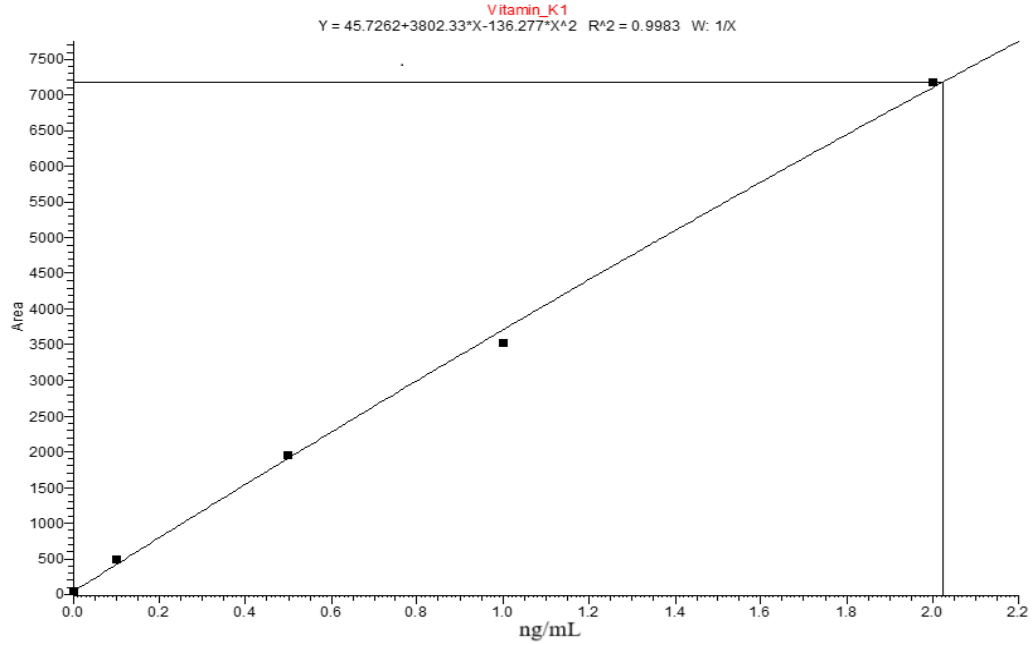
Analiz edilecek serum numunelerinden 200 µL'lik hacim 1,5 mL'lik eppendorf tüplere aktarıldı. Her tüpe 20 µL 1000 nanogram (ng)/mL konsantrasyonda hazırlanan K vitamini internal standartı (ISTD) eklendi ve homojenizasyon için kısa süre vortekslendi. Tüplere 400 µL asetonitril eklendikten sonra 1 dakika boyunca vorteks uygulandı ve sonra 13000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısımdan 500 µL'lik hacim 2 mL'lik cam vial e aktarıldı (105). Daha sonra cam vial e 500 µL mobil faz A eklenerek kapatıldı. Hazırlanan cam vial UHPLC-MS/MS analizörüne yüklendi. Analizörde çalışılma hacmi 20 µL olarak ayarlandı. Toplam analiz süresi 12 dakika olarak belirlendi. Kolon sıcaklığı 25 C° de sabit tutuldu.

Analiz için kullanılan mobil fazlar: Mobil faz A ve B olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. Mobil faz A; 950 mL 5 mM amonyum format (VWR Chemicals BDH, Pensilvanya, ABD), 1 mL %0,1 (V/V) formik asit (EMD Millipore Corporation, Massachuet, ABD) ve 49 mL asetonitril (CARLO ERBA Reagents SAS, Eure, Fransa) karışımından oluşmaktadır. Mobil faz B; 49 mL 5 mM amonyum format, 1 mL %0,1 formik asit ve 950 mL asetonitril karışımından oluşmaktadır.

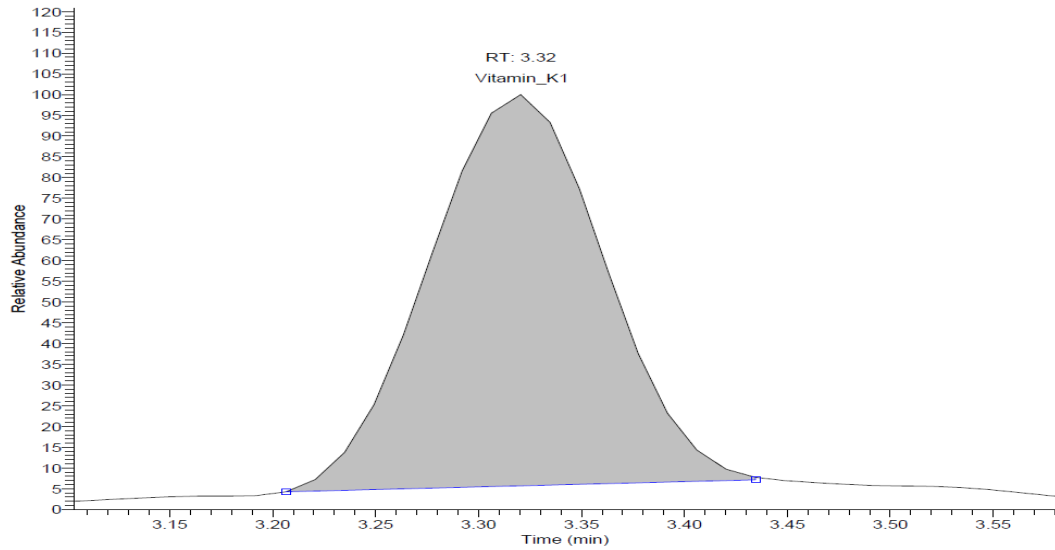
Mobil Faz Akış Diyagramı: Mobil faz akış hızı analiz boyunca 250 µL/dk olarak uygulandı. Analiz başlangıcında %80 mobil faz A ve %20 mobil faz B oranı uygulanarak analize başlandı ve 0 - 2,5. dakikaları arasında bu oran uygulandı. Analizin 2,6 - 6. dakikaları arasında akış oranı mobil faz A %40 ve %60 mobil faz B olacak şekilde uygulandı. Analizin 6,1 - 10. dakikaları arasında ise akış tamamen mobil faz B olacak şekilde uygulandı. 10,1 - 12. dakikaları arasında mobil faz akış tekrar %80 mobil faz A ve %20 mobil faz B oranı olacak şekilde ayarlandı ve analiz bitene kadar bu oranda sabit tutuldu.

K1 Vitamini (Katalog no: 12561.31-100-AN, Chiron AS, Trondheim, Norveç), MK-4 K2 Vitamini (Katalog no: 12560.31-100-AN, Chiron AS, Trondheim,

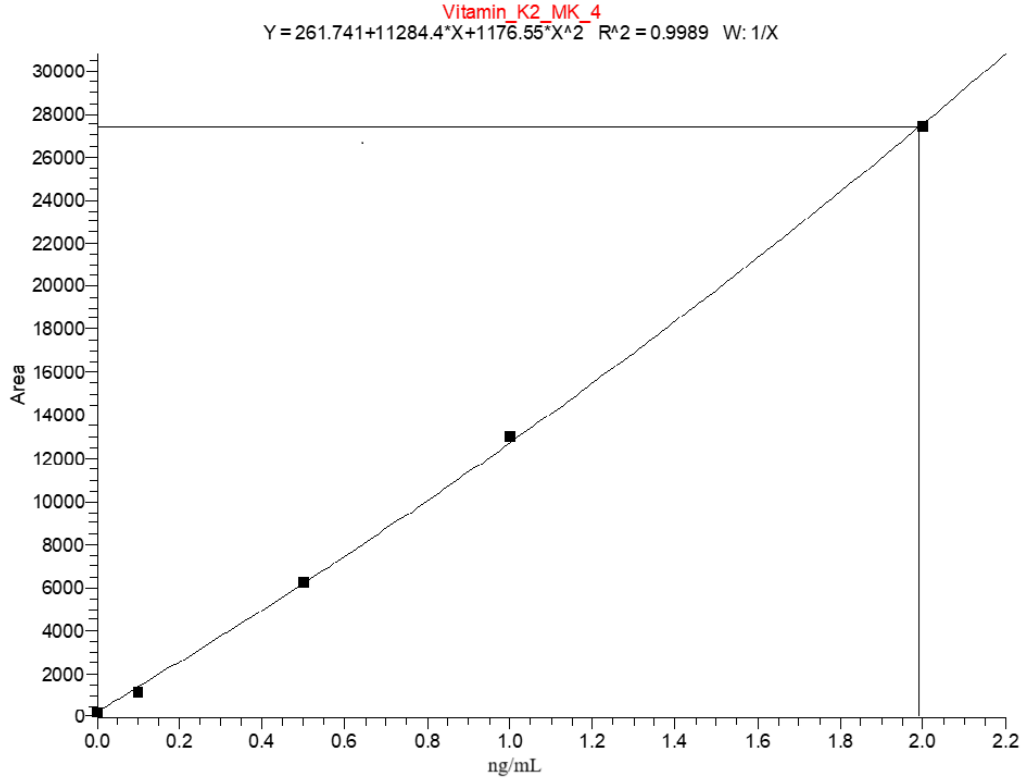
Norveç) ve MK-7 K2 Vitamini (Katalog no: 12565.46-100-AN, Chiron AS, Trondheim, Norveç) analizler için ticari standartlar olarak temin edildi. Bu standartlar kullanılarak, standart kalibrasyon eğrileri ve kromatogram grafikleri oluşturuldu. Şekil 3.3, şekil 3.4, şekil 3.5, şekil 3.6, şekil 3.7, şekil 3.8’de gösterildi.



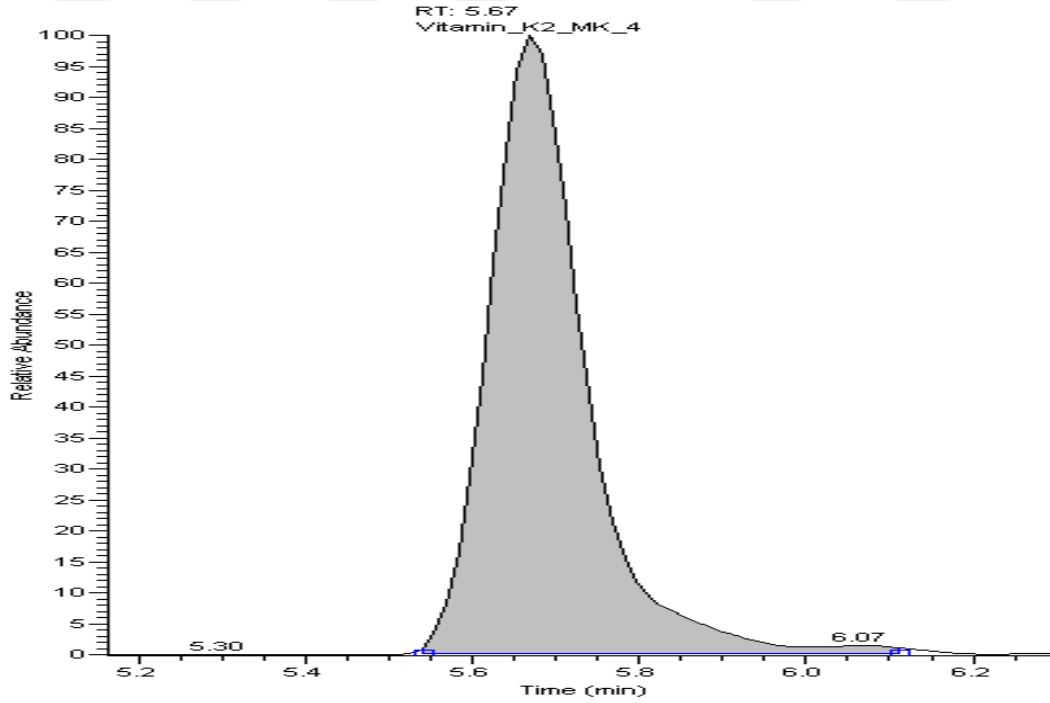
Şekil 3. 3. K1 vitamini standart kalibratör grafiği.



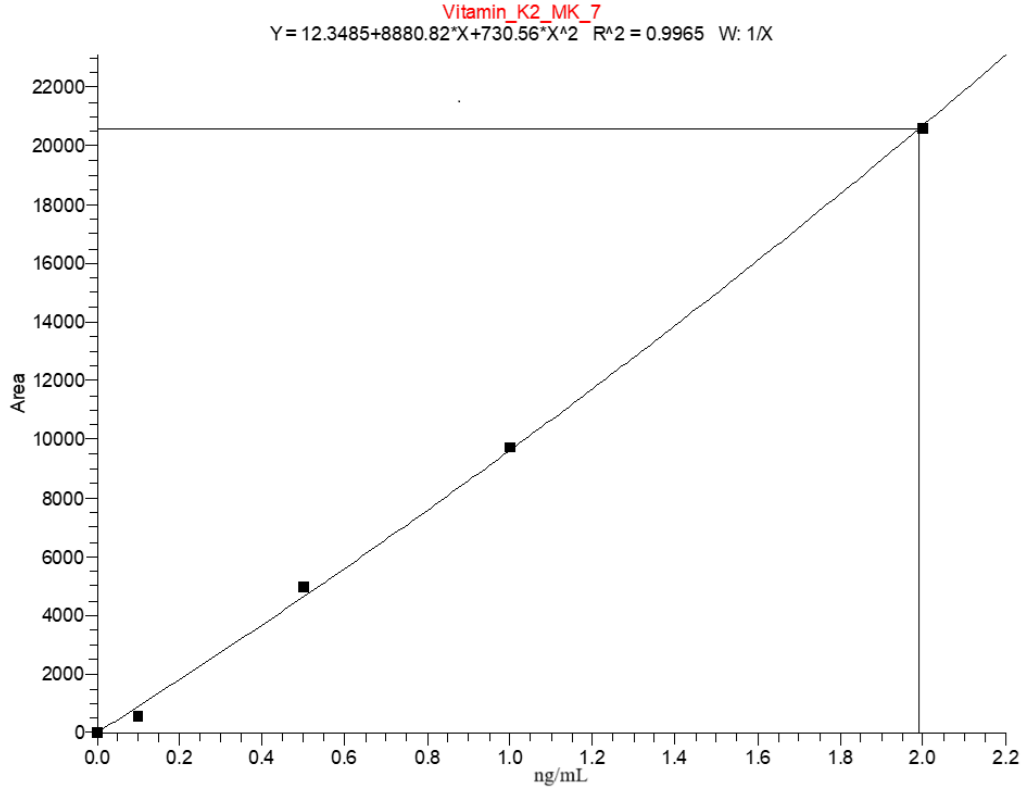
Şekil 3. 4. K1 vitamini için örnek kromatogram görüntüsü.



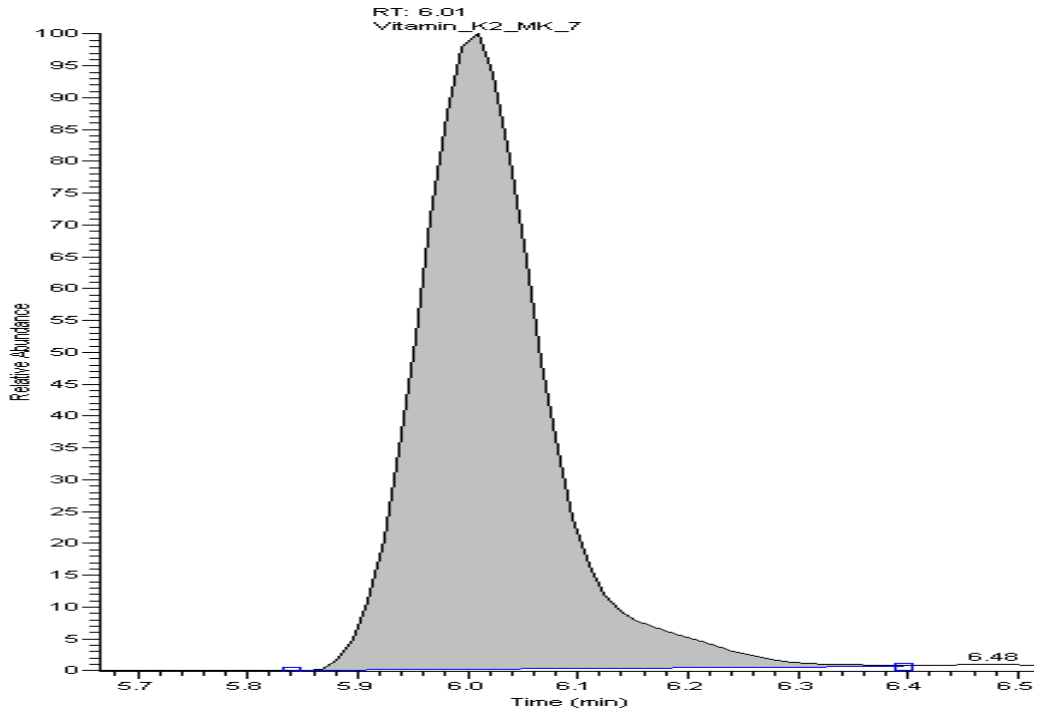
Şekil 3. 5. Menakinon-4 standart kalibratör grafiği.



Şekil 3. 6. Menakinon-4 için örnek kromatogram görüntüsü.



Şekil 3. 7. Menakinon-7 standart kalibratör grafiği.



Şekil 3. 8. Menakinon-7 için örnek kromatogram görüntüsü.

İnternal standart olarak kullanılan K3 vitamini (Vitamin K3-d8, Katalog no: V676132, Toronto Research Chemicals, Toronto, Kananda) ticari ürün olarak temin edildi. K vitamini düzeyleri, piklerin toplam alanı internal standart değerlerine bölünerek hesaplandı.

K vitamini analizine ait saptama (limit of detection, LOD) ve ölçüm limitlerinin (limit of quantitation, LOQ) hesaplamaları yapıldı. Tablo 3.2’de gösterildi.

Tablo 3. 2. K vitamini analizlerine ait LOD ve LOQ değerleri.

	K1 Vitamini (ng/mL)	MK-4 Vitamini (ng/mL)	MK-7 Vitamini (ng/mL)
1.Enjeksiyon (0,100 ng/mL)	0,0988	0,0970	0,1190
2.Enjeksiyon (0,100 ng/mL)	0,1046	0,0947	0,1131
3.Enjeksiyon (0,100 ng/mL)	0,0992	0,0930	0,1068
4.Enjeksiyon (0,100 ng/mL)	0,0938	0,0892	0,1074
5.Enjeksiyon (0,100 ng/mL)	0,0982	0,0967	0,1063
6.Enjeksiyon (0,100 ng/mL)	0,1056	0,0949	0,1034
Ortalama	0,1000	0,0942	0,1094
Standart sapma	0,00439	0,00288	0,00571
LOD	0,01317	0,00864	0,01713
LOQ	0,03951	0,02592	0,05139

Toplam K Vitamini Düzeyi

Analiz sonucu elde edilen K1, MK-4, MK-7 vitaminlerine ait değerler toplanarak elde edildi.

N-Mid Osteokalsin Düzeyi

Serum numunelerinde N-mid osteokalsin analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® e 411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe elektrokemilüminesans immunoassay (ECLIA) yöntem ile ölçüldü [Roche, Elecsys N-MID osteokalsin Katalog No: 12149133122]. Serum N-mid osteokalsin analizi için test ölçüm aralığı: 0,5-300 ng/mL’dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları (CV) tablo 3.3’te gösterildi.

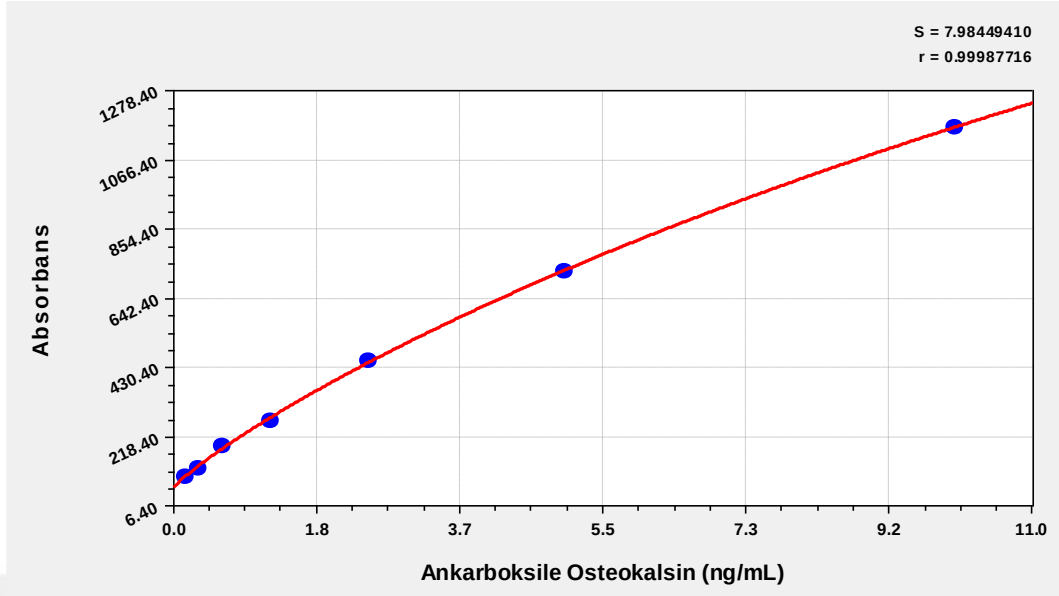
Tablo 3. 3. N-Mid osteokalsin kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (ng/mL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
6,01	1,4	3,1
19,3	0,9	1,4
93,2	1,1	1,8

Yöntem prensibi: N-Mid osteokalsin, ECLIA yöntemi ile iki antikor arasında yer alacak şekilde (sandviç) prensibine göre yapılır. Serum numunelerine ilk inkübasyon döneminde rutenyum kompleksi ile işaretli monoklonal anti-N-mid osteokalsin antikor ve biyotinlenmiş monoklonal anti-N-mid osteokalsin antikor eklenir. Bu süre içerisinde numunede bulunan N-mid osteokalsin etkileşime girerek iki antikor arasında yer alacak şekilde antikorlara bağlanır. İkinci inkübasyon döneminde streptavidin-kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidin reaksiyona girerek kompleks katı faza bağlanmış hale gelir. Daha sonra reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyinde manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Elektroda manyetik olarak yakalanmayan maddeler ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra elektrot üzerine voltaj uygulanarak kemilüminesans emisyonu indüklenir ve bu da bir fotoçoğaltıcı ile ölçülür. Sonuçlar kalibrasyon eğrisi ve ana eğri kullanılarak hesaplanır.

Ankarboksile osteokalsin Düzeyi

Serum numunelerinde ankarboksile osteokalsin analizi, Fine Test® (Fine Biotech Corporation, Wuhan, Çin) marka kit kullanılarak enzim bağlantılı immunassay (ELISA) yöntem ile çalışıldı. Kite ait (Katalog No:EH3936) intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 4.4'te gösterildi. Kitin test ölçüm aralığı; 0,156-10 ng/mL ve sensitivitesi 0,094 ng/mL idi. Kit kullanılacağı zamana kadar 2-8°C'de saklandı. Ankarboksile osteokalsin ELISA kiti standart grafiği şekil 3.9'da gösterildi.



Şekil 3. 9. Ankarboksile osteokalsin ELISA kiti standart grafiği.

Tablo 3. 4. Ankarboksile osteokalsin ELISA kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (ng/mL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
0,34	5,84	5,89
1,26	5,26	5,34
5,11	3,98	4,02

Yöntem prensibi: Bu ölçüm yönteminde kullanılacak mikro ELISA plakası (pleyt), insan ankarboksile osteokalsin antikorları ile kaplanmış kuyucuklar içerir. Standartlar ve çalışılacak numuneler kuyucuklara eklenerek inkübe edilir. Standartlarda ve numunelerde bulunan ankarboksile osteokalsinin antikorlara bağlanması sağlanır. İnkübasyon sonrası yıkama gerçekleştirilir. Kuyucuklara biyotin ile etiketlenmiş antikor eklenir ve inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama gerçekleştirilir ve kuyucuklara Avidin Horseradish Peroksidaz (HRP)-Streptavidin konjugatı eklenerek inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi yapılır ve tetra metil benzidin (TMB) substrat solusyonu eklenerek inkübe edilir. İnkübasyon sonrası standartlarda ve numunelerde ankarboksile osteokalsin konsantrasyonlarıyla orantılı olarak renk gelişir. Enzim-substrat reaksiyonu,

durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. ELISA mikropılaka okuyucu cihazında, standart ve numune kuyucuklarında bulunan son renkli solüsyonların 450 nanometre (nm)'de absorbandsı ölçülür. Sonuçlar, ankarboksile osteokalsin absorbands-konsantrasyon standart grafiğine göre hesaplanır.

Karboksile Osteokalsin/Ankarboksile Osteokalsin Oranı

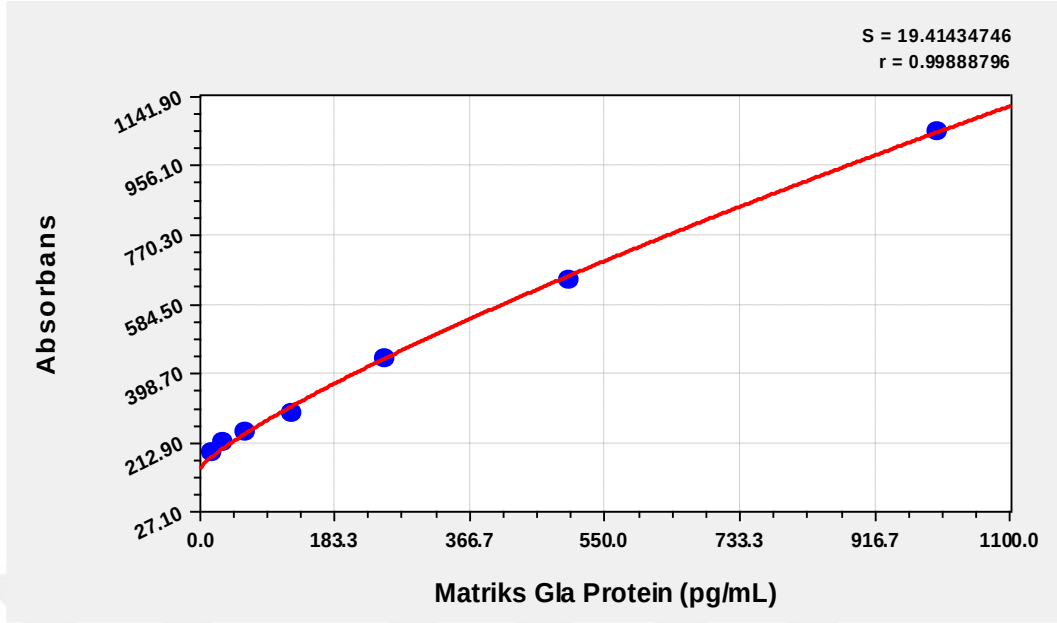
Analiz sonucu elde edilen N-MİD osteokalsin düzeyinden ankarboksile osteokalsin düzeyi çıkarılarak karboksile osteokalsin düzeyi tespit edildi. Bulunan karboksile osteokalsin, ankarboksile osteokalsine bölünerek oran elde edildi.

Matriks Gla Protein (MGP) Düzeyi

Serum numunelerinde MGP analizi, Fine Test® (Fine Biotech Corporation, Wuhan, Çin) marka kit kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı. Kite ait (Katalog No:EH1649) intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.5'te gösterildi. Kitin test ölçüm aralığı 15,625-1000 pg/mL ve sensitivitesi 9,375 pg/mL idi. Kit kullanılacağı zamana kadar 2-8°C'de saklandı. MGP ELISA kiti standart grafiği şekil 3.10'da gösterildi.

Tablo 3. 5. MGP ELISA kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (pg/mL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
32,8	5,51	5,09
129,6	5,53	5,69
505	4,94	5,44



Şekil 3. 10. Matriks Gla protein ELISA kiti standart grafiği.

Yöntem prensibi: Bu ölçüm yönteminde kullanılacak mikro ELISA plakası, insan MGP antikorları ile kaplanmış kuyucuklar içerir. Standartlar ve çalışılacak numuneler kuyucuklara eklenerek inkübe edilir. Standartlarda ve numunelerde bulunan MGP antikorlara bağlanması sağlanır. İnkübasyon sonrası yıkama gerçekleştirilir. Kuyucuklara biyotin ile etiketlenmiş antikor eklenir ve inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama gerçekleştirilir ve kuyucuklara HRP-Streptavidin konjugatı eklenerek inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi yapılır ve TMB substrat solusyonu eklenerek inkübe edilir. İnkübasyon sonrası standartlarda ve numunelerde MGP konsantrasyonlarıyla orantılı olarak renk gelişir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. ELISA mikrolaka okuyucu cihazında, standart ve numune kuyucuklarında bulunan son renkli solüsyonların 450 nm'de absorbansı ölçülür. Sonuçlar, MGP absorbans-konsantrasyon standart grafiğine göre hesaplanır.

Matrks Gla protein ölçümlerinde, serum örnekleri 1/100 dilüe edilip, standartların birimine uygun olarak pg/mL olarak çalışıldı, ardından sonuçlar 1000'e bölünerek ng/mL birimi ile verildi.

IGF-I Düzeyi

Serum numunelerinde İnsülin benzeri büyüme faktörü-I analizi, ticari kit kullanılarak IMMULITE® 2000 XPi (Siemens Healthcare Diagnostics, Forchheim, Almanya) otoanalizöründe ECLIA yöntemi ile ölçüldü [Siemens, IGF-I Katalog No: L2KIGF2]. Serum IGF-I analizi için test ölçüm aralığı: 15-1000 µg/litre (L)'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.6'da gösterildi.

Tablo 3. 6. IGF-I kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (µg/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
56	6,3	7,6
200	3,1	3,9

Yöntem Prensibi: IGF-I, ECLIA prensibine göre yapılır. Serum numunelerinde bulunan IGF-I'i katı faza bağlamak için monoklonal anti-IGF-I boncuk paketi kullanılır. Katı faza bağlanan kompleks enzim işaretli poliklonal anti-IGF-I antikoru ile tekrar kompleks oluşturur. Ortama eklenen kemilüminesan substrat enzim işaretli kompleks ile reaksiyona girer. Daha sonra reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyinde manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Elektrod tarafından manyetik olarak yakalanmayan maddeler ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra elektrot üzerine voltaj uygulanarak kemilüminesans emisyonu indüklenir ve bu da bir fotoçoğaltıcı ile ölçülür. Sonuçlar kalibrasyon eğrisi ve ana eğri kullanılarak hesaplanır.

IGF-BP3 Düzeyi

Serum numunelerinde İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3'ün (IGF-BP3) analizi, ticari kit kullanılarak IMMULITE® 2000 XPi (Siemens Healthcare Diagnostics, Forchheim, Almanya) otoanalizöründe ECLIA yöntemi ile ölçüldü [Siemens, IGF-BP3 Katalog No: L2KGB2]. Serum IGF-BP3 analizi için test ölçüm aralığı: 0,1-16 miligram (mg)/L'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.7'de gösterildi.

Tablo 3. 7. IGF-BP3 kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
0,91	4,4	6,6
3,59	4,2	7,2

Yöntem Prensibi: IGF-BP3, ECLIA prensibine göre yapılır. Serum numunelerinde bulunan IGF-BP3'ü katı faza bağlamak için monoklonal anti-IGF-BP3 boncuk paketi kullanılır. Katı faza bağlanan kompleks enzim işaretli monoklonal anti-IGF-BP3 antikoru ile tekrar kompleks oluşturur. Ortama eklenen kemilüminesan substrat enzim işaretli kompleks ile reaksiyona girer. Daha sonra reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyinde manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Elektrod tarafından manyetik olarak yakalanmayan maddeler ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra elektrot üzerine voltaj uygulanarak kemilüminesans emisyonu indüklenir ve bu da bir fotoçoğaltıcı ile ölçülür. Sonuçlar kalibrasyon eğrisi ve ana eğri kullanılarak hesaplanır.

Total 25-Hidroksi D Vitamini Düzeyi

Serum numunelerinde D vitamini analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® e 801 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe ECLIA yöntemi ile ölçüldü [Roche, Elecsys Vitamin D total III Katalog No: 09038086190]. Serum Total 25-hidroksi D vitamini analizi için test ölçüm aralığı: 3-120 µg/L'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.8'de gösterildi.

Tablo 3. 8. Total 25(OH)D vitamini kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (µg/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
20,2	3,2	4,7
38,2	2,1	2,9

Yöntem Prensibi: Total 25-hidroksi D vitamini, yarışmalı ECLIA yöntemi prensibi ile ölçüldü. İlk inkübasyon döneminde serum örneklerindeki D vitamini bağlayıcı protein (VDBP) ile bağlı 25(OH)D vitamini serbest hale getirilir. İkinci inkübasyon döneminde rutenyum kompleksi ile işaretli VDBP ve 25(OH)D vitamini kompleks oluşturur. Üçüncü inkübasyon döneminde streptavidin kaplı mikropartiküller ve biyotin ile işaretlenmiş 25(OH)D vitamininin eklenmesi sonrası rutenyumla işaretlenmiş VDBP ortama eklenen işaretli 25(OH)D vitamini ile dolu hale gelir ve kompleks oluşturur. Oluşan kompleksler biyotin ve streptavidinin etkileşimi aracılığı ile katı faza bağlanmış hale gelir. Daha sonra reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyinde manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Elektroda manyetik olarak yakalanmayan maddeler ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra elektrot üzerine voltaj uygulanarak kemilüminesans emisyonu indüklenir ve bu da bir fotoçoğaltıcı ile ölçülür. Sonuçlar kalibrasyon eğrisi ve ana eğri kullanılarak hesaplanır.

İntakt PTH Düzeyi

Serum numunelerinde intakt paratiroid hormon (PTH) analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® e 601 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe ECLIA yöntemi ile ölçüldü [Roche, Elecsys PTH Katalog No: 11972103122]. Serum PTH analizi için test ölçüm aralığı: 1,2-5000 ng/L'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.9'da gösterildi.

Tablo 3. 9. İntakt PTH kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (ng/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
54,7	1,7	1,8
184	1,4	1,4

Yöntem Prensibi: PTH, ECLIA yöntemi ile sandviç prensibine göre yapılır. Serum numunelerine ilk inkübasyon döneminde rutenyum kompleksi ile işaretli monoklonal anti-PTH antikoru ve biyotinlenmiş monoklonal anti- PTH antikoru eklenir. Bu süre içerisinde numunede bulunan PTH etkileşime girerek iki antikor arasında yer alacak şekilde antikorlara bağlanır. İkinci inkübasyon döneminde

streptavidin-kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidin reaksiyona girerek kompleks katı faza bağlanmış hale gelir. Daha sonra reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyinde manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Elektroda manyetik olarak yakalanmayan maddeler ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra elektrot üzerine voltaj uygulanarak kemilüminesans emisyonu indüklenir ve bu da bir fotoçoğaltıcı ile ölçülür. Sonuçlar kalibrasyon eğrisi ve ana eğri kullanılarak hesaplanır.

Albümin Düzeyi

Serum numunelerinde albumin analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum Albümin (ALB2) Katalog No: 05166861190]. Serum albümin analizi için test ölçüm aralığı: 2-60 g/L'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.10'da gösterildi.

Tablo 3. 10. Albümin kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (g/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
29,9	0,5	1,5
50,0	0,4	0,9

Yöntem Prensibi: Numunedeki albümin, bromokrezol yeşiliyle (BCG) pH'nın 4.1 olduğu ortamda kompleks oluşturur. Oluşan kompleks mavi-yeşil renk verir. Bu renk 505/570 nm'de spektrofotometrik ölçülür. Renk artışı ile albümin konsatrasyonu doğru orantılıdır.

Kalsiyum Düzeyi

Serum numunelerinde kalsiyum analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum kalsiyum (CA2) Katalog No: 05168449190]. Serum kalsiyum analizi için test ölçüm aralığı: 0,8-20,1 mg/dL'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.11'de gösterildi.

Tablo 3. 11. Kalsiyum kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
2,4	2,0	2,5
14,6	0,5	0,9

Yöntem Prensibi: Numunedeki albümin kalsiyum iyonları, alkali ortam varlığında 5-nitro-5'-metil-BAPTA ile reaksiyona girerek ilk kompleksi oluşturur. Bu kompleks, ikinci adımda EDTA ile reaksiyona girer ve bu reaksiyon sonucu NM-BAPTA-EDTA-kalsiyum kompleksi oluşur. Absorbans 376/340 nm'de spektrofotometrik ölçülür ve kalsiyum konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Fosfor Düzeyi

Serum numunelerinde fosfor analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum fosfor (PHOS2) Katalog No: 05171377190]. Serum fosfor analizi için test ölçüm aralığı: 0,31-20,0 mg/dL'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.12'de gösterildi.

Tablo 3. 12. Fosfor kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
3,84	0,8	1,4
9,11	0,7	1,2

Yöntem Prensibi: İnorganik fosfat, sülfürik asit varlığında ortama eklenen amonyum molibdat ile tepkimeye girerek amonyum fosfomolibdat kompleksini oluşturur. Oluşan kompleks 700/340 nm'de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans fosfor konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Magnezyum Düzeyi

Serum numunelerinde magnezyum analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum magnezyum (MG-2) Katalog No: 06407358190]. Serum magnezyum analizi için test ölçüm aralığı: 0,243-4,86 mg/dL'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.13'te gösterildi.

Tablo 3. 13. Magnezyum kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
1,55	0,8	1,7
4,57	0,8	1,5

Yöntem Prensibi: Magnezyum, alkali ortamda diazonyum tuzu olan ksilidil mavisi ile mor bir kompleks oluşturur. Oluşan kompleks 505/600 nm'de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans magnezyum konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

Total Alkalen Fosfataz Düzeyi

Serum numunelerinde total alkalen fosfataz analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 703 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum alkalen fosfataz (ALP2) Katalog No: 08056757190]. Serum alkalen fosfataz analizi için test ölçüm aralığı: 5-1200 U/L'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.14'te gösterildi.

Tablo 3. 14. Total ALP kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (U/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
36,2	0,8	3,4
223	0,3	1,3

Yöntem Prensibi: Total alkalen fosfataz, substrat olarak p-nitrofenil fosfat + H₂O'yu magnezyum ve çinkonun bulunduğu ortamda katalitik aktivite sonucu fosfat + p-nitrofenile dönüştürür. Açığa çıkan p-nitrofenil spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans total ALP'nin katalik etkinlik düzeyi ile doğru orantılıdır.

CRP Düzeyi

Serum numunelerinde CRP analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe immüno-türbidimetrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum CRP (CRP4) Katalog No: 078764224190]. Serum CRP analizi için test ölçüm aralığı: 0,6-350 mg/L'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.15'te gösterildi.

Tablo 3. 15. CRP kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/L)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
1,41	4,8	5,5
56,1	1,2	3,2

Yöntem Prensibi: Numunedeki CRP, monoklonal anti-CRP antikorları ile kaplı lateks partikülleri ile aglütinasyon oluşturur. Oluşan agregatlar bulanıklığa neden olur. Oluşan bulanıklık nedeniyle 800/570 nm'de gerçekleşen ışık kaybı, immünotürbidimetrik yöntem ile ölçüm yapılmasını sağlar.

Glukoz Düzeyi

Serum numunelerinde glukoz analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum glukoz (GLU3) Katalog No: 05168791190]. Serum glukoz analizi için test ölçüm aralığı: 2-750 mg/dL'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.16'da gösterildi.

Tablo 3. 16. Glukoz kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
93,2	0,8	1,3
241	0,7	1,1

Yöntem Prensibi: Glukoz, ATP varlığında hekzokinaz enzimi aracılığı ile glukoz-6-fosfata dönüştürülür. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimi substrat olarak glukoz-6-fosfatı kullanarak ortamdaki Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfatı (NADP) indirgeyerek NADPH+H⁺ ve glukonat-6-fosfat oluşturur. Oluşan NADPH+H⁺ 700/340 nm’de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans glukoz düzeyi ile doğru orantılıdır.

Total Kolesterol Düzeyi

Serum numunelerinde kolesterol analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum kolesterol (CHOL2) Katalog No: 05168538190]. Serum kolesterol analizi için test ölçüm aralığı: 3,86-800 mg/dL’dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.17’de gösterildi.

Tablo 3. 17. Total kolesterol kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
95,5	0,6	1,6
240	0,8	1,6

Yöntem Prensibi: Kolesterol esterleri, kolesterol esterazın enzimatik aktivitesi ile parçalanarak kolesterol ve yağ asitlerine dönüştürülür. Ardından, kolesterol oksidaz enzimi ile kolesterol, kolest-4-en-3-on ve hidrojen peroksida

dönüşümü katalize edilir. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi katalizörlüğünde, ortamda bulunan fenol ve 4-aminoantipirinin ile reaksiyona girerek kinonimin boyasını oluşturur. Kinonimin boyası 700/505 nm’de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans kolesterol düzeyi ile doğru orantılıdır.

Trigliserid Düzeyi

Serum numunelerinde trigliserid analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum trigliserid (TRIGL) Katalog No: 05171407190]. Serum trigliserid analizi için test ölçüm aralığı: 8,85-885 mg/dL’dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.18’de gösterildi.

Tablo 3. 18. Trigliserid kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
120	0,9	2,0
209	0,6	1,6

Yöntem Prensibi: Trigliserid, lipoprotein lipazın enzimatik etkinliği ile parçalanarak gliserol ve yağ asitlerine dönüştürülür. Gliserol, gliserol kinaz enzimi ile gliserol-3 fosfata dönüştürülür. Gliserol-3 fosfat, gliserol-3 fosfat oksidaz enzimi ile dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksit dönüşümü katalize edilir. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi katalizörlüğünde, ortamda bulunan 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile reaksiyona renkli pigment oluşturur. Renkli pigment 700/505 nm’de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans trigliserid düzeyi ile doğru orantılıdır.

HDL Kolesterol Düzeyi

Serum numunelerinde HDL kolesterol analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum HDL (HDLc4) Katalog No:

07528582190]. Serum HDL analizi için test ölçüm aralığı: 3,09-150 mg/dL'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.19'da gösterildi.

Tablo 3. 19. HDL kolesterol kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
9,28	0,9	1,4
56,8	0,5	1,7

Yöntem Prensibi: LDL, VLDL (çok düşük yoğunluklu lipoprotein) ve şilomikronlar gibi HDL dışı lipoproteinler, polianyonlar ve deterjan ile birleştirilerek suda çözünür bir kompleks oluşturulur. Bu komplekste kolesterol esterase ve kolesterol oksidazın HDL dışı lipoproteinler ile reaksiyona girmesi engellenir. Sadece HDL kolesterol esterleri, kolesterol esterase ile reaksiyona girerek HDL kolesterol ve yağ asitlerini oluşturur. HDL kolesterol oksijen varlığında kolesterol oksidazın enzimatik aktivitesi ile Δ^4 kolestenon ve hidrojen peroksida dönüşümü katalize edilir. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi katalizörlüğünde, ortamda bulunan 4-aminoantipirin ve N-etil-N-(3-metilfenil)-N'-süksiniletildiamin ile reaksiyona girerek renkli pigment oluşturur. Renkli pigment 700/600 nm'de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans HDL düzeyi ile doğru orantılıdır.

LDL Kolesterol Düzeyi

Serum numunelerinde LDL kolesterol analizi, ticari kit kullanılarak Roche Cobas® c 701 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü [Roche, Serum LDL (LDLC3) Katalog No: 07005768190]. Serum LDL analizi için test ölçüm aralığı: 3,87-549 mg/dL'dir. Kite ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları tablo 3.20'de gösterildi.

Tablo 3. 20. LDL kolesterol kitine ait intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları.

Ortalama kontrol düzeyi (mg/dL)	İntra-assay CV %	İnter-assay CV %
103	0,7	2,0
196	1,0	1,5

Yöntem Prensibi: HDL, VLDL ve şilomikronlar gibi LDL dışı lipoproteinler, polianyonlar ve deterjan ile birleştirilerek suda çözünür bir kompleks oluşturulur. Bu komplekste kolesterol esterase ve kolesterol oksidazın LDL dışı lipoproteinler ile reaksiyona girmesi engellenir. Sadece LDL kolesterol esterleri, kolesterol esterase ile reaksiyona girerek LDL kolesterol ve yağ asitlerini oluşturur. LDL kolesterol oksijen varlığında kolesterol oksidazın enzimatik aktivitesi ile $\Delta 4$ kolestenon ve hidrojen peroksida dönüşümü katalize edilir. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi katalizörlüğünde, ortamda bulunan 4-aminoantipirin ve N-etil-N-(3-metilfenil)-N'-süksiniletilediamin ile reaksiyona girerek renkli pigment oluşturur. Renkli pigment 700/600 nm'de spektrofotometrik ölçülür ve ölçülen absorbans LDL düzeyi ile doğru orantılıdır.

Çinko Düzeyi

Eser element tüplerine alınmış olan kan örneklerinden hazırlanan serum numunelerinde çinko analizi, Agilent® 240FS AA systems (Agilent Technologies, Santa Clara, Kaliforniya, ABD) analizörü kullanılarak atomik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi ile ölçüldü. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde ölçülecek çinko değerleri için standartlar hazırlandı. Bu standartlar analizörde okutularak lineer bir grafik elde edildi. Ardından düşük ve yüksek kontroller okutuldu. Kontrollerin referans değerleri arasında çıktığı teyit edildikten sonra numuneler çinko 1/20 oranında distile su ile dilüe edildikten sonra analizörde çalışıldı.

Hemogram Parametreleri

K2-EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri laboratuvarında alt üst edilerek Sysmex® XN-1000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japonya) analizöründe çalışıldı. Analizörün kontrol değerleri testlerin çalışılabilmesi için uygundu. Hemoglobini, sodyum lauril sülfat kullanılarak fotometrik olarak ölçüldü. Trombosit sayısı empedans yöntemi kullanılarak tespit edildi. Eritrosit, lökosit sayıları akış sitometrisi yöntemi kullanılarak tespit edildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirilirken, tüm grafikler, hesaplamalar ve istatistiksel analizler için **GraphPad Prism 8.0.2** istatistik paket programı (**GraphPad Software, San Diego, CA, ABD**), çoklu regresyon analizi ve ROC eğrileri için ise **IBM SPSS versiyon 23.0** (**IBM Corp, Armonk, NY, ABD**) programı kullanıldı. Veriler sayı, yüzde ve aritmetik ortalama $\pm$ standart deviasyon (SD) şeklinde sunuldu. Gruplar arası ortalamanın anlamlılığı Student's T testi ile değerlendirildi. Değişkenler arası ilişkinin değerlendirilmesinde normal dağılıma uyan değişkenler için Pearson, normal dağılıma uymayanlar için Spearman korelasyon analizi yapıldı. Bağımlı değişken ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla da çoklu regresyon analizi kullanıldı. Çalışmada yer alan parametrelerin idiyopatik boy kısalığı tanısındaki performanslarını değerlendirilmek için "Receiver Operating Characteric" (ROC) analizi yapıldı. Tüm analizlerde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

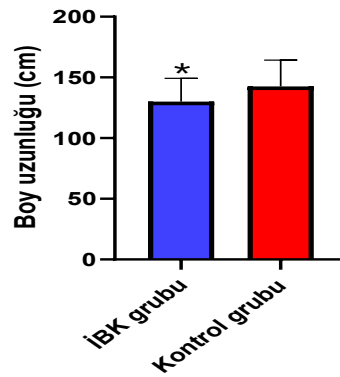
İdiyopatik boy kısalığı grubuna 22 kız (K), 22 erkek (E) olmak üzere toplam 44 kişi alındı, bunların yaş ortalaması $10,7 \pm 3,4$ olarak hesaplandı. Kontrol grubu ise idiyopatik boy kısalığı grubunun yaş ve cinsiyet dağılımına uygun olarak seçilmiş 22 K ve 22 E olmak üzere toplam 44 gönüllüden oluşturuldu. Kontrol grubunun yaş ortalaması $10,6 \pm 3,5$ idi (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1. Grupların yaş ve cinsiyet dağılımı.

Gruplar	Cinsiyet		Toplam (n)	Yaş (Ortalama $\pm$ SD)
	K	E		
İdiyopatik boy kısalığı grubu	22	22	44	$10,7 \pm 3,4$
Kontrol grubu	22	22	44	$10,6 \pm 3,5$

Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).

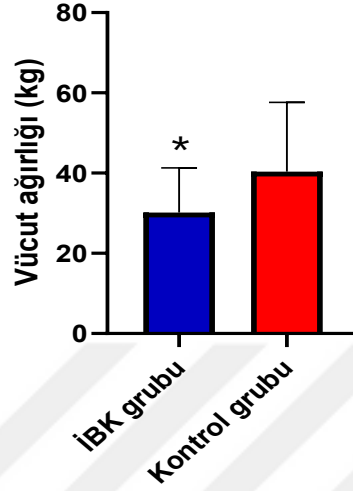
İdiyopatik boy kısalığı grubundaki kişilerin boy uzunluğu ortalaması, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (sırası ile $129,50 \pm 20,86$ cm ve $142,60 \pm 21,60$ cm, $p = 0,0051$) (Şekil 4.1).



Şekil 4. 1. İdiyopatik boy kısalığı grubu ile kontrol grubu boy uzunlukları (ortalama $\pm$ SD).

* $p = 0,0051$, t-testi.

İdiyopatik boy kısalığı grubundaki kişilerin vücut ağırlıkları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (sırası ile $30,16 \pm 11,13$ kg ve $40,38 \pm 17,23$ kg, $p=0,0014$) (Şekil 4.2).

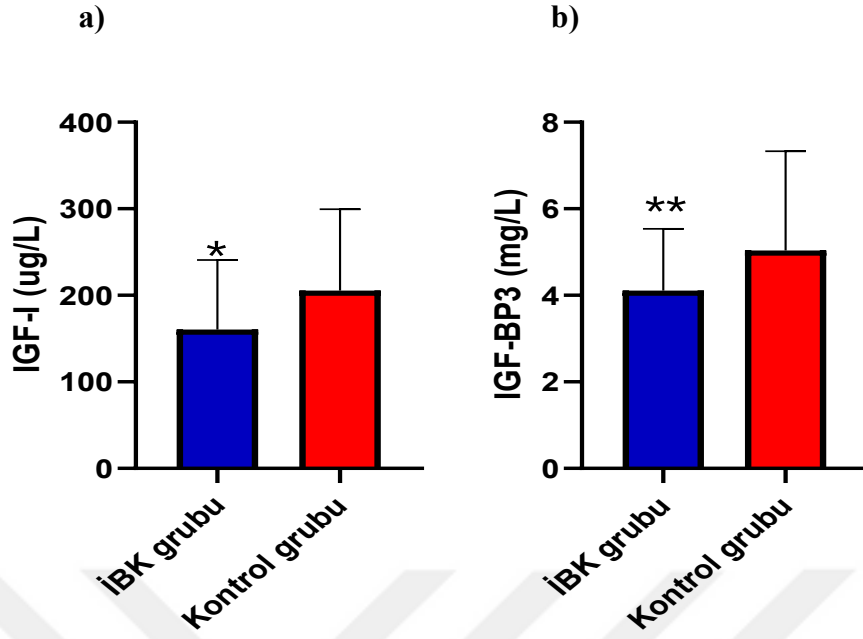


Şekil 4. 2. Gruplar arasında vücut ağırlıklarının karşılaştırılması (ortalama $\pm$ SD).

* $p=0,0014$, t-testi

İdiyopatik boy kısalığı grubunun vücut kütle indeksi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (sırası ile $17,39 \pm 3,20$ ve $18,89 \pm 3,79$, $p=0,049$).

IGF-I (sırası ile $160,50 \pm 80,45$ $\mu\text{g/L}$ ve $205,50 \pm 93,90$ $\mu\text{g/L}$, $p=0,0178$) ve IGF-BP3 düzeyleri (sırası ile $4,11 \pm 1,43$ mg/L ve $5,04 \pm 2,29$ mg/L , $p=0,0252$) idiopatik boy kısalığı grubunda, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulundu [Şekil 4.3 (a ve b)].



Şekil 4. 3 (a ve b). İdiyopatik boy kısalığı grubu ile kontrol grubunda IGF-I ve IGF-BP3 düzeyleri (ortalama±SD). *p= 0,0178 ve **p=0,0252, t-testi.

Total ALP, intakt PTH, albumin, kalsiyum, magnezyum, fosfor, çinko ve CRP parametrelerinde, idiyopatik boy kısalığı ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda biyokimyasal parametre değerleri (Ortalama ± SD).

Parametre	İdiyopatik boy kısalığı grubu	Kontrol grubu	p değeri
Total ALP (U/L)	206,50± 80,88	214,90± 72,51	p>0,05
İntakt PTH (ng/L)	23,38±8,08	24,19±10,66	p>0,05
Albumin (g/L)	48,59±2,06	47,88±2,07	p>0,05
Kalsiyum (mg/dL)	10,00± 0,27	9,94± 0,23	p>0,05
Magnezyum (mg/dL)	2,13± 0,13	2,14± 0,11	p>0,05
Fosfor (mg/dL)	4,78± 0,62	4,70± 0,55	p>0,05
Çinko (µg/dL)	104,00± 13,10	102,80± 12,78	p>0,05
CRP (mg/dL)	0,67± 0,92	0,85± 1,29	p>0,05

İdiyopatik boy kısalığı grubu, cinsiyete göre ayrıldığında Total ALP, fosfor, çinko ve N-mid osteokalsin parametreleri erkeklerde kızlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 4.3).

Tablo 4. 3. İdiyopatik boy kısalığı grubu cinsiyete göre ayrıldığında istatistiksel olarak farklılık bulunan biyokimyasal parametre ve değerleri* (Ortalama $\pm$ SD).

Parametre	Kız	Erkek	p değeri
Total ALP (U/L)	181,60 $\pm$ 84,56	231,30 $\pm$ 70,38	p=0,04
Fosfor (mg/dL)	4,59 $\pm$ 0,65	4,97 $\pm$ 0,53	p=0,039
Çinko (μ g/dL)	99,68 $\pm$ 11,46	108,30 $\pm$ 13,40	p=0,027

*N-Mid osteokalsin düzeyleri 69. sayfada verildi.

İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid ve glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında parametrelerin hiçbirinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05) (Tablo 4.4).

Tablo 4. 4. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda lipid paneli ve glukoz düzeyleri (Ortalama $\pm$ SD).

Parametre	İdiyopatik boy kısalığı grubu	Kontrol grubu	p değeri
Total Kolesterol (mg/dL)	161,10 $\pm$ 25,03	164,50 $\pm$ 24,88	p>0,05
HDL-Kolesterol (mg/dL)	54,13 $\pm$ 13,14	56,30 $\pm$ 14,60	p>0,05
LDL-Kolesterol (mg/dL)	85,75 $\pm$ 21,79	85,68 $\pm$ 20,01	p>0,05
Trigliserid (mg/dL)	94,07 $\pm$ 47,37	84,68 $\pm$ 42,61	p>0,05
Glukoz (mg/dL)	88,89 $\pm$ 16,49	84,50 $\pm$ 11,28	p>0,05

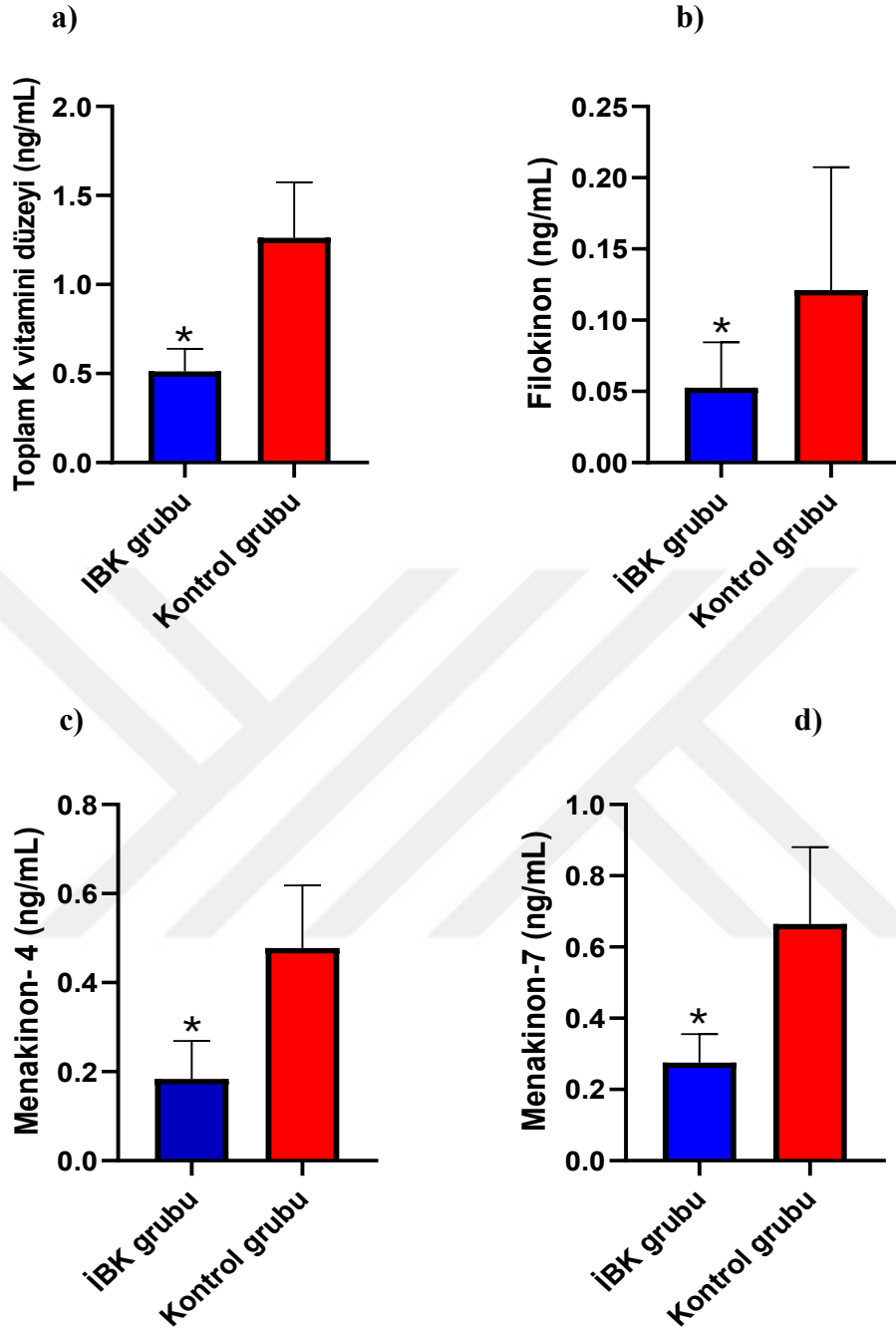
Hemogram parametreleri (hemoglobin, eritrosit, lökosit ve trombosit sayısı) iki grup arasında karşılaştırıldığında parametrelerin hiçbirinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (p>0,05) (Tablo 4.5).

Tablo 4. 5. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda hemogram parametre değerleri (Ortalama $\pm$ SD).

Parametre	İdiyopatik boy kısalığı grubu	Kontrol grubu	p değeri
Hemoglobin (g/dL)	13,08 $\pm$ 1,08	13,28 $\pm$ 0,99	p>0,05
Eritrosit sayısı (10 ⁶ /mm ³)	4,81 $\pm$ 0,45	4,80 $\pm$ 0,39	p>0,05
Lökosit sayısı (10 ³ /mm ³)	6,96 $\pm$ 1,54	7,56 $\pm$ 2,11	p>0,05
Trombosit sayısı(10 ³ /mm ³)	315,40 $\pm$ 49,53	299,5 $\pm$ 76,59	p>0,05

Toplam K vitamini (filokinon+menakinon-4+menakinon-7), filokinon, menakinon-4, menakinon-7 düzeyleri, idiyopatik boy kısalığı grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu [toplam K vitamini; sırası ile 0,512 $\pm$ 0,127 ng/mL ve 1,263 $\pm$ 0,310 ng/mL (p< 0,0001), filokinon; sırası ile 0,053 $\pm$ 0,032 ng/mL ve 0,121 $\pm$ 0,086 ng/mL (p< 0,0001), menakinon-4; sırası ile 0,184 $\pm$ 0,085 ng/mL ve 0,480 $\pm$ 0,140 ng/mL (p< 0,0001), menakinon-7; sırası ile 0,276 $\pm$ 0,079 ng/mL ve 0,664 $\pm$ 0,216 ng/mL (p< 0,0001)] [Şekil 4.4 (a, b, c ve d)].

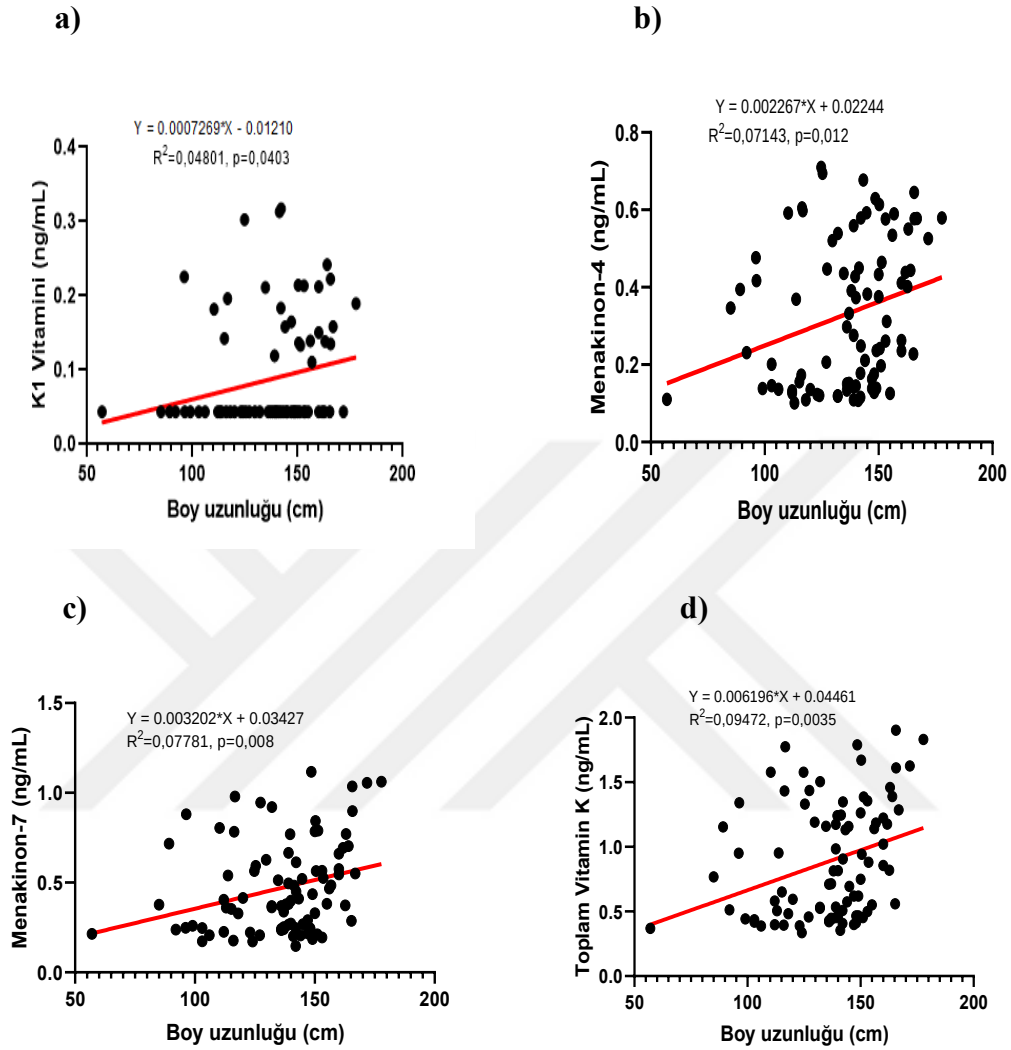
Ortalama K vitamini düzeylerine bakıldığında kontrol grubunda, boy kısalığı olan grupla kıyaslandığında toplam K vitamini düzeylerinin 2,47 kat, filokinon düzeylerinin 2,28 kat, menakinon-4 düzeylerinin 2,61 kat ve menakinon-7 düzeylerinin 2,41 kat daha yüksek olduğu gösterildi.



Şekil 4. 4 (a, b, c ve d). İdiyopatik boy kısalığı ile kontrol grubunda toplam K vitamini, filokinin, menakinin-4, menakinin-7 düzeyleri (ortalama±SD). *p< 0,0001, t-test

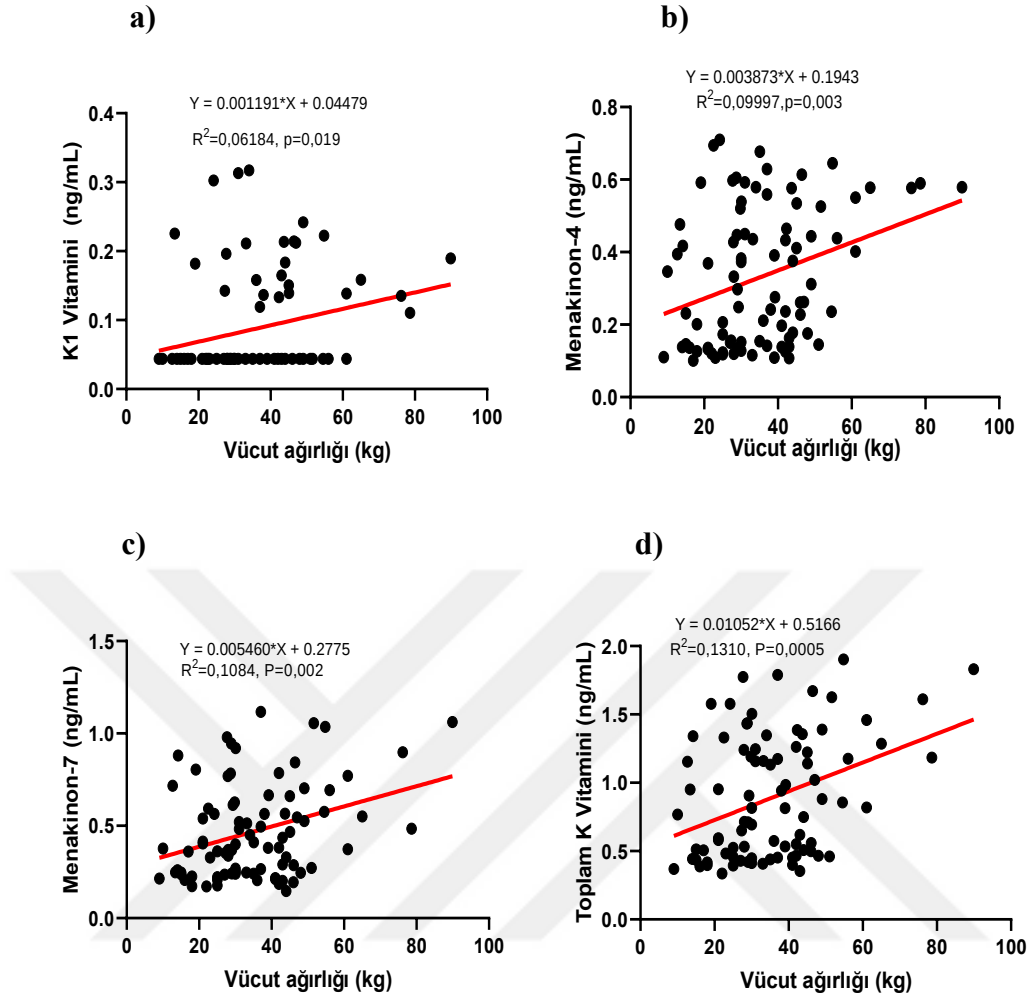
K vitaminleri ile boy uzunluğu arasındaki ilişki incelendiğinde tüm grupta K1 ile p=0,04, r=0,219, menakinin-4 ile p=0,012, r=0,267, menakinin-7 ile p=0,008,

$r=0,279$ ve toplam K vitamini ile $p=0,0035$, $r=0,308$ [Şekil 4.5 (a, b, c ve d)] olacak şekilde anlamlı korelasyonlar bulundu.



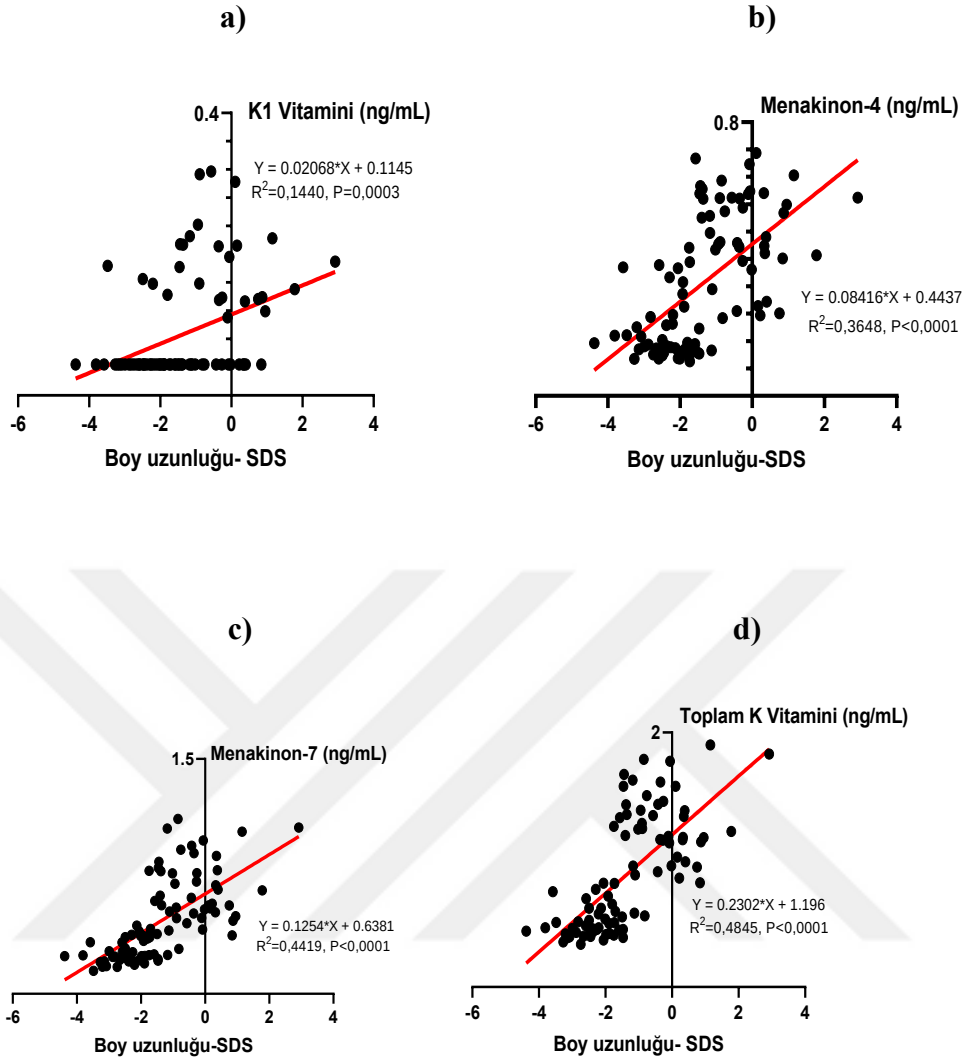
Şekil 4. 5 (a, b, c ve d). K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) ile boy uzunluğu arasındaki korelasyon grafikleri.

K vitaminleri ile vücut ağırlığı arasındaki ilişki incelendiğinde tüm grupta K1 vitamini ile $p=0,019$, $r=0,249$, menakinon-4 ile $p=0,003$, $r=0,316$, menakinon-7 ile $p=0,002$, $r=0,329$ ve toplam K vitamini ile $p=0,0005$, $r=0,362$ [Şekil 4.6 (a, b, c ve d)] olacak şekilde anlamlı korelasyonlar bulundu.



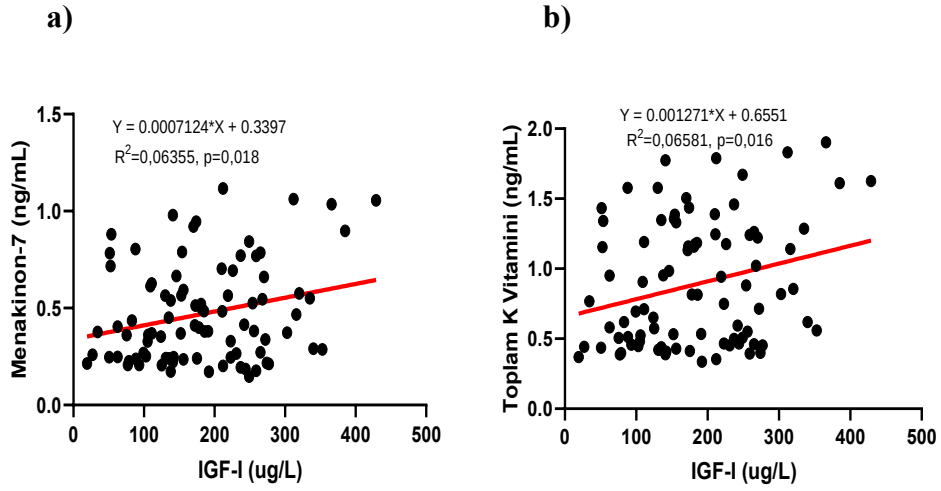
Şekil 4. 6 (a, b, c ve d). K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) ile vücut ağırlığı arasındaki korelasyon grafikleri.

K vitaminleri ile boy uzunluğu-SDS'leri arasındaki ilişki incelendiğinde tüm grupta K1 vitamini ile $p=0,0003$, $r=0,379$, menakinon-4 ile $p<0,0001$, $r=0,604$, menakinon-7 ile $p<0,0001$, $r=0,665$ ve toplam K vitamini ile $p<0,0001$, $r=0,696$ [Şekil 4.7 (a, b, c ve d)] olacak şekilde anlamlı pozitif korelasyonlar bulundu.



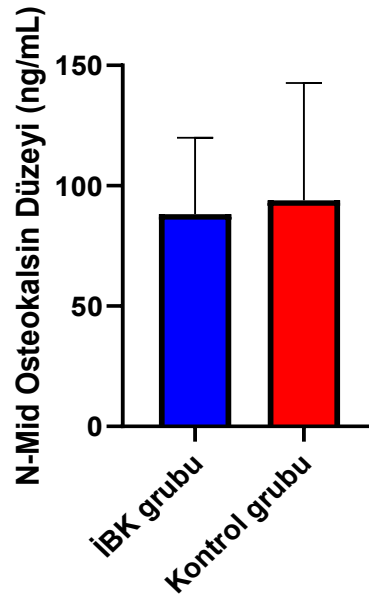
Şekil 4. 7 (a, b, c ve d). K vitaminleri (K1 vitamini, menakionon-4, menakionon-7 ve toplam K vitamini) ile boy uzunluğu-SDS'leri arasındaki korelasyon grafikleri.

K1 vitamini ve menakionon-4 düzeyleri ile IGF-I düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamış iken, menakionon-7 ile $p=0,018$, $r=0,252$ ve toplam K vitamini ile $p=0,016$, $r=0,256$ [Şekil 4.8 (a ve b)] olacak şekilde düşük düzeyde anlamlı korelasyonlar bulundu.



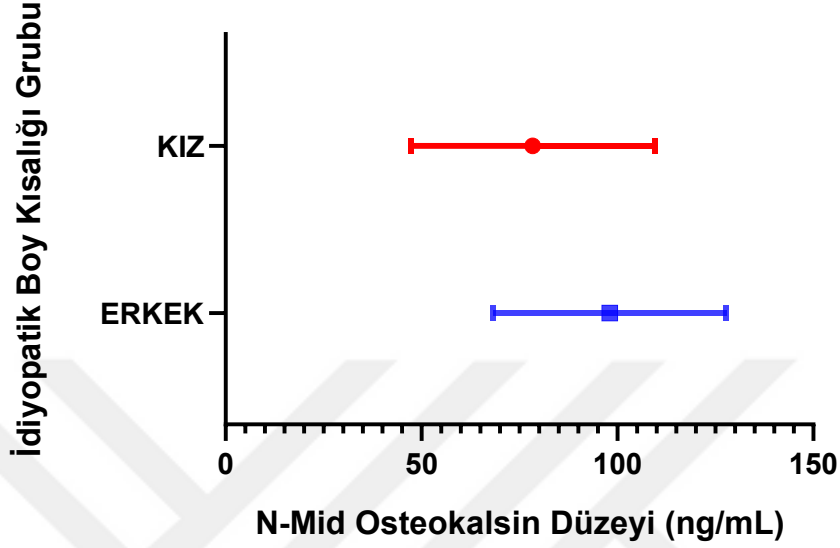
Şekil 4. 8 (a ve b). IGF-I düzeyleri ile menaknon-7 ve toplam K vitamini arasındaki korelasyonların grafikleri.

Gruplar arasında N-mid osteokalsin düzeyleri karşılaştırıldığında, idiyopatik boy kısalığı grubunda daha düşük olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırası ile $88,21 \pm 31,72$ ng/mL ve $93,89 \pm 48,82$ ng/mL, $p > 0,05$) (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda N-mid osteokalsin düzeyleri (ortalama $\pm$ SD).

İdiyopatik boy kısalığı grubu cinsiyete göre ayrıldığında N-mid osteokalsin erkeklerde kızlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırası ile $98,06 \pm 29,78$ ve $78,37 \pm 31,15$ ng/mL, $p=0,038$) (Şekil 4.10).



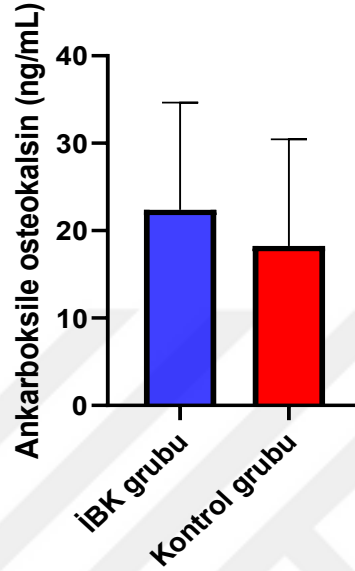
Şekil 4. 10. İdiyopatik boy kısalığı grubunda cinsiyete göre N-mid osteokalsin düzeyleri (ortalama $\pm$ SD).

N-Mid osteokalsin düzeyi ile total ALP, boy uzunluğu, IGF-I ve intakt PTH arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı (Tablo 4.10).

Tablo 4. 6. N-Mid osteokalsin ile toplam ALP, boy uzunluğu, IGF-I ve intakt PTH arasındaki ilişkinin tablosu.

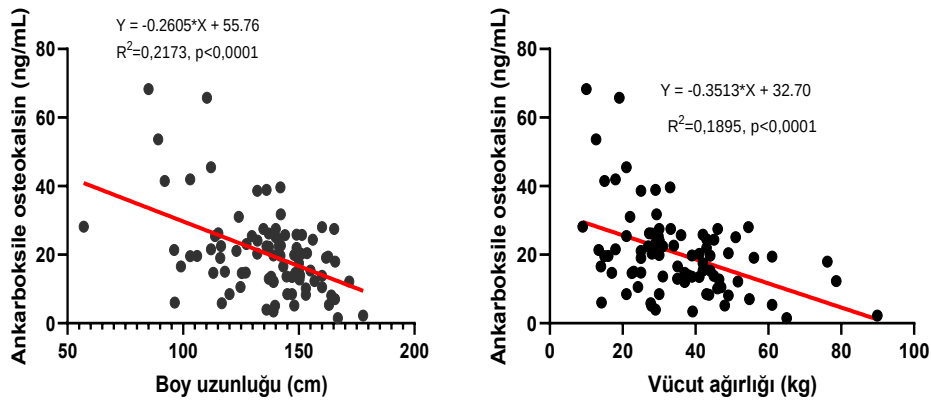
	Korelasyon tespit edilen parametre	p	r
N-Mid Osteokalsin	Total ALP	<0,0001	0,545
	Boy uzunluğu	0,024	0,241
	IGF-I	0,011	0,266
	İntakt PTH	<0,0001	0,419

Gruplar arasında ankarboksile osteokalsin düzeyleri karşılaştırıldığında, idiyoPATİK boy kısalığı grubunda daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırası ile $22,38 \pm 12,28$ ng/mL ve $18,24 \pm 12,22$ ng/mL, $p > 0,05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4. 11. İdiyoPATİK boy kısalığı ve kontrol grubunda ankarboksile osteokalsin düzeyleri (ortalama $\pm$ SD).

Tüm grupta ankarboksile osteokalsin düzeyi ile boy uzunluğu ve vücut ağırlığı arasında anlamlı negatif bir ilişki saptandı (sırası ile, $p < 0,0001$, $r = -0,466$ ve $p < 0,0001$, $r = -0,435$) [Şekil 4.12 (a ve b)].



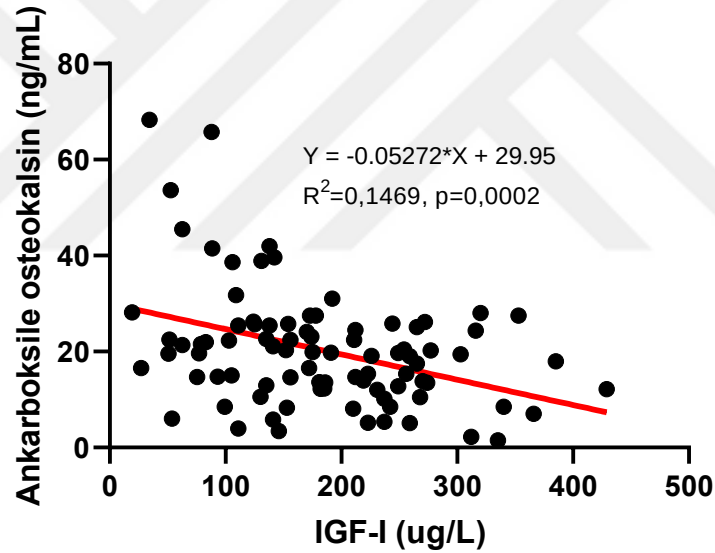
Ankarboksile osteokalsin düzeyi ile tüm grupta, yaş, VKİ, IGF-I ve IGF-BP3 arasında, logaritmik dönüştürülmüş ankarboksile osteokalsin değerleri ile de yaş, boy uzunluğu, vücut ağırlığı, VKİ, IGF-I, IGF-BP3, filokinon, menakinon-4, menakinon-7, toplam K vitamini, boy uzunluğu- SDS'si arasında anlamlı negatif bir ilişki saptandı (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7. Ankarboksile osteokalsin düzeyi ve logaritmik dönüştürülmüş ankarboksile osteokalsin değerleri ile ilişkili parametreler.

	Korelasyon tespit edilen parametre	p	r
Ankarboksile osteokalsin	Yaş	<0,0001	-0,463
	VKİ	0,017	-0,253
	IGF-I	<0,0001	-0,383
	IGF-BP3	0,007	-0,287
	Toplam K vitamini	0,032	-0,229
Log (Ankarboksile osteokalsin)	Yaş	<0,0001	-0,365
	Boy uzunluğu	<0,0001	-0,410
	Vücut ağırlığı	<0,0001	-0,452
	VKİ	0,007	-0,286
	IGF-I	0,001	-0,344
	IGF-BP3	0,009	-0,276
	Filokinon	0,034	-0,226
	Menakinon-4	0,007	-0,285
	Menakinon-7	0,004	-0,306
	Toplam K vitamini	0,001	-0,336
	Boy uzunluğu- SDS	0,012	-0,267

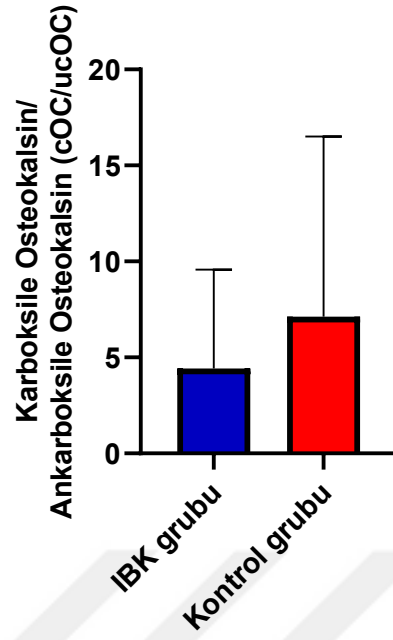
Ankarboksile osteokalsin düzeyi ile toplam K vitamini düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki tespit edilirken ($p=0,032$, $r=-0,229$) (tablo 4.7), ankarboksile osteokalsin ile menakinon-4 ve menakinon-7 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırası ile, $p=0,058$, $r=-0,203$ ve $p=0,069$, $r=-0,195$). Logaritmik dönüştürülmüş ankarboksile osteokalsin değerleri ile menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini arasında anlamlı negatif ilişki tespit edildi (Tablo 4.7).

Ankarboksile osteokalsin ile IGF-I arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı negatif yönlü korelasyon bulunduğu yukarıda belirtildi. Bu korelasyona ait şekil aşağıda verildi ($p=0,0002$, $r=-0,383$) (Şekil 4.13).



Şekil 4. 13. Ankarboksile osteokalsin ile IGF-I arasındaki korelasyonun grafiği.

Gruplar arasında karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin (cOC/ucOC) oranı karşılaştırıldığında, idiyopatik boy kısalığı grubunda daha düşük olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırası ile, $4,43 \pm 5,14$ ve $7,12 \pm 9,39$, $p>0,05$) (Şekil 4.14).



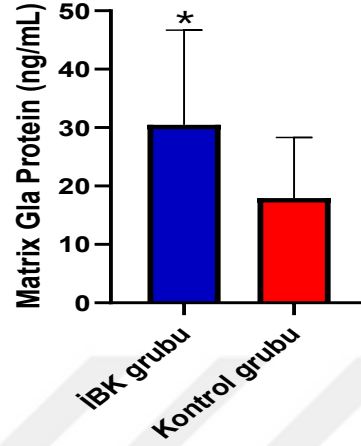
Şekil 4. 14. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin oranı (ortalama±SD).

Karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin oranı ile tüm grupta, yaş, boy uzunluğu, vücut ağırlığı, IGF-I ve toplam vitamin K arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı (Tablo 4.8).

Tablo 4. 8. Karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin oranı ile ilişkili parametreler.

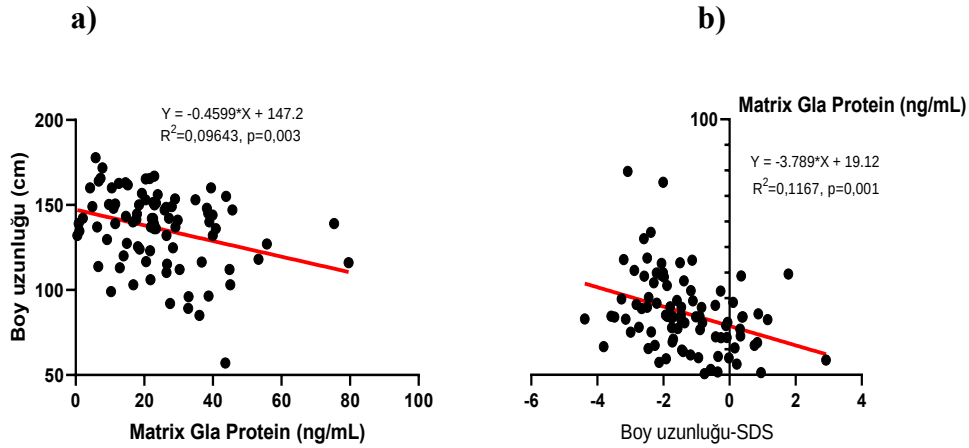
	Korelasyon tespit edilen parametre	p	r
Karboksile osteokalsin/Ankarboksile osteokalsin oranı	Yaş	0,008	0,279
	Boy uzunluğu	0,001	0,342
	Vücut ağırlığı	0,001	0,337
	IGF-I	0,005	0,297
	Toplam K vitamini	0,029	0,234

Gruplar arasında MGP düzeyleri karşılaştırıldığında, idiropatik boy kısalığı grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırası ile $30,47 \pm 16,21$ ng/mL ve $17,94 \pm 10,39$ ng/mL, $p < 0,0001$) (Şekil 4.15).



Şekil 4. 15. İdiropatik boy kısalığı ve kontrol grubunda MGP düzeyleri (ortalama $\pm$ SD). * $p < 0,0001$, t-test.

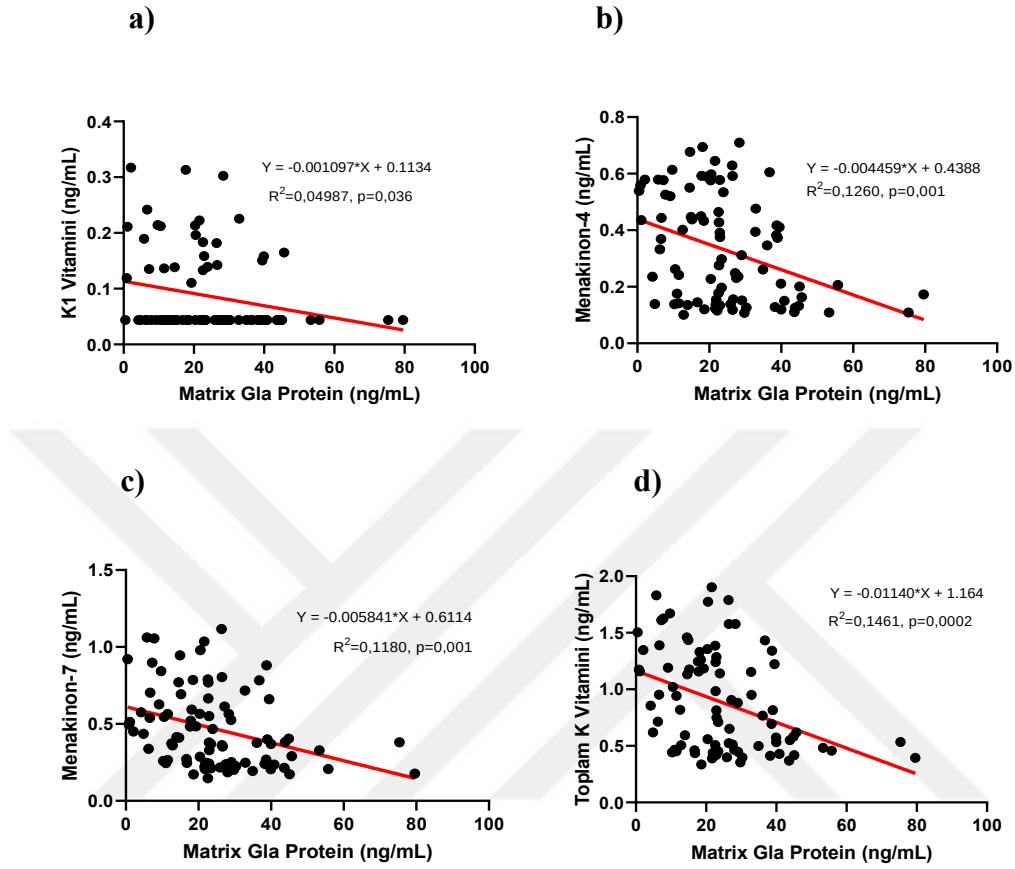
Tüm grupta MGP düzeyi ile boy uzunluğu ve boy uzunluğu-SDS'leri arasında anlamlı negatif bir ilişki saptandı (sırası ile, $p = 0,003$, $r = -0,310$ ve $p = 0,001$, $r = -0,342$) [Şekil 4.16 (a ve b)].



Şekil 4. 16 (a ve b). MGP ile boy uzunluğu ve boy uzunluğu-SDS arasındaki korelasyonların grafiği.

MGP ve K vitaminleri arasındaki ilişki incelendiğinde tüm grupta K1 vitamini ile $p = 0,036$, $r = -0,223$, menakinon-4 ile $p = 0,001$, $r = -0,355$, menakinon-7 ile $p = 0,001$,

$r=-0,344$ ve toplam K vitamini ile $p=0,0002$, $r=-0,382$ [Şekil 4.17 (a, b, c ve d)] olacak şekilde anlamlı negatif korelasyonlar tespit edildi.

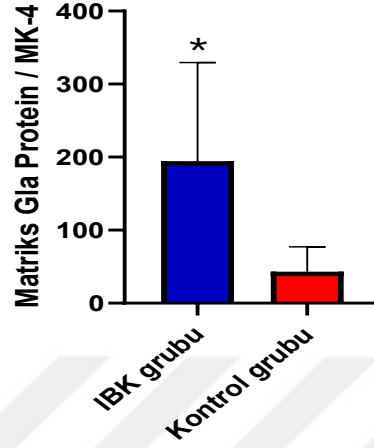


Şekil 4. 17 (a, b, c ve d). MGP ve K vitaminleri (K1 vitamini, menakinon-4, menakinon-7 ve toplam K vitamini) arasındaki korelasyon grafikleri.

Yukarıda bahsedilen parametreler dışında MGP ile vücut ağırlığı, IGF-I ve 25(OH)D vitamini arasında da istatistiksel olarak anlamlı negatif yönlü korelasyon tespit edildi (Tablo 4.9).

Bu projede ankarboksile MGP ölçümleri yapılamamış olsa da MGP/K vitamini oranının ankarboksile MGP düzeyini yansıtabileceği düşünüldü. Gruplar arasında MGP/menakinon-4 ve MGP/menakinon-7 oranları karşılaştırıldığında, idiyopatik boy kısalığı grubunda her iki oranda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırası ile $194,60 \pm 134,90$ ve $43,19 \pm 34,12$, $p < 0,0001$ ve $121,30 \pm 77,88$ ve $30,91 \pm 24,27$, $p < 0,0001$) (Şekil 4.18).

Çoklu regresyon analizinde boy uzunluğu ile MGP/menakinon-4 ve MGP/menakinon-7 oranları değerlendirildiğinde MGP/menakinon-4 oranı daha anlamlı çıktığı için analizlerde MGP/menakinon-4 oranı kullanıldı.

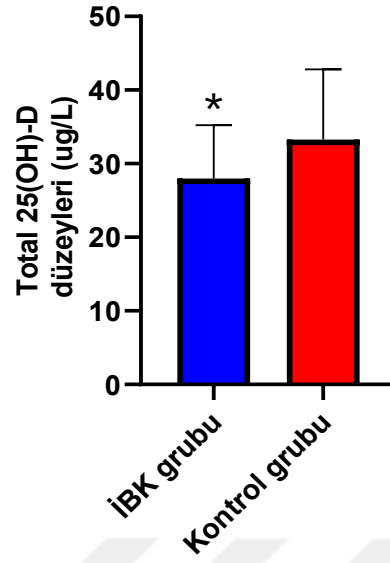


Şekil 4. 18. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda MGP/MK-4 oranı (ortalama±SD). *p<0,0001, t-test.

Tablo 4. 9. MGP ve MGP/MK-4 oranı ile ilişkili parametreler.

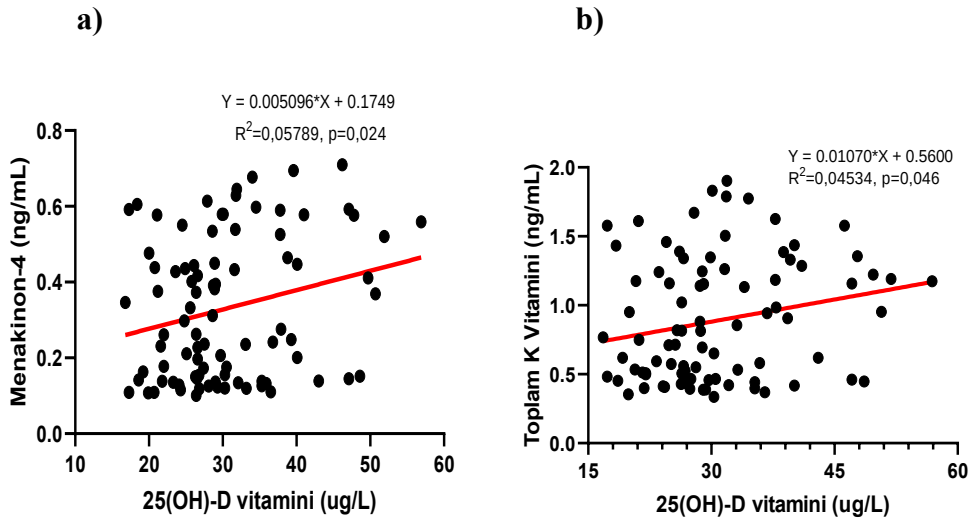
	Korelasyon tespit edilen parametre	p	r
MGP	Vücut ağırlığı	0,003	-0,311
	IGF-I	0,041	-0,219
	25(OH)D vitamini	0,025	-0,238
MGP/MK-4 oranı	Boy uzunluğu	0,005	-0,300
	Vücut ağırlığı	0,005	-0,295
	25(OH)D vitamini	0,025	-0,243
	Log (ankarboksile osteokalsin)	0,042	0,218
	Boy uzunluğu- SDS	<0,0001	-0,551

İdiyopatik boy kısalığı grubunda total 25(OH)D vitamini düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu (sırası ile 27,97±7,28 µg/L ve 33,26±9,56 µg/L, p= 0,004) (Şekil 4.19).



Şekil 4. 19. İdiyopatik boy kısalığı ve kontrol grubunda total 25(OH)D vitamini düzeyleri (ortalama±SD). *p= 0,004, t-testi.

25(OH)D vitamin düzeyleri ile menakinon-4 (p=0,024, r=0,24) ve toplam K vitamini düzeyleri (p=0,046, r=0,213) arasında düşük düzeyde anlamlı pozitif ilişki tespit edildi [Şekil 4.20 (a ve b)].



Şekil 4. 20 (a ve b). 25(OH)D vitamini düzeyleri ile menakinon-4 ve toplam vitamin K düzeyleri arasındaki korelasyonların grafiği.

VKİ ile CRP, IGF-I, toplam K vitamini ve boy uzunluğu-SDS'si ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönlü, ankarboksile osteokalsin ile ise istatistiksel olarak anlamlı negatif yönlü korelasyon tespit edildi (Tablo 4.10).

Tablo 4. 10. VKİ ile ilişkili parametreler.

	Korelasyon tespit edilen parametre	p	r
VKİ	CRP	0,002	0,319
	IGF-I	<0,0001	0,410
	Toplam K vitamini	0,037	0,223
	Boy uzunluğu- SDS	0,046	0,213
	Ankarboksile osteokalsin	0,017	-0,253

Boy uzunluğu ile ilişkili olarak yapılan çoklu regresyon analizinde, matrix Gla protein, ALP, cinsiyet, IGF-I, IGF-BP3, PTH, 25(OH)D vitamini, K1, MK-4, MK-7, IGF-I/IGF-BP3, ankarboksile osteokalsin, N-mid osteokalsin, karboksile/ankarboksile osteokalsin oranı, MGP/menakinon-4 oranı bağımsız parametreler olarak alındığında; menakinon-7, yaş, IGF-I, ALP ve MGP/menakinon-4 oranı düzeylerinin diğer faktörlerden bağımsız olarak boy uzunluğunu etkilediği görüldü (Tablo 4.11). Menakinon-7 düzeyindeki her 1 ng/mL'lik artış boy uzunluğunda 18,517 cm'lik artış ile MGP/menakinon-4 oranındaki her 1 birim artış ise, boy uzunluğunda 0,017 cm'lik azalma ile ilişkili bulunmuştur.

Tablo 4. 11. Boy uzunluğuna etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucu.

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	73,847	3,155		23,403	,000
	Yaş (yıl)	5,863	,283	,913	20,720	,000
2	(Constant)	61,145	2,512		24,338	,000
	Yaş (yıl)	5,905	,194	,919	30,464	,000
	MK-7 (ng/mL)	26,066	2,629	,299	9,916	,000
3	(Constant)	63,149	2,432		25,971	,000
	Yaş (yıl)	5,242	,264	,816	19,890	,000
	MK-7 (ng/mL)	22,626	2,662	,260	8,500	,000
	IGF-I (µg/L)	,036	,010	,148	3,482	,001
4	(Constant)	67,219	2,828		23,765	,000
	Yaş (yıl)	5,186	,256	,807	20,261	,000
	MK-7 (ng/mL)	18,994	2,932	,218	6,478	,000
	IGF-I (µg/L)	,036	,010	,147	3,596	,001
	Matriks/MK4	-,015	,006	-,083	-2,592	,011
5	(Constant)	63,807	3,108		20,527	,000
	Yaş (yıl)	5,187	,249	,808	20,820	,000
	MK-7 (ng/mL)	18,517	2,861	,213	6,471	,000
	IGF-I (µg/L)	,036	,010	,146	3,667	,000
	Matriks/MK4	-,017	,006	-,093	-2,967	,004
	ALP (U/L)	,018	,008	,064	2,365	,020

a. Bağımlı değişken: boy uzunluğu (cm)

Boy uzunluğu-SDS'si ile ilişkili olarak yapılan çoklu regresyon analizinde, matrix Gla protein, ALP, cinsiyet, IGF-I, IGF-BP, PTH, 25(OH)D vitamini, K1, MK-4, MK-7, IGF-I/IGF-BP3, ankarboksile osteokalsin, N-mid osteokalsin, karboksile/ankarboksile osteokalsin oranı bağımsız parametreler olarak alındığında, menakinon-7, 25(OH)D vitamini, yaş ve K1 vitamini düzeylerinin diğer faktörlerden bağımsız olarak boy uzunluğu-SDS'sini etkilediği saptandı (Tablo 4.12).

Tablo 4. 12. Boy uzunluğu-SDS'sine etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucu.

Coefficients ^a					
Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1 (Constant)	-2,997	,228		-13,152	,000
MK-7 (ng/mL)	3,525	,427	,665	8,252	,000
2 (Constant)	-3,922	,397		-9,878	,000
MK-7 (ng/mL)	3,310	,418	,624	7,914	,000
D vit (µg/L)	,034	,012	,221	2,796	,006
3 (Constant)	-4,114	,390		-10,537	,000
MK-7 (ng/mL)	2,990	,422	,564	7,090	,000
D vit (µg/L)	,034	,012	,223	2,925	,004
K1 (ng/mL)	3,810	1,436	,208	2,653	,010

a. Bağımlı değişken: Boy uzunluğu-SDS

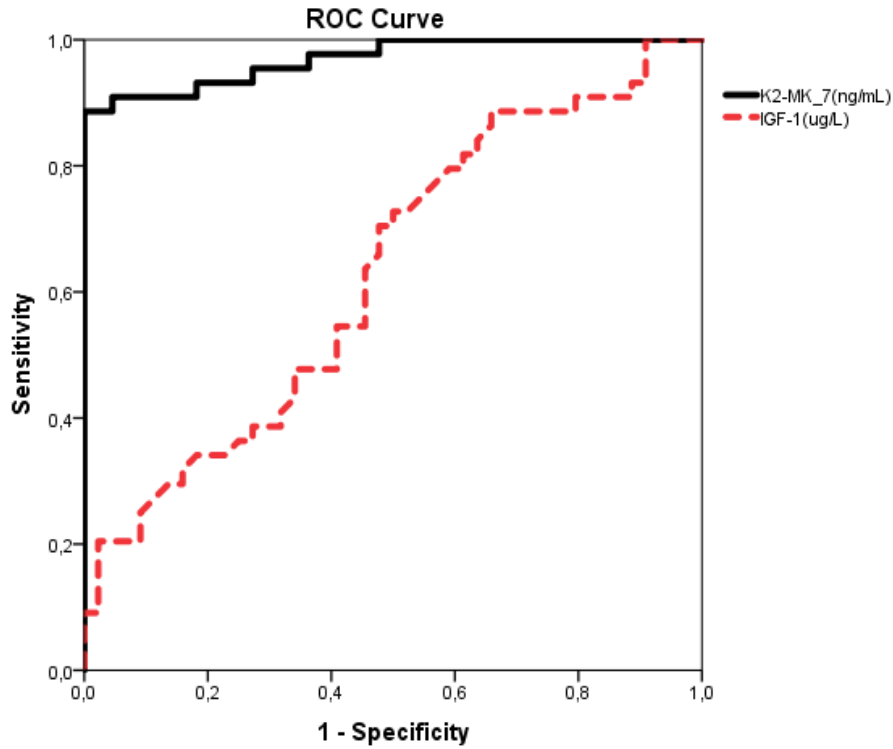
N-Mid osteokalsin ile ilişkili olarak yapılan çoklu regresyon analizinde; K1, MK-4, MK-7, toplam K vitamini, IGF-I, IGF-BP3, PTH, ALP, 25(OH)D vitamini düzeyi bağımsız parametreler olarak alındığında, ALP, IGF-I ve PTH düzeylerinin diğer faktörlerden bağımsız olarak N-mid osteokalsin düzeyini etkilediği görüldü (Tablo 4.13).

Tablo 4. 13. N-Mid osteokalsine etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucu.

Coefficients ^a					
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	Sig.
		B	Std. Error	Beta	
1	(Constant)	29,481	10,863		,008
	ALP (U/L)	,292	,049	,545	,000
2	(Constant)	7,047	12,589		,577
	ALP (U/L)	,292	,046	,544	,000
	IGF-I(µg/L)	,123	,039	,269	,002
3	(Constant)	-4,635	13,059		,724
	ALP (U/L)	,255	,047	,475	,000
	IGF-I(µg/L)	,101	,039	,221	,012
	PTH (ng/L)	,989	,392	,227	,014

a. Bağımlı değişken: N- Mid osteokalsin (ng/ml)

Menakinon-7 düzeyinin prediktif anlamının belirlenmesinde, spesifite ve sensitivitenin değerlendirilmesinde ROC analizi kullanıldı. ROC eğrisi analiz sonuçlarına göre menakinon-7 düzeyi için, cut-off (sınır) değer 0,248 ng/mL olarak alındığında, spesifite (özgüllük) %52,3 sensitivite (duyarlılık) %100, cut-off değer 0,425 ng/mL alındığında ise, spesifite %100, sensitivite %11,4 olarak bulundu. IGF-I için ROC eğrisinin altında kalan alan (AUC) 0,63 (%95 CI: 0,5134 - 0,7459), menakinon-7 için 0,97 (%95 CI: 0,9377 - 1,0000) idi ($p < 0,0001$) (Şekil 4.21).



Şekil 4. 21. Menakinon-7 ve IGF-I düzeylerinin idiyopatik boy kısalığı tanısındaki yerlerinin değerlendirildiği ROC analiz grafiği.

5. TARTIŞMA

Bu projede, büyüme ve gelişme süreçleriyle ilişkili olarak özellikle idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda K vitamini düzeylerinin etkisi incelenmiş ve K vitamini formlarından ölçümü yapılan filokinon, menakinon-4 ve menakinon-7 düzeylerinin idiyopatik boy kısalığı grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu K vitamini formlarının özellikle boy uzunluğu SDS'i, boy uzunluğu ve vücut ağırlığı ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, K vitamininin kemik gelişimi ve büyümesi üzerindeki önemli rolünü kuvvetli bir şekilde desteklemektedir. Yapılan araştırmalarda K vitamininin kemik sağlığını olumlu yönde etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir. Yakın zamanlarda 11-12 yaşlarındaki sağlıklı kızlardan oluşan bir kohortta yapılan çalışmada, daha iyi K vitamini durumunun artan kemik mineral içeriği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (106). Benzer şekilde, 80.000'den fazla katılımcıyı içeren bir meta-analiz değerlendirilmesinde düşük K vitamin düzeyinin, düşük kemik mineral yoğunluğu ve artmış kırık riski, özellikle de kalça kırıkları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (107). Başka bir çalışma da günlük 109 µg'dan fazla K vitamini alan kadınlarda, 109 µg'dan az alanlara kıyasla kalça kırığı riskinde %30 azalma olduğu belirtilmiştir (108). Konuyla ilişkili olarak Cockayne ve ark.'ları tarafından yapılan randomize kontrollü çalışmaların sistematik incelemesi ve meta-analizi, K2 vitamini takviyesinin vertebra kırığı insidansını %60, kalça kırığı insidansını %77 ve vertebra dışı kırıkları %81, BMD kaybını ise 0,27 SD oranında azalttığını göstermiştir (109). Son zamanlarda yapılan, 1457 postmenopozal kadının dahil edildiği geniş bir prospektif kohort çalışması, natto alımının kırık riskiyle ters orantılı olduğunu ortaya koymuştur (110).

Farklı menakinon formlarının kullanıldığı bazı çalışmalarda bu formların, kemik mineral dansitesi üzerinde etkisinin olmadığını ifade etmesine rağmen (111) farklı çalışmalar K vitamini uygulamalarının kemiğin dansitesinden ziyade, kalitesini koruyup kemik gücünü iyileştirdiğine işaret etmektedir (112,113).

K vitamininin kemik metabolizmasındaki rolü uzun süredir bilinmekte ve bu çalışmanın bulguları bu rolü daha fazla desteklemektedir. Osteokalsin ve MGP

gibi K vitamini bağımlı proteinler, kemik dokusunda mineralizasyonu sağlar ve kemiklerin güçlü ve sağlıklı olmasını destekler. Osteokalsin, kemik matriksine bağlı bir proteindir ve K vitamini tarafından karboksilasyon işlemine tabi tutulduğunda aktif hale gelir. Osteokalsin ekspresyonu, 1,25-dihidroksivitamin D₃, glukokortikoidler, PTH, kemik morfogenetik proteinleri, bazik fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2), tümör nekrozis faktör- α ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (114–116) dahil olmak üzere bir dizi kalsitropik hormon ve büyüme faktörü tarafından düzenlenir. Normal çocuklar ve ergenlerde serum osteokalsin düzeylerinin yaş ve cinsiyet ile ilişkili olarak değiştiği ve büyüme hızı eğrisine paralellik gösterdiği ifade edilmiştir (117). Benzer şekilde serum osteokalsin düzeylerinin, pubertedeki hızlı iskelet büyümesi ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir. Çocuklarda büyümenin pik yaptığı dönemde osteokalsin düzeylerinin en az 10 kat yükseldiği gösterilmiş ve çocuklardaki K vitamini gereksiniminin özellikle bu dönemde yetişkinlere kıyasla çok daha fazla olacağı düşünülmüştür (118). Buna bağlı olarak hızlı büyüme dönemlerinde yüksek ihtiyaç ve düşük alım, subklinik olarak K vitamin eksikliğinin ortaya çıkmasını tetikleyebilecektir (119).

Bu çalışmada idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda N-mid osteokalsin düzeyi düşük olarak bulunmuş, ancak bu düşüklüğün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, tip 1 diyabetli çocuklarda, glukokortikoid tedavisi alan çocuklarda, D vitamini eksikliği riketsi ve ailesel hipofosfatemik riketsi olan çocuklarda serum osteokalsin konsantrasyonu düşük olarak bildirilmiştir (120). BH eksikliği olan çocukların dahil edildiği bir diğer çalışmada osteokalsin düzeyleri %95'lik normal güven aralığının altında tespit edilmiştir (121). Bu tespit, bizim bulgularımız ile de kısmen desteklenmiştir. Kesitsel bir çalışmada BH eksikliği olan ve BH tedavisi gören çocuklarda, tedavi almayan çocuklara göre osteokalsin düzeylerinin önemli ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir. Prospektif bir çalışmada ise, serum osteokalsin konsantrasyonunun BH tedavisinin 3-6. ayında zirveye ulaştığı ve ölçümlerin, sadece uzunlamasına büyümenin gerçekleştiği bölgeleri değil, tüm iskeletteki olayları yansıttığı belirtilmiştir (121).

Bu çalışmada idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda ankarboksile osteokalsin düzeylerinin yüksek, karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin

oranının ise düşük olduğu, ancak bu yükseklik ve düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı olmadığı da gösterilmiştir. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olmasına rağmen, karboksilasyondan geçmemiş osteokalsinin, kemik dokusunda mineralizasyonu yeterince sağlayamadığı, bunun da kemiklerin zayıf olmasına ve büyümenin yavaşlamasına neden olabileceğı düşünölmüştür. Horiuchi ve ark.'ları, osteopeni veya osteoporozu olan kişilerdeki serum ucOC düzeylerinin, normal BMD'li bireylerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur (122). Çin popölasyonunda yapılan bir diğér çalışmada ise daha yüksek ucOC düzeyinin hem erkeklerde hem de kadınlarda lomber omurga, femur boynu ve total kalça BMD'si ile negatif korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (123). Cummings ve ark.'ları yaptıkları prospektif çalışmada ucOC düzeyleri anormal olan hastaların femur boynu BMD'sinde %26'lık bir azalmanın, kalça kırığı riskini beş ila yedi kat artırdığını göstermişlerdir (124). Çalışmamızda çocuklarda K vitamini eksikliğinin, bu proteinlerin yeterince aktifleşememesine ve kemik gelişiminin yeterli düzeyde gerçekleşmemesine yol açabileceğı düşünölmüştür.

Yapılan çalışmalarda karboksile edilmemiş osteokalsin düzeyinin, insan vücudundaki K vitamini durumunun hassas bir belirteci olarak kabul edilebileceğı belirtilmiştir (125). Ankarboksile osteokalsin düzeyinin K vitamini alımının bir göstergesi olarak geçerliliğı, plazma K vitamini düzeyi ile plazma ankarboksile osteokalsin düzeyi arasında anlamlı ters korelasyon gösteren birkaç çalışma ile desteklenmiştir (126,127). Çalışmamızda da ankarboksile osteokalsin ile toplam K vitamini, logaritmik dönüştürölmüş ankarboksile osteokalsin ile de K1, MK-4 ve MK-7 arasında anlamlı benzer şekilde negatif ilişki bulunmuştur. Bu bulgularımız önceki çalışmaları destekler niteliktedir.

Çalışmamızda N-mid osteokalsin ve ankarboksile osteokalsin düzeyleri kontrolden farklı ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen, boy uzunluğu ile N-mid osteokalsin düzeyleri arasında pozitif, logaritmik olarak dönüştürölmüş ankarboksile osteokalsin düzeyleri ile ise negatif korelasyon bulunmuştur. Bu bulgularımız kemik gelişiminde ve boy uzamasında osteokalsin ve kalsifikasyonu için gerekli olan K vitamininin son derece önemli olduğunu düşündürmüştür.

Mevcut çalışmamızda MGP düzeyleri İBK grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda serum MGP düzeylerindeki artışın, genellikle vücudun kalsifikasyon riskine karşı bir savunma mekanizması olarak yorumlanabileceği belirtilmiştir (128–131). Buna bağlı olarak İBK'daki MGP artışının da büyüme plaklarında ve/veya kemiklerde uygun olmayan kalsifikasyonları engellemek amacıyla olabileceği düşünülmüştür. MGP, biyolojik olarak aktif hale gelmek için fosforilasyon ve karboksilasyon adı verilen iki temel post-translasyonel modifikasyondan geçer. Karboksilasyon, MGP'nin kalsiyuma bağlanabilmesini ve arterlerdeki veya kıkırdaktaki kalsifikasyonu önleyebilmesini sağlar. K vitamini eksikliği durumunda ise bu karboksilasyon eksik olur ve "karboksillenmemiş MGP" oluşur. Bu form, biyolojik olarak inaktif olup, kalsifikasyonu yeterince önleyemez. Mevcut çalışmamızda ankarboksile MGP düzeyleri çalışmamadı. Ancak total MGP düzeylerinin K2 vitamin düzeylerine bölünmesinin ankarboksile MGP düzeylerini yansıtabileceği düşünüldü ve bu oranın boy uzunluğu, vücut ağırlığı, D vitamini ve boy uzunluğu SDS'si ile negatif, log (ankarboksile osteokalsin) ile ise pozitif olarak ilişkili olduğu görüldü. Bu bulgular İBK grubunda yüksek olarak bulduğumuz MGP'nin özellikle ankarboksile MGP olabileceğini ve kalsifikasyon üzerindeki inhibitör etkisinin yetersiz kalabileceğini düşündürdü. Buna bağlı olarakta MGP/K2 oranındaki artışın arteriyel ve kıkırdak kalsifikasyon riskini artırarak kardiyovasküler, kas-iskelet sistemi hastalıkları ve boy kısalığına neden olabileceği şeklinde yorumlandı. Boy kısalığı olan kişilerde kardiyovasküler/vasküler kalsifikasyon olaylarının daha fazla görülmesi bu fikrimizi destekler şekildedir (132).

Yukarıda da bahsedildiği gibi büyüme dönemindeki çocuklarda, kemik döngüsünün hızlanması nedeniyle hem kemiğin büyümesi hem de kalitesi için gerekli olan K vitamini ihtiyacının artabileceği göz önünde tutulmalıdır. K vitamini, çoğunlukla karaciğerde depolanır ve buradaki depo daha çok koagülasyon proteinleri için kullanılır. Dünya sağlık örgütü, günlük alınması gereken K vitamini miktarını 1 µg/kg/gün olarak önermiş olmasına rağmen, yapılan çalışmalar, ekstra hepatik dokulardaki (kemik ve damar gibi) kullanım için daha fazla miktarda K vitaminine ihtiyaç olacağına işaret etmektedir (133,134). Yetişkin Japon kadınlarda yapılan bir çalışmada 65 µg/gün K vitamini alınmasının osteokalsinin γ-

karboksilasyonu için yetersiz olduğunu göstermiştir (84). Hafif K vitamini eksikliği pıhtılaşma yolunda önemli değişikliklere neden olmazken, ekstrahepatik K vitamini bağımlı proteinlerin karboksilasyonu subklinik eksiklik durumlarından çok daha fazla etkilenir (135). K vitamini ile osteoporoz, kemik kaybı ve kırıklar konusunda pek çok çalışma yapılmış olsa da kemik kaybı üzerindeki K vitamininin varsayılan koruyucu etkisi için gerekli optimal dozu ve formu şu anda bilinmemektedir; çalışmaların çoğunda kadınlar ve erkekler için sırasıyla 90-120 µg fillokinon/gün olan güncel diyet önerilerinden yaklaşık 400 kat daha yüksek olan MK-4 dozları kullanılmıştır (136). Bu bilgiler değerlendirildiğinde büyüme dönemindeki çocuklarda gerekli olan K vitamini düzeyinin belirlenmesi ve bu düzeylerin besinler/supplementler ile karşılanması oldukça önemli olmaktadır.

İBK'nin etiyolojisinde K vitamininin rolü, büyüme hormonlarıyla olan ilişkisi üzerinden de değerlendirilebilir. BH ve IGF-I, postnatal dönemde normal uzunlamasına kemik büyümesi ve kütlesinin elde edilmesi için temel öneme sahiptir ve cinsiyet hormonları ile kemik büyümesi ve gelişiminde önemli bir rol oynar (137). Kemik oluşumu, osteoprogenitör hücrelerin çoğalması ve osteoblastların farklılaşmış işlevi üzerindeki etkilerle düzenlenen bir süreçtir. Bu çoğalma ve farklılaşmayı aynı anda uyarabilen tek sistemik faktör IGF-I'dir (138).

Yapılan bir çalışmada insan osteoblast benzeri MG-63 hücrelerinin IGF-I ile inkübasyonunun, osteokalsin mRNA seviyelerinde yaklaşık 2,2 kat artışa neden olduğu gösterilmiştir. Kudo ve ark'larının yaptığı çalışmada, IGF-I ve K2 vitaminin Gla içeren osteokalsin salınımı üzerinde aditif bir uyarıcı etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. IGF-I ve K2 vitaminin Gla içeren osteokalsin salınımı üzerindeki uyarıcı etkisinin, en az iki düzenleyici adımın sonucu olabileceği ifade edilmiştir; ilki, IGF-I tarafından osteokalsin sentezinin artışıdır ve bu, gama-karboksilasyonun öncüsü olarak işlev görürken, ikincisi, vitamin K2'nin glutamik asit kalıntılarının gama-karboksilasyonu üzerindeki doğrudan etkisidir (139). Benzer şekilde 24 saatlik fetal rat kafatası hücre kültürlerinde IGF-I, bazik FGF ve asidik FGF'nin osteokalsin sentezini 1,5-2,5 kat artırdığı gösterilmiştir, ancak yalnızca IGF-I'in etkisi, 1,25 dihidroksivitamin D₃'ün uyarıcı etkisiyle sinerjik bulunmuştur. Bu etkiler 1,25 dihidroksivitamin D₃'ün etkisiyle karşılaştırıldığında küçük bir büyüklüktedir (140).

Paratiroid hormonu, kalsiyum homeostazının, kemik oluşumu ve osteoblast aktivitesinin önemli düzenleyicisidir. PTH'nin osteoblastlar ve kemik üzerinde *in-vitro* ve *in-vivo* katabolik ve anabolik etkileri vardır; bu etkiler, uygulamanın zamansal düzenine bağlıdır; sürekli uygulama kemik kütlesini azaltırken, aralıklı uygulama kemik kütlesini artırır. MC3T3-E1 preosteoblastik hücreler ve kemik iliği stromal hücrelerinin primer kültürlerinin kullanıldığı çalışmada PTH'nın, her iki hücre tipinde de osteokalsin mRNA düzeylerini 4-5 kat artırdığı gösterilmiştir (141). PTH, *in-vivo* olarak da osteoblast farklılaşmasını teşvik ettiği ve aynı zamanda osteokalsinin mRNA seviyelerinde bir artışa neden olduğu belirtilmiştir (142). IGF-I, osteoblastlar tarafından yerel olarak da üretilir ve bu üretim sadece BH tarafından değil, aynı zamanda diğer faktörler tarafından da kontrol edilir. Kemik IGF-I aktivitesi birden fazla seviyede düzenlenebilir (143). Osteoblastla zenginleştirilmiş hücre modellerinde hem PTH hem de prostaglandin E2'nin, IGF-I mRNA seviyelerini artırabileceği gösterilmiştir (144). IGF-I, hücresel büyüme, farklılaşma, hayatta kalma ve hücre döngüsü ilerlemesinde merkezi bir rol oynar (145). Çalışmamızda boy kısalığı grubunda IGF-I ve IGF-BP3 düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslanınca anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Aynı zamanda IGF-I düzeyleri; menakinon-7, toplam K vitamini düzeyleri, N-mid osteokalsin ve karboksile osteokalsin/ankarboksile osteokalsin oranı ile pozitif, MGP, ankarboksile osteokalsin düzeyi ve logaritmik dönüştürülmüş ankarboksile osteokalsin değerleri ile ise negatif ilişkili tespit edilmiştir. N-mid osteokalsine etkisi olan parametrelerin gösterildiği çoklu regresyon analiz sonucunda ise total ALP, IGF-I ve intakt PTH düzeylerinin N-mid osteokalsin düzeyini diğer faktörlerden bağımsız olarak etkilediği gösterilmiştir. Bu bulgumuz IGF-I ve PTH'nın osteokalsin sentezindeki rolüne işaret etmekte ve önceki çalışmaların bulgularını desteklemektedir. Çalışmamızda IGF-I ile menakinon-7 arasında anlamlı bir ilişki olduğu da gösterilmiştir. Boy uzunluğu ile ilişkili parametrelerin değerlendirildiği regresyon analizinde, IGF-I, menakinon-7, yaş ve total ALP düzeylerinin diğer parametrelerden bağımsız olarak boy uzunluğunu etkilediği gösterilmiştir. Aynı zamanda, IGF-I ve menakinon-7'nin İBK tanısındaki yerini değerlendirmek için ROC eğrileri analizi de yapılmış olup ROC eğrilerinin altında kalan alan (AUC); IGF-I için 0,63 (%95 CI: 0,5134 - 0,7459), menakinon-7 için

0,97 (%95 CI: 0,9377 - 1,0000) olarak tespit edilmiştir. Bu alanlar baz alındığında menakinon-7'nin İBK tanısında IGF-I'den daha yararlı bir parametre olabileceği düşünülmüştür ($p < 0,0001$).

D vitamini ve IGF-I arasındaki etkileşim yakın zamanda araştırmalarda yer almıştır. Kesitsel çalışmalarda, sağlıklı yetişkinlerde 25(OH)D vitamini ile IGF-I konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon gösterilmiştir (146,147). Ayrıca *in-vitro* çalışmalar, IGF-I'in 1α -hidroksilaz ekspresyonunu ve aktivitesini uyararak 1,25-dihidroksivitamin D'yi arttırdığını göstermiştir (148). Çalışmamızda idiopatik boy kısalığı grubunda, IGF-I ve D vitamin düzeyleri düşük saptanmış olmasına rağmen iki parametre arasında yukarıda bahsedildiği şekilde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak hem IGF-I'in hem de D vitamininin K2 vitamin düzeyleri ve logaritmik tabana göre hesaplanmış K2 vitaminleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Regresyon analizlerinde IGF-I'in, hem boy uzunluğu hem de boy uzunluğu-SDS'ini, D vitamininin ise sadece boy uzunluğu-SDS'ini bağımsız olarak etkilediği gösterilmiştir. Bu çalışmada IGF-I ve D vitamininin hem K2 vitaminleri hem de boy uzunluğu ile ilişkilerinin gösterilmesi bu büyüme faktörü ve vitaminlerin boy kısalığı etyolojisinde birlikte rol aldıklarını düşündürmüştür.

Price ve ark.'larının yaptığı çalışmada doğumundan itibaren 8 ay boyunca, kemik Gla protein düzeyini normalin %2'sine düşürecek kadar warfarin verilen sıçanlarda, proksimal tibial büyüme plaklarının tamamen kaynaması ve uzunlamasına büyümenin durması ile karakterize edilen aşırı mineralizasyon bozukluğu görülmüştür. Normal koşullarda yetişkin sıçanlarda büyüme plağı kapanması asla gerçekleşmezken çalışmadaki aşırı mineralizasyon bozukluğunun, *in-vitro* olarak mineralizasyonu güçlü bir şekilde inhibe eden kemik Gla proteininin azalmış seviyeleri ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (149). Bu anormalliklerin genel özellikleri, insanlarda fetal warfarin sendromuna benzemektedir; bu sendrom da büyüme plağında aşırı mineralizasyon ile karakterizedir. Fetal warfarin sendromu (FWS) veya warfarin embriyopatisi, gebelik sırasında annenin warfarin alımına fetal maruziyet sonucu oluşan nadir bir durumdur. FWS, ilk trimester sırasında warfarine maruz kalan fetüslerin %15-25'inde tanımlanmıştır. En tutarlı fetal anomaliler burun hipoplazisi ve vertebra veya uzun kemik epifizlerinde

beneklenme (kalsifikasyon) ve büyüme plağı kapanma anormalliğidir (149,150). Bu veriler ışığında idiyopatik boy kısalığı etiyojijisinde K vitamini eksikliği göz ardı edilmemeli ve büyüme bozukluklarının incelenmesinde önemli bir biyokimyasal belirteç olarak değeriendirilmelidir.

Yapılan bir çalışmada MK-4'ün fare kemik iliğı hücrelerinde ALP aktivitesini ve osteoblastların erken farklılaşma göstergesi olan bir belirteci uyardığı tespit edilmiş (151) ve bu tür uyarılmanın, artan doku non-spesifik ALP mRNA ekspresyonu ile sonuçlandığı belirtilmiştir. Benzer şekilde MK-4'ün, osteoblastik hücrelerde hücresele farklılaşmayı ve fonksiyonları modüle edebildiğı (152) ve MK-4 konsantrasyonlarına (0.5-10 µM) yanıt olarak ALP aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (92). Çalışmamızda ALP ile K vitaminleri arasında bir ilişki bulunmazken, ALP ile N-mid osteokalsin düzeyleri ve boy uzunluğu arasında anlamlı pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir. Bu bulgularımız boy kısalığı olan grupta kemik yapım belirteçlerinin yeterli düzeyde yapılmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çalışmamızda İBK grubunda D vitamin düzeyleri kontrol grubundan düşük olarak bulunmuştur. K vitamininin, D vitamini ile sinerjik çalışarak kemik metabolizmasını desteklediğı düşünölmektedir. D vitamini, kalsiyum emilimini artırarak kemik yapımına katkı sağlarken, K vitamini bu kalsiyumun kemik dokusuna bağlanmasını sağlar. D ve K vitaminlerinin eksikliğinin birlikte olması kemik büyümesinde daha büyük sorunlara yol açabilir. Yapılan bir çalışmada şiddetli fiziksel engeli olan çocuklarda D ve K vitaminlerinin kombine kullanılmasının ikinci metakarpal kortikal kemik kütesini artırdığı gösterilmiştir (153,154). Yapılan bir diğeri çalışmada ise, uzun süreli glukokortikoid tedavisi gören çocuklarda D ve K vitamini tedavisinin birlikte uygulanmasının serum karboksile osteokalsin düzeyi ve lomber kemik kütesini artırdığı, serum karboksile olmayan osteokalsin düzeyini ise azalttığı gösterilmiştir (155). Benzer şekilde K vitamininin, insan periosteal osteoblastları tarafından 1,25-dihidroksivitamin D3 ile indüklenen mineralizasyonu *in-vitro* olarak artırdığı da göstermiştir (156). Çalışmamamızda elde ettiğimiz veriler bu çalışmaları destekler şekilde D vitamini ile menakinon-4 arasında anlamlı pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir.

Bu çalışmada bilimsel literatürde ilk defa olmak üzere K vitamini eksikliğinin, çocuklarda kemik mineralizasyonunu olumsuz etkileyerek kemiklerin sağlıklı bir şekilde büyümesini engelleyebileceği ve boy kısalığına yol açabileceği ifade edilmiştir. Mevcut çalışma aynı zamanda K vitamini eksikliğinin kemik sağlığını nasıl etkilediğine dair daha önceki araştırmaları da desteklemektedir.

Çalışmamız idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda K vitamini düzeylerinin düşük bulunması, büyüme sürecinde vitaminin biyolojik rolünün yeterince karşılanmadığını göstermektedir. Özellikle, analizini yaptığımız K vitamini formlarının düşük bulunması ve bunların boy uzunluğu ile tespit edilen ilişkisi, K vitamininin büyüme hormonlarıyla olan ilişkisini göz önüne sermektedir. Büyüme hormonu ve IGF-I gibi faktörler, büyümenin düzenlenmesinde rol oynarken, K vitamini bu süreçte kemik gelişimi ve mineralizasyonu sağlayarak büyümeyi destekleyebilir. Çalışmada özellikle menakinon-7'nin boy uzunluğu üzerinde diğer faktörlerden bağımsız olarak etkisinin gösterilmesi, bu spesifik K vitamini formunun kemik gelişimi üzerindeki önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Genel olarak, bu bulgular, K vitamini eksikliğinin İBK'ye neden olan veya bu durumu daha da kötüleştiren faktörlerden biri olabileceğini öne sürmektedir. K vitamini takviyesinin bu tür vakalarda olumlu sonuçlar verebileceği hipotezi, çalışmada elde edilen verilerle desteklenmektedir.

Klinik Uygulamalar ve Tedavi Stratejileri

İdiyopatik boy kısalığı tedavisinde genellikle büyüme hormonları kullanılırken, bu çalışmanın bulguları, K vitamini eksikliğinin tedavi sürecinde akılda bulundurulması gereken önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır. İBK'li çocuklarda K vitamini seviyelerinin düşük olması, büyüme sürecinde bu vitaminin eksikliğinin önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, K vitamini takviyesinin İBK tedavisinde kullanılabilecek bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Klinik uygulamalarda, büyüme hormon tedavileri genellikle uzun süreli ve pahalı yöntemlerdir. K vitamini takviyesi ise nispeten daha uygun maliyetli ve yan etkileri az olan bir tedavi seçeneği sunmaktadır. Özellikle menakinon-7'nin

büyüme üzerindeki olumlu etkileri göz önüne alındığında, bu formun K vitamini tedavisinde öncelikli olarak tercih edilebileceği düşünülebilir. MK-7, uzun yarılanma ömrüne sahip olduğu için kemiklerde daha uzun süre kalarak kemik mineralizasyonunu destekleyebilir (157). Bu sayede çocuklarda boy uzaması üzerinde olumlu etkiler gösterebilir. Bu bağlamda, klinik uygulamalarda K vitamininin özellikle erken yaşlarda rutin olarak kontrol edilmesi ve K vitamini eksikliği saptanan çocuklarda takviye tedavisine başlanması önerilebilir.

Ayrıca, K vitamininin diğer besin öğeleri, özellikle D vitamini ile olan sinerjik etkisi de dikkate alınmalıdır. D vitamini eksikliği olan çocuklarda K vitamini takviyesi ile D vitamini düzeylerinin de kontrol edilmesi, daha etkili bir tedavi sunabilir.

Çalışmanın Sınırlamaları ve Gelecek Araştırmalar İçin Öneriler

Her bilimsel çalışmada olduğu gibi, bu araştırmanın da bazı sınırlamaları bulunmaktadır. İlk olarak, çalışma örneklem büyüklüğü sınırlı olduğundan, sonuçların genellenebilirliği açısından dikkatli olunmalıdır. Araştırmada yer alan çocuk sayısı nispeten düşük olduğu için, daha geniş örneklem gruplarıyla yapılacak çalışmalar bulguların doğruluğunu daha da pekiştirebilir. Özellikle farklı sosyoekonomik ve genetik arka planlara sahip çocuklarla yapılacak araştırmalar, İBK ve K vitamini eksikliği arasındaki ilişkinin daha geniş bir perspektiften incelenmesine olanak tanıyabilir. Mevcut çalışma kesitsel planlanmıştır. K vitamini, osteokalsin, MGP ve boy kısalığı arasındaki spesifik nedenselliği ve mekanizmayı ortaya koymak için randomize kontrollü ve/veya prospektif çalışmaların yapılması gerekmektedir. K vitamini seviyelerinin zaman içinde nasıl değiştiği ve bu değişikliklerin uzun vadeli büyüme üzerindeki etkileri hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Prospektif olarak planlanacak çalışmalar, K vitamininin zaman içindeki düzeylerini izleyerek bu değişikliklerin çocukların büyümesi üzerindeki etkilerini daha iyi açıklayabilir. Özellikle K vitamini takviyesi yapılan çocukların uzun vadede nasıl bir büyüme süreci geçirecekleri incelenebilir.

K vitamini formlarının etkinlikleri arasındaki farkların tam anlamıyla açıklanamaması çalışmamızın bir diğer sınırlamasıdır. Filokinon, menakinon-4 ve

menakinon-7 formları arasındaki biyokimyasal farklar dikkate alınmış olsa da bu farkların boy uzaması üzerindeki spesifik etkileri daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır. Gelecek çalışmalarda, K vitamininin farklı formlarının büyüme üzerindeki etkileri ayrı ayrı incelenerek, hangi formun daha etkili olduğu belirlenebilir.

Bu çalışmada sadece K vitamini üzerine odaklanılmış olup, diğer beslenme faktörleri göz önünde bulundurulmamıştır. Kalsiyum, fosfor ve D vitamini gibi diğer önemli besin öğelerinin K vitamini ile olan etkileşimleri büyüme sürecini etkileyebilir. Gelecekte yapılacak araştırmalarda, bu besin öğelerinin K vitamini ile nasıl etkileşime geçtiği ve büyüme üzerindeki toplam etkileri daha detaylı bir şekilde ele alınmalıdır.

Son olarak, serumda ankarboksile osteokalsin ve MGP düzeylerini ölçmek için ticari ELISA kitleri kullanılmıştır, bu yöntemin altın standart bir yöntem olmaması ve manuel işlemlerden etkilenebilmesi nedeniyle, bu çalışmadaki serum ankarboksile osteokalsin ve MGP düzeyleri, tam otomatik immunoassay veya kütle spektrometresi ile elde edilen sonuçları birebir yansıtmayabilir bu da çalışmanın bir diğer sınırlaması olabilir.

6. SONUÇLAR

İdiyopatik boy kısalığı, çocuklarda büyüme geriliğinin altında yatan belirgin bir patolojik nedenin bulunmadığı bir durumu ifade eder. Literatürde, İBK'nin nedenlerine yönelik yapılan araştırmalar genetik faktörler, hormonal dengesizlikler ve çevresel etkenler gibi çeşitli unsurlara işaret etmektedir. Bu çalışmada K vitamininin İBK'de önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir.

Çalışmanın bulguları, idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda K vitamini eksikliğinin göz ardı edilmemesi gerektiğini öne sürmektedir. Bununla birlikte, literatürde K vitamini ve K vitamini ilişki proteinlerin eksikliği ve/veya inaktif formlarının idiyopatik boy kısalığı ile doğrudan ilişkisinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma bulunması, bu araştırmanın özgün katkısını ön plana çıkarmaktadır. Bu çalışmanın bulguları, K vitamininin idiyopatik boy kısalığı gibi karmaşık büyüme bozukluklarının etiyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, K vitamininin büyüme ve kemik sağlığı üzerindeki rolünün daha fazla araştırılması, çocuklarda büyüme sorunlarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabileceği gibi, boy kısalığı tedavisi için de yeni bir yaklaşım getirebilir.

Ancak çalışmamızın kesitsel yapısı, K vitamini ve boy kısalığı arasındaki ilişkiyi nedensellik açısından değerlendirme olanağını sınırlamaktadır. Bu ilişkinin daha net bir şekilde ortaya konması için ise ileriye dönük, uzun vadeli ve daha geniş örneklem gruplarını kapsayan randomize kontrollü çalışmalar gerekmektedir.

7. ÖZET

Amaç: Boy kısalığı, hem sosyal hem de tıbbi açıdan önemli bir sorundur. K vitamini, glutamat gama-karboksilaz enziminin koenzimidir ve K vitaminine bağımlı 17 proteinin glutamik asit kalıntılarının gama-karbonuna karboksil grubu eklenmesinde rol oynar. Bu K vitamini bağımlı proteinlerin bir kısmı kemik metabolizması üzerinde de etkilidir. Bu projede; K vitamini ile kemik dokusu gelişimi/büyümesi arasındaki ilişki temelinde, çocukluk döneminde K vitamini eksikliğinin idiyopatik boy kısalığı gelişimindeki rolü ve bu etkiye aracılık eden olası mekanizmaların incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamıza, idiyopatik boy kısalığı tanısı alan 44 çocuk (22 kız ve 22 erkek, yaş: $10,70 \pm 3,40$) ile, aynı yaş ve cinsiyette 44 normal boyda çocuk (22 kız ve 22 erkek, yaş: $10,60 \pm 3,50$) dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan İBK ve kontrol gruplarında; IGF-I, IGF-BP3, total alkalen fosfataz, intakt PTH, total 25(OH)D vitamini, K vitamini (filokinon, menakinon-4 ve menakinon-7 formları), N-mid osteokalsin, matriks gla protein, ankarboksile osteokalsin testleri çalışıldı.

Sonuçlar: İBK grubunda; filokinon, MK-4, MK-7, IGF-I, IGF-BP3 ve total 25(OH)D düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu gösterildi. Ek olarak, filokinon, MK-4, MK-7 ile boy, vücut ağırlığı ve boy uzunluğu SDS'si arasında anlamlı pozitif korelasyonlar saptandı. En güçlü korelasyonun MK-7 ile boy uzunluğu-SDS'si arasında olduğu gösterildi ($p < 0,0001$, $r = 0,665$).

Tartışma: Bu projede, İBK olan çocuklarda K vitamin düzeylerinin düşük olduğu belirlendi. Ayrıca K vitamini formlarının özellikle boy uzunluğu SDS'i ve boy uzunluğu ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edildi. Bu bulgularımız ile, K vitamininin kemik gelişimi ve büyümesi üzerindeki önemli rolünün desteklendiği ve İBK'nın önlenmesi ve/veya tedavisinde K vitamininin yeni bir terapötik yaklaşım sağlayabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: İdiyopatik boy kısalığı, K vitamini, osteokalsin, MGP

8. ABSTRACT

Aim: Short stature is an important issue both socially and medically. Vitamin K serves as a coenzyme for the enzyme gamma-glutamyl carboxylase and plays a role in adding a carboxyl group to the gamma-carbon of glutamic acid residues in 17 vitamin K-dependent proteins. Some of these vitamin K-dependent proteins also affect bone metabolism. This project aims to investigate the role of vitamin K deficiency during childhood in the development of idiopathic short stature (ISS) and to explore the potential mechanisms mediating this effect, based on the relationship between vitamin K and bone tissue growth/development.

Materials and Methods: Our study included 44 children diagnosed with ISS (22 girls and 22 boys, age: $10,70\pm3,40$) and 44 age- and sex-matched children of normal height (22 girls and 22 boys, age: $10,60\pm3,50$). In both the ISS and control groups, tests were performed to measure levels of IGF-I, IGF-BP3, total alkaline phosphatase, intact PTH, total 25(OH)D, vitamin K (in the forms of phyloquinone, menaquinone-4, and menaquinone-7), N-mid osteocalcin, matrix gla protein, and uncarboxylated osteocalcin.

Results: In the ISS group, levels of phyloquinone, MK-4, MK-7, IGF-I, IGF-BP3, and total 25(OH)D were significantly lower compared to the control group. Additionally, significant positive correlations were found between phyloquinone, MK-4, MK-7, and height, body weight, and height SDS. The strongest correlation was observed between MK-7 and height SDS ($p<0.0001$, $r=0.665$).

Discussion: This project identified reduced vitamin K levels in children with ISS. Moreover, forms of vitamin K were found to show a positive correlation, particularly with height SDS and height. These findings support the significant role of vitamin K in bone growth and development and suggest that vitamin K may provide a novel therapeutic approach for the prevention and/or treatment of ISS.

Keywords: Idiopathic short stature, vitamin K, osteocalcin, MGP

9. KAYNAKLAR

1. Yang L, Zhang C, Wang W, Wang J, Xiao Y, Lu W, vd. Pathogenic gene screening in 91 Chinese patients with short stature of unknown etiology with a targeted next-generation sequencing panel. BMC Med Genet. 2018;19(1):212.
2. Cohen P, Rogol AD, Deal CL, Saenger P, Reiter EO, Ross JL, vd. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(11):4210-7.
3. Wit JM, Clayton PE, Rogol AD, Savage MO, Saenger PH, Cohen P. Idiopathic short stature: definition, epidemiology, and diagnostic evaluation. Growth Horm IGF Res. 2008;18(2):89-110.
4. Danziger J. Vitamin K-dependent proteins, warfarin, and vascular calcification. Clinical journal of the American Society of Nephrology. 2008;3(5):1504-10.
5. Jubb AA. A Case of Dwarfism. Br Med J. 1910;2(2609):2026.
6. Bundak R. Boy Kısallığı. Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi. 2008;2(2):58-64.
7. Gönç EN, Özön ZA, Alikashiöğlu A, Kandemir N. Çocuklarda büyümenin değerlendirilmesi ve boy kısallığında tanısall yaklaşım. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi,. 2015;58(2):80.
8. Türkiye Milli Pediatri Derneği Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği Ortak Kılavuzu. TÜRKİYE MİLLİ PEDIATRİ DERNEĞİ VE YANDAL DERNEKLERİ İŞBİRLİĞİ İLE Çocuk Sağlığı ve Hastalıklarında Tanı ve Tedavi KILAVUZLARI. Aralık 2014;
9. Bogarín R, Richmond E, Rogol AD. A new approach to the diagnosis of short stature. Minerva Pediatr. 2020;72(4):250-62.
10. Darendeliler F, Aycan Z, Kara C, Özen S, Eren E. Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet 1.baskı- İstanbul Tıp Kitabevi. 2021.
11. Ünal Z, Asilkan Ö, Canbazöğlu E. Sağlık Alanında Mobil Uygulama Örneği: Çocuklardaki Gelişimin Büyüme Eğrilerine Göre Değerlendirilmesi. İçinde Akademik Bilişim; 2016.

12. Neyzi O, Günöz H, Furman A, Bundak R, Gökçay G, Darendeliler F, vd. Türk çocuklarında vücut ağırlığı, boy uzunluğu, baş çevresi ve vücut kitle indeksi referans değerleri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2008;51:1-14.
13. Neyzi O, Saka HN, Kurtoğlu S. Anthropometric studies on the Turkish population-A historical review. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2013;5(1):1-12.
14. Demir K, Özen S, Konakçı E, Aydın M, Darendeliler F. A Comprehensive Online Calculator for Pediatric Endocrinologists: ÇEDD Çözüm/TPEDS Metrics. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2017;9(2):182-4.
15. Collett-Solberg PF, Ambler G, Backeljauw PF, Bidlingmaier M, Biller BMK, Boguszewski MCS, vd. Diagnosis, Genetics, and Therapy of Short Stature in Children: A Growth Hormone Research Society International Perspective. Horm Res Paediatr. Aralık 2019;92:1-14.
16. Sisley S, Trujillo MV, Khoury J, Backeljauw P. Low incidence of pathology detection and high cost of screening in the evaluation of asymptomatic short children. J Pediatr. 2013;163(4):1045-51.
17. Hjerrild BE, Mortensen KH, Gravholt CH. Turner syndrome and clinical treatment. Br Med Bull. 2008;86(1):77-93.
18. Bull MJ. Down Syndrome. Ropper AH, editör. N Engl J Med. 2020;382(24):2344-52.
19. Neyzi O, Ertuğrul T, Darendeliler F. Pediyatri Cilt 1 bs.5. Neyzi O, Ertuğrul T, Darendeliler F, editörler. Nobel Tıp Kitabevi; 2010. 127-131 s.
20. Kaba S. Cornelia de lange sendromu: Bir olgu sunumu. 2013.
21. Milani D, Manzoni FMP, Pezzani L, Ajmone P, Gervasini C, Menni F, vd. Rubinstein-Taybi syndrome: clinical features, genetic basis, diagnosis, and management. Ital J Pediatr. 2015;41(1).
22. Eggermann T. Russell-Silver syndrome. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2010;154C(3):355-64.
23. Innes AM, McInnes BL, Dymant DA. Clinical and genetic heterogeneity in Dubowitz syndrome: Implications for diagnosis, management and further research. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2018;178(4):387-97.
24. Jones KL, Jones MC, Campo M Del. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. 7. bs. C. 1. Saunders; 2013.

25. Porter FD. Smith-Lemli-Opitz syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(5):535-41.
26. Roberts AE, Allanson JE, Tartaglia M, Gelb BD. Noonan syndrome. *Lancet.* 2013;381(9863):333-42.
27. Cassidy SB, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2009;17(1):3-13.
28. Kliegman, St.Geme, Blum, Shah, Tasker, Wilson. *Nelson Textbook of Pediatrics*, 21.bs C.1. 2020.
29. Coutant R, Carel JC, Letrait M, Bouvattier C, Chatelain P, Coste J, vd. Short stature associated with intrauterine growth retardation: final height of untreated and growth hormone-treated children. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(4):1070-4.
30. Şimşek Kiper PÖ, Alanay Y. İskelet displazilerinde genel değerlendirme. *TOTBİD Dergisi.* 2016;15(4):247-78.
31. Geister KA, Camper SA. Advances in Skeletal Dysplasia Genetics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2015;16:199-227.
32. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Mundlos S, vd. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. *Am J Med Genet A.* 2019;179(12):2393-419.
33. Arlı M, Şanlıer N, Küçükkömürler S, Yaman M. Anne ve Çocuk Beslenmesi. *Pegem Akademi.* 2021;
34. Doganci T, Bozkurt S. Celiac disease with various presentations. *Pediatr Int.* 2004;46(6):693-6.
35. Hardin DS, Ferkol T, Ahn C, Dreimane D, Dyson M, Morse M, vd. A retrospective study of growth hormone use in adolescents with cystic fibrosis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;62(5):560-6.
36. Direk M, Dizdärer C, Günay T, Günay İ. Büyüme Hormonu Eksikliği tanısı alan olguların özelliklerinin değerlendirilmesi. *Acta Medica Alanya.* 2019;3(2):173-7.
37. Cohen P, Weng W, Rogol AD, Rosenfeld RG, Kappelgaard AM, Germak J. Dose-sparing and safety-enhancing effects of an IGF-I-based dosing regimen in short children treated with growth hormone in a 2-year randomized controlled trial: therapeutic and pharmacoeconomic considerations. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;81(1):71-6.

38. Laron Z. Laron syndrome (primary growth hormone resistance or insensitivity): the personal experience 1958-2003. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(3):1031-44.
39. Mosier HD, Smith FG, Schultz MA. Failure of catch-up growth after Cushing's syndrome in childhood. *Am J Dis Child.* 1972;124(2):251-3.
40. Gaffney-Stomberg E. The Impact of Trace Minerals on Bone Metabolism. *Biol Trace Elem Res.* 2019;188:26-34.
41. Chanchlani R, Nemer P, Sinha R, Nemer L, Krishnappa V, Sochetti E, vd. An Overview of Rickets in Children. *Kidney Int Rep.* 2020;5(7):980-90.
42. Lorincz C, Manske SL, Zernicke R. Bone health: part 1, nutrition. *Sports Health.* Mayıs 2009;1(3):253-60.
43. Corwin RL, Hartman TJ, Maczuga SA, Graubard BI. Dietary saturated fat intake is inversely associated with bone density in humans: analysis of NHANES III. *J Nutr.* 2006;136(1):159-65.
44. Powell GF, Brasel JA, Raiti S, Blizzard RM. Emotional deprivation and growth retardation simulating idiopathic hypopituitarism. II. Endocrinologic evaluation of the syndrome. *N Engl J Med.* 1967;276(23):1279-83.
45. Pfeiffer RJ, Lucas AR, Ilstrup DM. Effect of anorexia nervosa on linear growth. *Clin Pediatr (Phila).* 1986;25(1):7-12.
46. Ölmez S, Keten H, Gençdoğan S, Parlak M, Güler E, Altun H, vd. Boy Kısıtlılığı Olan Çocuk ve Ergenlerde Davranım Bozukluklarının Değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal.* 2014;14(4).
47. Couto-Silva AC, Trivin C, Esperou H, Michon J, Baruchel A, Lemaire P, vd. Final height and gonad function after total body irradiation during childhood. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38(6):427-32.
48. Neyzi O, Ertuğrul T. *Pediyatri Cilt 2* 5.bs. Neyzi O, Ertuğrul T, Darendeliler F, editörler. 2009;89-149.
49. White G, Cosier S, Andrews A, Martin L, Willemsen R, Savage MO, vd. Original research: Evaluating the sensitivity and specificity of the UK and Dutch growth referral criteria in predicting the diagnosis of pathological short stature. *BMJ Paediatr Open.* 2022;6(1).
50. Rogol AD, Hayden GF. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. *J Pediatr.* 2014;164(5).

51. Yadav S, Dabas A. Approach to short stature. *Indian J Pediatr.* 2015;82(5):462-70.
52. Dam H. Cholesterinstoffwechsel in Huhnereien und Huhnchen. *cir.nii.ac.jp.* 1929;
53. MacCorquodale DW, Cheney LC, Binkley SB, Holcomb WF, McKee RW, Thayer SA, vd. The constitution and synthesis of vitamin K1. *Journal of Biological Chemistry.* 1939;131(1):357-70.
54. Karrer P, Geiger A, Legler R, Rügger A, Salomon H. Über die Isolierung des α -Phyllochinons (Vitamin K aus Alfalfa) sowie über dessen Entdeckungsgeschichte. *Helv Chim Acta.* 1939;22(1):1464-70.
55. Almquist HJ, Klose AA. Synthetic and natural antihemorrhagic compounds. *J Am Chem Soc.* 1939;61(9):2557-8.
56. Fieser LF. Synthesis of 2-methyl-3-phytyl-1,4-naphthoquinone. *J Am Chem Soc.* 1939;61(9):2559-61.
57. NobelPrize.org [Internet]. 2024. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1943. Erişim adresi: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1943/summary/>
58. Shea MK, Booth SL. Vitamin K. *Encyclopedia of Human Nutrition: Volume 1-4, Fourth Edition.* 2023;1-4:569-76.
59. Booth SL. Vitamin K: food composition and dietary intakes. *Food Nutr Res.* 2012;56.
60. Lai Y, Masatoshi H, Ma Y, Guo Y, Zhang B. Role of Vitamin K in Intestinal Health. *Front Immunol.* 2022;12.
61. Fusaro M, Mereu MC, Aghi A, Iervasi G, Gallieni M. Vitamin K and bone. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism.* 2017;14(2):200-6.
62. Nakagawa K, Hirota Y, Sawada N, Yuge N, Watanabe M, Uchino Y, vd. Identification of UBIAD1 as a novel human menaquinone-4 biosynthetic enzyme. *Nature.* 2010;468(7320):117-21.
63. Hirota Y, Tsugawa N, Nakagawa K, Suhara Y, Tanaka K, Uchino Y, vd. Menadione (vitamin K3) is a catabolic product of oral phylloquinone (vitamin K1) in the intestine and a circulating precursor of tissue menaquinone-4 (vitamin K2) in. *ASBMB.* 2013;288(46):33071-80.
64. Uğurlu E, Duysak Ö, Şereflişan H. The effect of vitamin K on aquatic animals Review Article. *Mar Life Sci.* 2020;2(1):45.

65. Olson RE. The function and metabolism of vitamin K. *Annu Rev Nutr.* 1984;4(1):281-337.
66. Conly J, Stein K. Quantitative and qualitative measurements of K vitamins in human intestinal contents. *American Journal of Gastroenterology.* 1992;87:311-6.
67. Sato T, Schurgers LJ, Uenishi K. Comparison of menaquinone-4 and menaquinone-7 bioavailability in healthy women. *Nutr J.* 2012;11(1).
68. Turck D, Bresson JL, Burlingame B, Dean T, Fairweather-Tait S, Heinonen M, vd. Dietary reference values for vitamin K. *EFSA J.* 2017;15(5).
69. World Health Organization and Food. Agriculture Organization of the United Nations. *Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition.* 2nd ed. 2004;
70. Tie JK, Stafford DW. Structural and functional insights into enzymes of the vitamin K cycle. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2016;14(2):236-47.
71. Stafford DW. The vitamin K cycle. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2005;3(8):1873-8.
72. Alonso N, Meinitzer A, Fritz-Petrin E, Enko D, Herrmann M. Role of Vitamin K in Bone and Muscle Metabolism. *Calcif Tissue Int.* 2023;112(2):178.
73. Berkner KL, Runge KW. Vitamin K-dependent protein activation: normal gamma-glutamyl carboxylation and disruption in disease. *mdpi.com* KL Berkner, KW Runge *International Journal of Molecular Sciences,* 2022•*mdpi.com.* 2022;23(10):5759.
74. Beulens JWJ, Booth SL, Van Den Heuvel EGHM, Stoecklin E, Baka A, Vermeer C. The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *British Journal of Nutrition.* 2013;110(8):1357-68.
75. Shearer MJ, Fu X, Booth SL. Vitamin K Nutrition, Metabolism, and Requirements: Current Concepts and Future Research. *Advances in Nutrition.* 2012;3(2):182.
76. Xiao H, Chen J, Duan L, Li S. Role of emerging vitamin K-dependent proteins: Growth arrest-specific protein 6, Gla-rich protein and periostin (Review). *Int J Mol Med.* 2021;47(3).
77. Akbari S, Rasouli-Ghahroudi AA. Vitamin K and Bone Metabolism: A Review of the Latest Evidence in Preclinical Studies. *Biomed Res Int.* 2018;2018.

78. Hauschka P V., Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev.* 1989;69(3):990-1047.
79. Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. *Clin Chem.* 2017;63(2):464-74.
80. Lombardi G, Perego S, Luzi L, Banfi G. A four-season molecule: osteocalcin. Updates in its physiological roles. *Endocrine.* 2015;48(2):394-404.
81. Cancela L, Hsieh C, Francke U, Price P. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene. *Journal of Biological Chemistry.* 1990;265(25):15040-8.
82. Karsenty G. Osteocalcin: A Multifaceted Bone-Derived Hormone. *Annu Rev Nutr.* 2023;43:55-71.
83. Ziemińska M, Pawlak D, Sieklucka B, Chilkiewicz K, Pawlak K. Vitamin K-Dependent Carboxylation of Osteocalcin in Bone-Ally or Adversary of Bone Mineral Status in Rats with Experimental Chronic Kidney Disease? *Nutrients.* 2022;14(19).
84. Inaba N, Sato T, Yamashita T. Low-Dose Daily Intake of Vitamin K(2) (Menaquinone-7) Improves Osteocalcin γ -Carboxylation: A Double-Blind, Randomized Controlled Trials. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2015;61(6):471-80.
85. Ma ML, Ma ZJ, He YL, Sun H, Yang B, Ruan BJ, vd. Efficacy of vitamin K2 in the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Public Health.* 2022;10.
86. Wang H, Zhang N, Li L, Yang P, Ma Y. Menaquinone 4 Reduces Bone Loss in Ovariectomized Mice through Dual Regulation of Bone Remodeling. *Nutrients.* 2021;13(8).
87. Wang H, Li J, Xu Z, Wu F, Zhang H, Yang C, vd. Undercarboxylated osteocalcin inhibits the early differentiation of osteoclast mediated by Gprc6a. *PeerJ.* 2021;9.
88. Urayama S, Kawakami A, Nakashima T, Tsuboi M, Yamasaki S, Hida A, vd. Effect of vitamin K2 on osteoblast apoptosis: vitamin K2 inhibits apoptotic cell death of human osteoblasts induced by Fas, proteasome inhibitor, etoposide, and staurosporine. *J Lab Clin Med.* 2000;136(3):181-93.

89. Akbulut AC, Wasilewski GB, Rapp N, Forin F, Singer H, Czogalla-Nitsche KJ, vd. Menaquinone-7 Supplementation Improves Osteogenesis in Pluripotent Stem Cell Derived Mesenchymal Stem Cells. *Front Cell Dev Biol.* 2021;8.
90. Yamaguchi M, Weitzmann MN. Vitamin K2 stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis by suppressing NF- κ B activation. *Int J Mol Med.* 2011;27(1):3-14.
91. Atkins GJ, Welldon KJ, Wijenayaka AR, Bonewald LF, Findlay DM. Vitamin K promotes mineralization, osteoblast-to-osteocyte transition, and an anticatabolic phenotype by γ -carboxylation-dependent and -independent mechanisms. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009;297(6).
92. Koshihara Y, Hoshi K, Okawara R, Ishibashi H, Yamamoto S. Vitamin K stimulates osteoblastogenesis and inhibits osteoclastogenesis in human bone marrow cell culture. *J Endocrinol.* 2003;176(3):339-48.
93. Kim M, Na W, Sohn C. Vitamin K1 (phylloquinone) and K2 (menaquinone-4) supplementation improves bone formation in a high-fat diet-induced obese mice. *J Clin Biochem Nutr.* 2013;53(2):108-13.
94. Poon CCW, Li RWS, Seto SW, Kong SK, Ho HP, Hoi MPM, vd. In vitro vitamin K(2) and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3) combination enhances osteoblasts anabolism of diabetic mice. *Eur J Pharmacol.* 15 Kasım 2015;767:30-40.
95. Užmah D, Marc J, Balon BP, Adamlje A, Lužnik IA. Intact or N-MID osteocalcin assays for assessment of bone formation in hemodialysis patients? *Slovenian Medical Journal.* 2011;80(1).
96. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover - uses and limitations. *Ann Clin Biochem.* 2014;51(Pt 2):189-202.
97. Schini M, Vilaca T, Gossiel F, Salam S, Eastell R. Bone Turnover Markers: Basic Biology to Clinical Applications. *Endocr Rev.* 2023;44(3):417-73.
98. Wen L, Chen J, Duan L, Li S. Vitamin K-dependent proteins involved in bone and cardiovascular health (Review). *Mol Med Rep.* 2018;18(1):3-15.
99. Bjørklund G, Svanberg E, Dadar M, Card DJ, Chirumbolo S, Harrington DJ, vd. The Role of Matrix Gla Protein (MGP) in Vascular Calcification. *Curr Med Chem.* 2020;27(10):1647-60.
100. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, vd. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature.* 1997;386(6620):78-81.

101. Munroe PB, Olgunturk RO, Fryns JP, Van Maldergem L, Ziereisen F, Yuksel B, vd. Mutations in the gene encoding the human matrix Gla protein cause Keutel syndrome. *Nat Genet.* 1999;21(1):142-4.
102. Evenepoel P, Claes K, Meijers B, Laurent M, Bammens B, Naesens M, vd. Poor Vitamin K Status Is Associated With Low Bone Mineral Density and Increased Fracture Risk in End-Stage Renal Disease. *Journal of bone and mineral research.* 2019;34(2):262-9.
103. Zhang Y, Zhao L, Wang N, Li J, He F, Li X, vd. Unexpected Role of Matrix Gla Protein in Osteoclasts: Inhibiting Osteoclast Differentiation and Bone Resorption. *Mol Cell Biol.* 2019;39(12).
104. Burtis CA., Ashwood ER., Bruns DE., Tietz NW. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e books.* Elsevier Health Sciences; 2013. 145-163 s.
105. Doyle RM, Cherkasskey A. *LC-MS/MS Quantitative Analysis of the Vitamin K's and their Metabolites in Serum for Research Use.* 2017.
106. O'Connor E, Mølgaard C, Michaelsen KF, Jakobsen J, Lamberg-Allardt CJE, Cashman KD. Serum percentage undercarboxylated osteocalcin, a sensitive measure of vitamin K status, and its relationship to bone health indices in Danish girls. *Br J Nutr.* 2007;97(4):661-6.
107. Hao G, Zhang B, Gu M, Chen C, Zhang Q, Zhang G, vd. Vitamin K intake and the risk of fractures: A meta-analysis. *Medicine.* 2017;96(17):e6725.
108. Feskanich D, Weber P, Willett WC, Rockett H, Booth SL, Colditz GA. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(1):74-9.
109. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med.* 2006;166(12):1256-61.
110. Kojima A, Ikehara S, Kamiya K, Kajita E, Sato Y, Kouda K, vd. Natto Intake is Inversely Associated with Osteoporotic Fracture Risk in Postmenopausal Japanese Women. *J Nutr.* 2020;150(3):599-605.
111. Fu X, Moreines J, Booth SL. Vitamin K supplementation does not prevent bone loss in ovariectomized Norway rats. *Nutr Metab (Lond).* 2012;9(1):12.
112. Sato T, Inaba N, Yamashita T. MK-7 and Its Effects on Bone Quality and Strength. *Nutrients.* 2020;12(4):965.

113. Knapen MHJ, Drummen NE, Smit E, Vermeer C, Theuwsen E. Three-year low-dose menaquinone-7 supplementation helps decrease bone loss in healthy postmenopausal women. *Osteoporosis international*. 2013;24(9):2499-507.
114. Jiajue R, Liu S, Pei Y, Qi X, Jiang Y, Wang Q, vd. Associations between Osteocalcin, Calcitropic Hormones, and Energy Metabolism in a Cohort of Chinese Postmenopausal Women: Peking Vertebral Fracture Study. *Int J Endocrinol*. 2021;2021:5585018.
115. Schafer AL, Sellmeyer DE, Schwartz A V., Rosen CJ, Vittinghoff E, Palermo L, vd. Change in Undercarboxylated Osteocalcin Is Associated with Changes in Body Weight, Fat Mass, and Adiponectin: Parathyroid Hormone (1-84) or Alendronate Therapy in Postmenopausal Women with Osteoporosis (the PaTH Study). *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(12):1982-9.
116. Mokuda S, Sawada N, Matoba K, Yamada A, Onishi M, Okuda Y, vd. Serum undercarboxylated osteocalcin level increases with 48 weeks of teriparatide treatment in pre-treated elderly rheumatoid arthritis patients who use anti-resorptive drugs. *J Endocrinol Invest*. 2012;35(9):796-9.
117. Johansen JS, Giwercman A, Hartwell D, Nielsen CT, Price PA, Christiansen C, vd. Serum bone Gla-protein as a marker of bone growth in children and adolescents: correlation with age, height, serum insulin-like growth factor I, and serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;67(2):273-8.
118. Van Summeren M, Braam L, Noirt F, Kuis W, Vermeer C. Pronounced elevation of undercarboxylated osteocalcin in healthy children. *Pediatr Res*. 2007;61(3):366-70.
119. Szulc P, Seeman E, Delmas PD. Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents. *Osteoporosis international*. 2000;11(4):281-94.
120. Kruse K, Kracht U. Evaluation of serum osteocalcin as an index of altered bone metabolism. *Eur J Pediatr*. 1986;145(1-2):27-33.
121. Johansen JS, Jensen SB, Riis BJ, Rasmussen L, Zachmann M, Christiansen C. Serum bone Gla protein: a potential marker of growth hormone (GH) deficiency and the response to GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;71(1):122-6.
122. Horiuchi T, Kazama H, Araki A, Inoue J, Hosoi T, Onouchi T, vd. Impaired gamma carboxylation of osteocalcin in elderly women with type II diabetes

- mellitus: relationship between increase in undercarboxylated osteocalcin levels and low bone mineral density. *J Bone Miner Metab.* 2004;22(3):236-40.
123. Xu Y, Shen L, Liu L, Zhang Z, Hu W. Undercarboxylated Osteocalcin and Its Associations With Bone Mineral Density, Bone Turnover Markers, and Prevalence of Osteopenia and Osteoporosis in Chinese Population: A Cross-Sectional Study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13(13):843912.
 124. Cummings SR, Browner W, Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, vd. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Lancet.* 1993;341(8837):72-5.
 125. Booth SL. Roles for vitamin K beyond coagulation. *Annu Rev Nutr.* 2009;29:89-110.
 126. Binkley NC, Krueger DC, Engelke JA, Foley AL, Suttie JW. Vitamin K supplementation reduces serum concentrations of under-gamma-carboxylated osteocalcin in healthy young and elderly adults. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(6):1523-8.
 127. Binkley NC, Krueger DC, Kawahara TN, Engelke JA, Chappell RJ, Suttie JW. A high phylloquinone intake is required to achieve maximal osteocalcin gamma-carboxylation. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(5):1055-60.
 128. Shepherd C, Reese AE, Reynard LN, Loughlin J. Expression analysis of the osteoarthritis genetic susceptibility mapping to the matrix Gla protein gene MGP. *Arthritis Res Ther.* 2019;21(1).
 129. Miyata KN, Nast CC, Dai T, Dukkupati R, LaPage JA, Troost JP, vd. Renal matrix Gla protein expression increases progressively with CKD and predicts renal outcome. *Exp Mol Pathol.* 2018;105(1):120-9.
 130. Schurgers LJ, Spronk HMH, Skepper JN, Hackeng TM, Shanahan CM, Vermeer C, vd. Post-translational modifications regulate matrix Gla protein function: importance for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2007;5(12):2503-11.
 131. Galunska B, Yotov Y, Nikolova M, Angelov A. Extrahepatic Vitamin K-Dependent Gla-Proteins-Potential Cardiometabolic Biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2024;25(6):3517.
 132. Cassidy-Bushrow AE, Bielak LF, Sheedy PF, Turner ST, Chu JS, Peyser PA. Shared genetic architecture in the relationship between adult stature and subclinical coronary artery atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):679-83.

133. Cranenburg EC, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K: the coagulation vitamin that became omnipotent. *Thrombosis&Haemostasis*. 2007;98(1):120-5.
134. McCann JC, Ames BN. Vitamin K, an example of triage theory: is micronutrient inadequacy linked to diseases of aging? *Am J Clin Nutr*. 2009;90(4):889-907.
135. Fusaro M, Cianciolo G, Brandi ML, Ferrari S, Nickolas TL, Tripepi G, vd. Vitamin K and Osteoporosis. *Nutrients*. 2020;12(12):3625.
136. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academies Press; 2001.
137. Bouillon R, Prodonova A. Growth and hormone deficiency and peak bone mass. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism*. 2000;13 Suppl 6:1327-36.
138. Canalis E. Effect of growth factors on bone cell replication and differentiation. 1985;193:246-63.
139. Kudo Y, Iwashita M, Takeda Y, Muraki T. Evidence for modulation of osteocalcin containing gamma-carboxyglutamic acid residues synthesis by insulin-like growth factor-I and vitamin K2 in human osteosarcoma cell line MG-63. *Eur J Endocrinol*. 1998;138(4):443-8.
140. Canalis E, Lian JB. Effects of bone associated growth factors on DNA, collagen and osteocalcin synthesis in cultured fetal rat calvariae. *Bone*. 1988;9(4):243-6.
141. Jiang D, Franceschi RT, Boules H, Xiao G. Parathyroid hormone induction of the osteocalcin gene. Requirement for an osteoblast-specific element 1 sequence in the promoter and involvement of multiple-signaling pathways. *J Biol Chem*. 2004;279(7):5329-37.
142. Onyia JE, Bidwell J, Herring J, Hulman J, Hock JM. In vivo, human parathyroid hormone fragment (hPTH 1-34) transiently stimulates immediate early response gene expression, but not proliferation, in trabecular bone cells of young rats. *Bone*. 1995;17(5):479-84.
143. McCarthy TL, Centrella M. Regulation of IGF activity in bone. *Adv Exp Med Biol*. 1993;343:407-14.

144. Bichell DP, Rotwein P, McCarthy TL. Prostaglandin E2 rapidly stimulates insulin-like growth factor-I gene expression in primary rat osteoblast cultures: evidence for transcriptional control. *Endocrinology*. 1993;133(3):1020-8.
145. Yakar S, Courtland HW, Clemmons D. IGF-1 and Bone: New Discoveries From Mouse Models. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2010;25(12):2543-52.
146. Gómez JM, Maravall FJ, Gómez N, Navarro MA, Casamitjana R, Soler J. Relationship between 25-(OH) D3, the IGF-I system, leptin, anthropometric and body composition variables in a healthy, randomly selected population. *Hormone and metabolic research*. 2004;36(1):48-53.
147. Bogazzi F, Rossi G, Lombardi M, Tomisti L, Sardella C, Manetti L, vd. Vitamin D status may contribute to serum insulin-like growth factor I concentrations in healthy subjects. *J Endocrinol Invest*. 2011;34(8):200-3.
148. Wei S, Tanaka H, Seino Y. Local action of exogenous growth hormone and insulin-like growth factor-I on dihydroxyvitamin D production in LLC-PK1 cells. *Eur J Endocrinol*. 1998;139(4):454-60.
149. Price PA, Williamson MK, Haba T, Dell RB, Jee WS. Excessive mineralization with growth plate closure in rats on chronic warfarin treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 1982;79(24):7734-8.
150. Sousa AR, Barreira R, Santos E. Low-dose warfarin maternal anticoagulation and fetal warfarin syndrome. *BMJ Case Rep*. 2018;bcr2017:223159.
151. Takeuchi Y, Suzawa M, Fukumoto S, Fujita T. Vitamin K2 inhibits adipogenesis, osteoclastogenesis, and ODF/RANK ligand expression in murine bone marrow cell cultures. *Bone*. 2000;27(6):769-76.
152. Akedo Y, Hosoi T, Inoue S, Ikegami A, Mizuno Y, Kaneki M, vd. Vitamin K2 modulates proliferation and function of osteoblastic cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992;187(2):814-20.
153. Sugiyama T, Tanaka H, Kawai S. Clinical vignette. Vitamin K plus vitamin D treatment of bone problems in a child with skeletal unloading. *Journal of bone and mineral research*. 1999;14(8):1466-7.
154. Sugiyama T, Saito Y, Kaichi I, Sugi M, Tanaka H, Kawai S. Menatetrenone plus alfacalcidol treatment for bone problems in eight children with skeletal unloading. *J Bone Miner Metab*. 2000;18(1):41-4.

155. Inoue T, Sugiyama T, Matsubara T, Kawai S, Furukawa S. Inverse correlation between the changes of lumbar bone mineral density and serum undercarboxylated osteocalcin after vitamin K2 (menatetrenone) treatment in children treated with glucocorticoid and alfacalcidol. *Endocr J.* 2001;48(1):11-8.
156. Koshihara Y, Hoshi K, Ishibashi H, Shiraki M. Vitamin K2 promotes 1alpha,25(OH)₂ vitamin D3-induced mineralization in human periosteal osteoblasts. *Calcif Tissue Int.* 1996;59(6):466-73.
157. Schurgers LJ, Teunissen KJF, Hamulyák K, Knapen MHJ, Vik H, Vermeer C. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7. *Blood.* 2007;109(8):3279-83.



10. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

Kişisel verileri koruma kanunu gereğince tezin Ulusal Tez Merkezi'ne aktarılma aşamasında etik kurul onayı çıkarılmıştır.



Ek 2. Aydınlatılmış Onam Formu

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ ETİK KURULU AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

- a. Araştırmanın Adı:** İdiyopatik Boy Kısaldığı Tanısı Alan Çocuklarda K Vitamini Düzeylerinin Boy Kısaldığı ile İlişkisinin Değerlendirilmesi
- b. Araştırmanın İçeriği:** K vitamini
- c. Araştırmanın Amacı:** K1 ve K2 vitaminleri, yağda eriyen ve özellikle K1 vitamininin pıhtılaşma üzerindeki etkilerinin uzun yıllardır bilindiği bir vitamin grubudur. Son yıllarda yapılan araştırmalar K vitamininin, K vitamini bağımlı proteinler aracılığı ile özellikle kemik metabolizması ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu vitaminin kemik yapısının sağlamlığı yanında kemiğin büyümesi (uzaması) üzerinde de etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar temel alındığında boy kısaldığı olan çocuklarda K vitamini düzeylerinin kanda ölçülebilmesinin son derece önemli olabileceği düşünülmüştür. Mevcut proje de idiyopatik boy kısaldığı olan çocuklarda kanda K vitamin düzeyleri ölçülecek ve bu düzeylerin boy kısaldığı ile ilişkili olup olmadığı değerlendirilecektir.
- d. Araştırmanın Nedeni:**
 - ☐ Bilimsel araştırma
 - ☒ Tez çalışması
- e. Araştırmanın Öngörülen Süresi:** 30 Ay
- f. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı:** 100
- d. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler:** Ölçülecek maddelere uygun tüplere gönüllü kişilerden kan örnekleri alınması ve bu maddelerin miktarının ölçülmesi

2. Gönüllünün/Katılımcının Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:

Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlemlerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:

Kan alınması sırasında sadece hafif bir acı hissedeceksiniz ve çok düşük bir ihtimal ile lokal hematoma (cilt altında kan birikmesi), morarma ve kolda uyuşma ortaya çıkabilir.

3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar: Bu araştırma sonucunda projeye dahil olan kişilerin K vitamini düzeyleri ölçülecektir.

4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.

Adı- Soyadı: Prof. Dr. Sebahat Özdem

Telefon: 0242 249 6409

Adı- Soyadı: Dr. Muhammed Emin CEYLAN

Telefon: 0242 249 6412

5. Zararların Karşlanması:

Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli olan tıbbi bakımın sorumlu araştırmacı tarafından yerine getirileceği, uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür hasara (sakatlanma ve ölüm dahil) karşı güvencede olduğum, masraflarımın Sebahat Özdem tarafından karşılanacağı bana bildirildi.

6. Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:

- a. Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- b. Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- c. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

d. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

8. Gizlilik:

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

9. Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye / katılımcıya verilmesi gereken bilgileri gösteren Aydınlatılmış Onam Formu adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün / katılımcının Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih: