

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**POSTMENOPUZAL KADINLARDA OSTEOPOROZ VE KIRIK
RİSKİNİN BELİRLENMESİNDE COL1A1 GEN POLİMORFİZMİNİN
ROLÜ**

Dr. İlknur SABAN

**FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar GÖK**

ANKARA

2010

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, klinik bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yetişmemde büyük emeği olan değerli hocam Prof.Dr. Haydar Gök'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimde katkılarını benden esirgemeyen Prof. Dr. Mesut Birol Atay'a, Prof. Dr. Süreyya Ergin'e, Prof Dr. Recep Bülent Seçkin'e, Prof. Dr. Gülay Dinçer'e, Doç. Dr. Nurben Süldür'e, Prof . Dr. Peyman Yalçın'a, Prof. Dr. Safiye Tuncer'e, Doç. Dr. Ayşe Bölükbaşı'na, Prof. Dr. Ayşe Küçükdeveci'ye, Prof. Dr. Şehim Kutlay'a, Prof. Dr. Şebnem Ataman'a, Prof. Dr. Yeşim Kurtaiş Aytür' e, Prof Dr. Birkan Sonel Tur'a teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde maddi katkılarından dolayı Türkiye Romatizma Araştırma ve Savaş Derneği Yönetim Kurulu üyelerine teşekkür ederim.

Tezde kullanılan genetik analizlerin yapılmasında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Asuman Sunguroğlu'na, Prof. Dr. Sena Aydos'a, Uz. Bio. Aynur Karadağ'a, Uz. Bio. Tülin Özkan'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve tezime katkılarından dolayı Dr. Emine Yüksel Kars başta olmak üzere araştırma görevlisi arkadaşlarıma, klinik çalışanlarına ve fizyoterapist arkadaşlarıma ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan; destek, ilgi ve sevgilerini benden esirgemeyen ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan; üzerimde sonsuz hak ve emekleri olan, çok sevdiğim annem, babama ve sabır, özveri ve sevgi ile hep yanımda olan, çok sevdiğim eşim Adnan'a ve güzel kızım Elif'e teşekkür ederim.

KISALTMALAR

ALP	: Alkalen fosfataz
bFGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
BAP	: Kemiğe spesifik alkalen fosfataz
BMP	: Kemik morfogenetik protein
Ca	: Kalsiyum
COL1A1	: Kollajen tip 1 alfa
CSF-1	: Koloni stimule edici faktör 1
CTX-1	: Tip I kollajen C-telopeptid yıkım ürünleri
DEXA	: Dual-enerji X-ray absorpsiyometrisi
DKK	: Doruk kemik kütlesi
DPA	: Dual foton absorpsiyometri
DPD	: Deoksipridinolin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ER	: Östrojen reseptörü
FRAX	: Kırık riski değerlendirme ölçeği
GH	: Galaktozil hidroksilizin
GGH	: Glukozilgalaktozil hidroksilizin
GH	: Büyüme hormonu
HRT	: Hormon replasman tedavisi
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1	: İnterlökin 1
IL-6	: İnterlökin 6

IOF	: Uluslararası osteoporoz derneği
KMY	: Kemik mineral yoğunluğu
M-CSF	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
NTX	: Tip I kollajen N telopeptid yıkım ürünleri
OC	: Osteokalsin
ODF	: Osteoklast farklılaşma faktörü
OHP	: Hidroksiprolin
OP	: Osteoporoz
OPGL	: Osteoprotegerin ligandı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PICP	: Tip I kollajen C terminal
PINP	: Tip I kollajen N terminal
PGE	: Prostaglandin E
PDGF	: Platelet-derive büyüme faktörü
PTH	: Parathormon
PTHrP	: Paratiroid hormon ilişkili peptid
PYD	: Pridinolin
QCT	: Kantitatif kompüterize tomografi
RA	: Radyografik absorpsiyometri
RANKL	: Nükleer faktör kappa B reseptör aktivatörü
RANKL	: Nükleer faktör kappa B reseptör aktivatörü ligandı
RFLP	: Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SPA	: Tek foton absorpsiyometri

- SD** : Standart sapma
- SXA** : Tek enerji x-ray absorbsiometri
- TRAP** : Tartrat-dirençli asit fosfataz
- TGF-beta** : Transforme edici büyüme faktörü-beta
- TNF-alfa** : Tümör nekrozis faktör-alfa
- Vit D** : D vitamini
- VDR** : Vitamin D reseptörü
- VKI** : Vücut kütle indeksi

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1.** DSÖ osteoporoz tanımı
- Tablo 2.** Osteoporozun sınıflandırılması
- Tablo 3.** İnvölüsyonel osteoporoz
- Tablo 4.** Osteoporoz risk faktörleri
- Tablo 5.** Düşük kemik kütesine bağlı kırık risk faktörleri
- Tablo 6.** FRAX'ta değerlendirilen risk faktörleri
- Tablo 7.** KMY değerlendirmesinde kullanılan tetkikler
- Tablo 8.** Kemik dansitometrisi endikasyonları
- Tablo 9.** ISCD'e göre (International Society of Clinical Densitometer) kemik densitesi ölçüm endikasyonları
- Tablo 10.** ISCD tarafından önerilen kırık değerlendirme endikasyonları
- Tablo 11.** Kemik yapım ve yıkım markerları
- Tablo 12.** Genotipin popülasyonda sıklığının hesaplanması
- Tablo 13.** DKK oluşumunda rol oynayan aday genler
- Tablo 14.** Osteoporozla ilişkisi araştırılan genler
- Tablo 15.** PCR ürünleri kesimlenmesi
- Tablo 16.** Hasta ve kontrol grubunun demografik özelliklerinin karşılaştırılması
- Tablo 17.** Hasta grubunda demografik özelliklerin kırık ile ilişkisi
- Tablo 18.** Tüm deneklerde genotip ile demografik özellikler arasındaki ilişki
- Tablo 19.** Hasta ve kontrol grubunda genotiplerin dağılımı
- Tablo 20.** Vertebral kırık ile genotipler arasındaki ilişki
- Tablo 21.** G ve T allellerinin hasta ve kontrol grubunda sayısal dağılımı

- Tablo 22.** Hasta grubunda kırık ile genotip ilişkisi
- Tablo 23.** Hasta ve kontrol grubu arasında KMY değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 24.** Tüm deneklerde genotip ile LKMY ve düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki
- Tablo 25.** Tüm deneklerde genotip ile FNKMY ve düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki
- Tablo 26.** Kontrol grubunda genotip ile LKMY ve düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki
- Tablo 27.** Kontrol grubunda genotip ile FNKMY ve düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki
- Tablo 28.** Hasta grubunda genotip ile LKMY ve düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki
- Tablo 29.** Hasta grubunda genotip ile FNKMY ve düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki
- Tablo 30.** Hasta olan ancak kırığı olmayan grupta genotip ile KMY ve düzeltilmiş KMY arasındaki ilişki (ort \pm SEM)
- Tablo 31.** Kırık olan hasta grubunda genotip ile LKMY ve Düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki
- Tablo 32.** Kırık olan hasta grubunda genotip ile FNKMY ve Düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki
- Tablo 33.** Genotip ile diyetle kalsiyum alım ilişkisi
- Tablo 34.** Hasta ve kontrol grubunda günlük kalsiyum alımının karşılaştırılması
- Tablo 35.** Kırık ile diyetle günlük kalsiyum alımı arasındaki ilişki
- Tablo 36.** Genotip ile aktivite düzeyi arasındaki ilişki
- Tablo 37.** Hasta ve kontrol grubunda günlük aktivite düzeyinin karşılaştırılması
- Tablo 38.** Hasta grubunda kırık ile günlük aktivite düzeyi arasındaki ilişki

Tablo 39. TT allelini taşıyan hastaların demografik özellikleri

Tablo 40. TT allelini taşıyan hastaların T skoru değerleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Semikantitatif kırık değerlendirmesi - Genant radyolojik osteoporoz skorlama sistemi

Şekil 2. PCR reaksiyonu

Şekil 3. Col1A1 polimorfizmi için 3 örneğe ait agaroz jel görüntüsü ve tespit edilen genotipler

Şekil 4. Col1A1 polimorfizmi için 8 örneğe ait agaroz jel görüntüsü ve tespit edilen genotipler

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENELBİLGİLER	3
2.1. Normal Kemik Dokusu	3
2.2. Osteoporoz	7
2.2.1. Osteoporozun Tanımlaması	7
2.2.2. Osteoporoz Epidemiyolojisi	7
2.2.3. Osteoporozun Patofizyolojisi	10
2.2.4. Osteoporozun Sınıflandırması	12
2.2.5. Osteoporoz Risk Faktörleri	13
2.2.6. Klinik Bulgular	15
2.2.7. Osteoporozda Tanı Yöntemleri	16
2.3. Genetik	30
2.3.1. DNA	30
2.3.2. Genetik Polimorfizm	33
2.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	34
2.3.4. Genetik ve Osteoporoz	35
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	38
4. BULGULAR	43
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR	55
ÖZET	56
SUMMARY	57
KAYNAKLAR	58
EKLER	

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre osteoporoz, düşük kemik kütlesi, kemik dokunun mikromimari yapısı ve kalitesinde bozulma ve kırık riskinde artışa yol açan azalmış kemik gücü ile karakterize, sistemik bir iskelet hastalığıdır'' (1). Osteoporoz, kemikleri zayıflatarak kırığa yatkınlığı artırır ve en önemli bulgusu olan kırık kafatası kemikleri hariç en sık omurga, el bileği ve kalça bölgesinde olmak üzere herhangi bir kemikte oluşabilir. Osteoporoz en sık görülen metabolik kemik hastalığıdır ve insan yaşam beklentisindeki artış ve mevcut sağlık koşullarındaki iyileşme günümüzde osteoporozla bağlı kırık oluşumunu önemli bir sağlık sorunu haline getirmiştir. Osteoporotik kırıklar sonrası oluşan kronik ağrı, uzun süreli özürlülük ve yaşam kalitesinde bozulmaya neden olur, mortalite ve morbiditeyi artırır (2). Dual-energy X-ray absorpsiyometri (DEXA) kırık riskini belirlemede altın standart kabul edilmektedir ancak kırık tahmini yapmakta tek başına yetersiz kalmaktadır (3). Osteoporotik kırıkların mortalitesi, tedavi maliyeti ve yaşam kalitesi üzerine olan olumsuz etkileri göz önüne alındığında risk altındaki bireylerin belirlenmesi ve koruyucu önlemlerin alınması giderek önem kazanmaktadır.

Osteoporozun genetik bir hastalık olduğuna ilişkin pek çok veri mevcuttur. Genetik epidemiyolojik çalışmalarda aile öyküsünde maternal kırık olan kadınlarda kırık riskinin arttığı gösterilmiştir. Kemik mineral yoğunluğuna kalıtımın etkisi %80 olarak daha önceki yayınlarda bildirilmektedir. Gen-çevre etkileşimi, genetik faktörlerin yanında diyet, egzersiz, güneş ışığına maruz kalma gibi etmenleri de içermektedir (4). Son yıllarda değişik toplumlarda yapılan çalışmalarda kollajen tip1 alfa1 (COL1A1) gen polimorfizmi ile osteoporotik kırık ve kemik mineral yoğunluğu (KMY) arasındaki ilişki araştırılmıştır ve birçok çalışmada anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. COL1A1 Sp1 polimorfizmi sonucu DNA bağlanma afinitesi, kollajen transkripsiyonu ve kollajen protein üretimi etkilenmektedir ve sonuçta kollajen tip1 alfa 1 ve alfa 2 zincirlerinin 2:1 oranının bozulmasına neden olmaktadır (5).

Türkiye’de postmenopozal kadınlarda COL1A1 gen polimorfizmi ile vertebral kırık arasındaki ilişki bilinmemektedir. Bu çalışmada posmenopozal kadınlarda KMY ve vertebral kırık riskinin belirlenmesinde COL1A1 gen polimorfizminin rolü araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

1.1. Normal Kemik Dokusu

Kemik, özelleşmiş, canlı ve dinamik bir bağ dokusudur. Hareket gibi mekanik fonksiyonda, kalp, akciğer, beyin, omurilik gibi hayati organları korumada, kalsiyum ve fosfat başta olmak üzere çeşitli mineralleri depolamada, hematopoez ve immün sistem fonksiyonlarında rol oynamaktadır (6).

Kemik, organik ve inorganik kısımlardan oluşur. Ağırlığının %70'ini mineraller veya inorganik madde, %5-8'ini su, geriye kalanını kollajen ve kollajen dışı proteinlerin oluşturduğu matriks ve kemik hücrelerini içeren organik bölüm oluşturur. Organik bölüm %98 matriks, %2 hücrelerden oluşur. Matriksin %95'ini tendon ve derinin de major yapısal proteini olan tip I kollajen, %5'ini ise diğer proteinler meydana getirir. Tip I kollajen osteoblastlardan salgınır ve süpersature ekstraselüler sıvıdan gelen hidroksiapatit kristallarının yerleşmesini sağlar. Kollajen dışındaki proteinler, osteokalsin, osteonektin, kemik proteoglikanı, kemik siyaloproteini, kemik morfojenik proteini (BMP), kemik proteolipidi ve kemik fosfoproteinidir. Kemikğin %70'ini oluşturan inorganik bölümün çoğunluğunu kalsiyum hidroksiapatit ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) kristalleri oluşturur (7, 8).

Kemik dokusunda bulunan başlıca hücreler osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositlerdir.

- **Osteoblastlar**

Osteoblastlar multipotent mezenkimal kök hücrelerinden köken alır ve kemik oluşumu ile mineralizasyonunda önemli rol oynar. Aktif osteoblastlar kemik dokusunu, inaktif osteoblastlar kemik yüzeyini örten hücreleri meydana getirir. Osteoblastlar tarafından Tip 1 kollajen, alkalen fosfataz (ALP), osteokalsin, kemik siyaloproteini, osteopontin, proteoglikanlar gibi matriks elemanları ve IGF (insulin-benzeri büyüme faktörü), PDGF (platelet-derive büyüme faktörü), bFGF (temel

fibroblast büyüme faktörü), TGF-beta (transforme edici büyüme faktörü-beta) ve BMP gibi bazı büyüme faktörleri ve sitokinler üretilmekte aynı zamanda kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren nötral proteinazlar salgılanmaktadır. Proteazlar yüzeysel osteoid dokuyu ortadan kaldırdıktan sonra, kemik rezorpsiyonunda osteoklastlar görev alırlar. Osteoblastlar üzerinde PTH, PTHrP, GH, insülin, prolaktin, östrojen, androjen, progesteron, vitamin D3, retinoid reseptörleri gibi kemik metabolizmasında rol alan mediatörler için reseptörler bulunur ve kemik döngüsünde önemli role sahiptirler (9).

- **Osteositler**

Osteoblastlar ile aynı mezenkimal kök hücreden köken alır. Osteoblast osteoid sentezlediği ve mineralizasyon olduğu zaman osteosite dönüşür. Osteositler mineralize matrikste yerleşmiştir ve fonksiyonları tam olarak bilinmemekte fakat mekanik uyarıların diğer hücrelere iletiminde görev aldıkları düşünülmektedir (9).

- **Osteoklastlar**

Osteoklastlar hematopoetik mononükleer hücre kökenli ve multinükleuslu rezorbe edici hücrelerdir. Osteoklastlar kemik yüzeyine integrinler, osteopontin, kemik sialoprotein, trombospondin, osteonektin ve tip 1 kollajen aracılığıyla bağlanarak tartrat-rezistan asit fosfataz (TRAP), kollajenaz ve katepsinleri içeren lizozomal enzimler aracılığıyla kemik matriksini rezorbe ederler (9).

Kemik dokusu

Kemik dokunun oluşumu intrauterin hayatta başlar ve iskelet maturasyonu tamamlanıncaya kadar devam eder. Kemik başlıca iki şekilde meydana gelir: osteoblastlar tarafından yapılan matriksin direk mineralizasyonu (intramembranöz ossifikasyon) ve varolan kıkırdak dokusu üzerine kemik matriksi depolanması (enkondral ossifikasyon) şeklindedir. Her iki durumda da primer ve gevşek bir kemik dokusu oluşur, daha sonra bu dokunun yerini lameller veya sekonder kemik alır. Her iki form da kemikte birlikte bulunur. Yassı kemiklerin oluşumu, kısa kemiklerin büyümesi ve uzun kemiklerin kalınlaşması intramembranöz ossifikasyon ile olur. Uzun kemikler veya appendiküler iskelet ise enkondral ossifikasyon ile oluşur.

Mezenkimal kök hücreler önce kondroblastlara, daha sonra kondrositlere farklılaşır. Kondrositler tip II kollajen ve proteoglikandan zengin ekstrasellüler matriksi sentezlerler. Kondrositlerin salgıladığı enzimler mineralizasyon için uygun ortamı oluşturur. Mineralize olan kıkırdak matriks, osteoklastlar tarafından rezorbe edilir. İlk oluşan kalsifiye kıkırdak primer spongioza olarak adlandırılır. Daha sonra bu dokunun üzerinde oluşan kemiğe ise sekonder spongiyoza denir (10,11).

İskelet maturasyonu tamamlandıktan sonra hem kortikal kemikte hem de trabeküler kemikte eski kemiğin yerini yeni kemiğin alması ile sonuçlanan ve hayat boyunca devam eden kemiğin üzerine binen mekanik strese adaptasyon göstermesini sağlayan süreç remodeling (kemiğin yeniden yapılanması) olarak adlandırılır. Ayrıca mikrofraktürlerin tamiri ve mineral homeostazının devamlılığı için de kemiğin yeniden yapılanması gereklidir. Remodeling periostal, endostal, trabeküler yüzeylerde ve haversian kanallarında gerçekleşir ve beş fazdan oluşur (9, 12, 13).

Aktivasyon: Osteoblastlar tarafından sentezlenen nötral proteazlar ile kemik dokusu ile yüzeyel hücreler arasında bulunan mineralize olmamış osteoid rezorbe edilir. PTH, 1,25(OH)2D3 ve PGE uyarısı ile yüzeydeki osteoblastlar kontrakte olur ve mineralize matriks açığa çıkar ve aktivasyon süreci başlar. Açığa çıkan matrikse osteoklast prekürsörleri osteokalsin, osteopontin, osteonektin gibi proteinlerin etkisiyle yapışarak aktif hale gelirler. Erişkin iskelette her 10 saniyede bir aktivasyon olmaktadır.

Rezorpsiyon: Aktif osteoklastlar tarafından temasta buldukları yüzeyden 2-3 kat daha fazla kemik yüzeyi rezorbe edilir. Yaklaşık 2-4 hafta sürer.

Reversal: Kemik yıkımının bitmesi ve formasyonun başlaması arasında geçen süredir. Rezorpsiyon kavitesinde kollajenden fakir, proteoglikan ve glikoproteinden zengin dolgu maddesi (sement çizgisi) depolanarak daha ileri kemik rezorpsiyonu önlenir. Yaklaşık 1-2 hafta sürer.

Formasyon: Osteoblastlar tarafından osteoid dokusu sentezlenir. Yeni oluşan osteoid dokunun mineralizasyonu ile remodeling tamamlanmış olur. Kemik kitlesinin korunması için yıkılan eski kemik ile yapılan yeni kemiğin birbirleriyle dengede olması gerekir.

Dinlenme: Kemik dokuda yeni döngü başlayana kadar değişiklik olmaz. (10,13,14).

Normal kemik döngüsünde yapım ve yıkım dengededir. Osteoblastların osteoklastları uyarmasıyla osteoklast maturasyonu gerçekleşir. Matür osteoklastlar tarafından kemik yıkımı artar. Rezorpsiyonda ilk aşamada hidroksiapatit kristallerinin kollajenle bağları koparılarak serbestleştirilir. Sonra rezüdüel kollajenler katepsin veya aktif kollajenazlar tarafından parçalanır. Osteoklast üzerinde kalsitonin, androjen, tiroid hormon, insülin, PTH, IGF-1, IL-1, CSF-1, PDGF reseptörleri bulunur ve fonksiyonu lokal sitokinler ve sistemik hormonlar etkiler (9). Rezorpsiyondan sonra osteoblastlar tarafından 40- 60 gün süren kemik yapımı başlar.

Kemiğin yeniden yapılanmasında parathormon (PTH), kalsitonin ve D vitamini metabolitleri etkilidir (15). Bu hormonların sentez ve salgılanmaları plazma ve ekstraselüler sıvıdaki iyonize kalsiyumun yoğunluğu ile düzenlenir. Bu hormonlar kalsiyum, fosfat ve magnezyum homeostazını düzenlerler. PTH reseptörleri osteoblastlar üzerinde bulunur ancak osteosit ve osteoklastlar üzerinde bulunmazlar. Parathormonun osteoklastlar üzerine etkisi osteoblastlar aracılığıyla gerçekleşir (16). Deride oluşan kolekalsiferol karaciğer ve böbrekte hidroksillenerek 1,25 dihidroksikolekalsiferole dönüşür. Parathormon, kalsitonin, ekstraselüler sıvının kalsiyum ve fosfat düzeyi ile böbrekteki sentezi düzenlenir. Parathormon, barsakta kalsiyum ve fosfat emilimini artırır ve böbreğin proksimal tübülüs hücrelerindeki mitokondrileri uyarak D vitamini aktive eder. Kemikte osteoblastlar aracılığıyla preosteoklastların olgunlaşmasını ve osteoklastik kemik rezorpsiyonunu uyarır. 1,25 (OH)₂ D₃ (1,25 dihidroksikolekalsiferol), barsaklarda kalsiyum ve fosfat iyonu emilimini artırır ve mineralizasyonu sağlar. Kalsitonin kemikteki osteoklastik rezorpsiyonu önler (9,17,18). Kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesinde glukokortikoidler, östrojen, androjen, tiroid hormonları ve büyüme hormonu önemlidir (19). Kadınlarda menopoza takiben kemik kaybı hızlanır, 65-70 yaşlarındaki kadın ve erkeklerde aynı hızdadır.

Trabeküler kemik vertebra korpusu, uzun kemiklerin epifiz ve metafizlerinde yoğun olarak bulunmaktadır. Trabeküller mekanik stres çizgileri boyunca yerleşerek yatay

ve dikey trabeküler plakların oluşturduğu bal peteği görünümünü oluştururlar. Böylece vertebra, kalça ve topukta karakteristik trabekül dizilimleri izlenir ve kompresif güçlere karşı kemiğin direncini arttıracak biçimde düzenlenmiştir (20). İnsanlarda trabeküler kemik kaybı hızlı kemik kaybının olduğu dönemlerde daha fazladır. Bu nedenle genellikle vertebra gibi trabeküler kemikten zengin bölgelerde osteoporozla bağlı kırıklar daha çok oluşmaktadır (21).

1.2. Osteoporoz

2.2.1. Tanım

Osteoporozun 1993 yılında Consensus Development Conference tarafından yapılan ve daha sonra Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) çalışma grubu tarafından onaylanan tanımı: "Osteoporoz, düşük kemik kütlesi, kemik dokunun mikromimari yapı ve kalitesinde bozulma ve kırık riskinde artışa yol açan kemik gücünde azalma ile karakterize, sistemik bir iskelet hastalığıdır" şeklindedir (1,22) .

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) görüntüleme yöntemlerinden Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) verilerini kullanarak hazırladığı osteoporoz tanımı şu şekildedir (23, 24).

Tablo 1. DSÖ osteoporoz tanımı

Normal	Kemik yoğunluğu ölçümünün -1 SD üzerinde olması
Osteopeni	Kemik yoğunluğu ölçümünün -1 ile -2,5 SD arasında, genç erişkin ortalamasının altında olması (Tskoru <-1 ile -2,5 arası olması)
Osteoporoz	Kemik yoğunluğu ölçümünün genç, sağlıklı kontrollerden 2,5 SD'den az olması (Tskoru <-2,5)
Yerleşik osteoporoz	Kemik yoğunluğu ölçümünün genç, sağlıklı kontrollerden 2,5 SD'den az olması ve kırık olması.

2.2.2. Epidemiyoloji

Dünyada giderek artan yaşlı nüfus oranı osteoporoz ve sonuçlarının önemini artırmaktadır. Pek çok insanda korunması ve tedavi edilmesi mümkün olan bu hastalığın tanısı konulamamaktadır. Hastalığın tek objektif bulgusu kırık olduğu için daha çok kırık sıklığı, belirleyicileri ve dağılımı araştırılmıştır. Kadınlarda daha sık ve özellikle ileri yaş grubunda görülen osteoporoz, Avrupa Birliği ülkelerinde günde 1700, yılda 650.000 kırığa sebep olmaktadır (25).

Osteoporozla bağlı kırıklar en çok vertebralarda, el bileğinde ve kalçada görülmekle birlikte kemik mineral yoğunluğunun çok azaldığı durumlarda tüm bölgeler risk altındadır. Periferik kırıkların sadece %15'i osteoporozla bağlı olarak meydana gelir. Periferik kırıklarda KMY'undan çok kırığa bağlı osteoporoz tanımımlanması eğilimde artış vardır (26).

En yaygın kırık olduğu tahmin edilen vertebral osteoporotik kırıklar düşük enerjili travmalara sekonder olarak gelişir ve en sık 55-70 yaş arasında görülür. 50 yaşından büyük kadınlarda vertebral kırık prevalansı %35-50 arasındadır ancak her 3 vertebral kırıktan sadece biri klinik olarak farkedilebilir ve tanı koyulabilir. Vertebral kırığı olanlar yeni bir vertebral kırık için 4 kat, kalça ve diğer nonvertebral kırıklar için 2 kat artmış riske sahiptir. Vertebralar ve el bileğinde oluşan kırıklar morbidite açısından önemli iken, kalça kırığı %15-20 oranında ölümlerle sonuçlanabilir ve özellikle yaşlı kadın ve erkeklerde mortalite açısından çok önemlidir. Yaşla birlikte kalça kırığı riski artmaktadır. Yapılan çalışmalarda intertrokanterik kırıklar için yaşlanma ve trabeküler kemik yoğunluğunda azalma, femur boynu kırıklarında ise herediter yatkınlık risk faktörleri olarak belirtilmiştir. Tüm kalça kırıklarının %98'i 35 yaşın üzerindeki kişilerde görülmekte olup 80 yaşında kalça kırığı prevalansı %6'dır. Kalça kırığı beyazlarda siyahlara ve Asya toplumlarına oranla daha fazla görülmektedir. KMY kırık sıklığı ile ilişkilidir, ancak toplumlar arasında farklılık gösterebilmektedir. Japon kadınlarda kemik yoğunluğu düşüktür ancak beyaz kadınlardan %50 daha az kalça kırığı görülmektedir. Türkiye'nin de katıldığı MEDOS çalışmasında buna benzer sonuçlar elde edilmiş, ayrıca ülkelere göre kalça

kırığının kadın ve erkek farklılıkları ortaya konulmuştur. Kalça kırıkları, büyük oranda düşmeler sonucu ve daha çok kış aylarında görülmektedir. Osteoporotik kırığı olan hastaların bir kısmı durumlarının farkında değildir. Amerika'da osteoporotik kırığı olan hastaların sadece %25'i osteoporoz tedavisi almaktadır (27-29). Menopoz sonrası kemik kaybının hızlanmasına bağlı olarak, postmenopozal osteoporoz en sık görülen osteoporoz tipidir. Yapılan çalışmalarda beyaz ırkta 50 yaş üstü kadınlarda el bilek, vertebra ve kalçada hayat boyu kırık riski %45 olarak değerlendirilmiştir (30).

60 yaş üstü kalça, vertebra ve el bileğinde gelişen osteoporotik kırıklar nedeniyle hastanede yatış oranlarında son yıllarda artış vardır. Menopoz sonrası kadınlarda menstruasyon kesilmeden 2-3 yıl önce hızlı kemik kaybı başlar ve postmenopozal 5. yıla kadar kayıp devam eder (31). Toplam kemik kaybının %20'si postmenopozal dönemde gerçekleşmektedir. Osteoporozla bağlı vertebra deformiteleri, ağrı fiziksel fonksiyonlarda azalma, sosyal izolasyon ve depresyona neden olabilmektedir (32,33). Özellikle kalça kırıkları akut ağrı, fonksiyon kaybı ve hemen her zaman hastanede yatmaya neden olmaktadır (30).

İnsanlarda doruk kemik kütlesi (DKK), 30-35 yaşına kadar oluşmakta daha sonraki yaşlarda özellikle kadınlarda yavaş yavaş azalmaktadır. Yapılan çalışmalarda kadınların kemik kütlelerinin %45-50'sini erkeklerin ise %20-30'nu yaşam boyunca kaybettiği saptanmıştır (20).

Yaşla birlikte büyük oranda düşmeye bağlı olarak osteoporozla bağlı kırıkların insidansı artar (34-37). KMY emzirme (38), eğitim seviyesi gibi faktörlerden de etkilenir. 70 yaşın üzerinde hiçbir belirti olmadan kadınların %21'inde radyolojik olarak kırık gözlenir. 90 yaşında bir kadının kalça kırığı geçirmiş olma olasılığı %20'dir ve bu kırıkların yaklaşık %15'i ilk üç ayda ölümlü sonuçlanır (37, 39).

Kemik yoğunluğunu etkileyen faktörleri bilmek ve bunu toplum eğitiminde kullanmak osteoporozun önlenmesi için önemlidir. Dengesiz beslenme, rafine karbonhidrat ve doymuş yağ asitlerinin fazla tüketilmesi, sedanter yaşam tarzı gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıkların artmasına ve yaşa bağlı artan

nörolojik hastalıklar, tümörler, osteoartroz ve osteoporoz gibi hastalıklar ise yaşam kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır. Tüm bu hastalıklarda erken tanı ve korunma önemlidir (35, 40).

2.2.3. Osteoporozda Patofizyoloji

1940 yılında Fuller Albright postmenopozal osteoporozu östrojen eksikliğine bağlı kemik yapımının bozulması olarak tarif etmiştir ancak günümüzde osteoporoz patogenezinin daha kompleks olduğu anlaşılmıştır: Genetik, sistemik hormonlar, inflamatuvar sitokinler, immün sistem, büyüme faktörleri, kollajen bozuklukları, nöral yollar ve henüz keşfedilmemiş birçok faktör buna dahildir (41).

Osteoporoz patofizyolojisinde 3 faktör önemli rol oynamaktadır:

- Doruk kemik kitlesi,
- Kemik yapım-yıkım hızı (turnover),
- Kemikğin organik matriksinde oluşan değişiklikler

Doruk kemik kütlesi, büyüme ile kişinin ulaşabileceği en yüksek kemik miktarıdır ve gelecekte kemik kaybını ve kırık riskini tahmin etmede önemlidir. DKK'ne erişme yaşı 17-35 yaş olarak bildirilmektedir. DKK, hayatın geri kalanında KMY için majör belirleyicidir ancak genetik faktörler, hormonlar, beslenme, pubertal gelişim, gebelik, laktasyon ve egzersiz gibi faktörler tarafından da etkilenir (42). Çocukluk ve adölesan dönemde kemik yapımı kemik yıkımından daha fazladır ve sonuçta kemik kütlesinde artış olur. DKK oluştuktan birkaç yıl sonra kemik yapım ve yıkımı dengede kalır. Kadınlarda menopozun başlaması ve her iki cinsiyette yaşlanmanın etkisiyle bu denge bozulur ve kemik yapısı ile kemik kalitesi bozulmaya başlar. Bu durum geliştiğinde kemik kaybının şekli çoğunlukla genetik olarak belirlenir (41). Kadınlarda menopoz dönemi ile birlikte daha hızlı bir kemik kütle kaybı gerçekleşmektedir. Menopoz öncesi kadınlarda yılda %0,25-1 oranında kayıp olurken, perimenopozal ve postmenopozal dönemde yılda %2-5, postmenopozal ilk 10 yıldaki kayıp ise yaklaşık %15 (bu oranın %50'si ilk 5-6 yılda) olarak gerçekleşmektedir. Kemik kütlesindeki her %10'luk kayıp kırık riskini iki katına

çıkarmaktadır (43). Kemik yapım ve yıkım arasındaki dengesizlik sonucu osteoporoz ortaya çıkmaktadır. Yaşam boyu erkeklerde kemik kaybı oranı %20–30, kadınlarda ise %40-50'dir. Kadınlarda kemik kaybı daha erken başmakta ve daha hızlı seyretmektedir (6).

Kemik dokusunu oluşturan protein ve mineralden herhangi birindeki eksiklik, kemiğin boyutunu veya yoğunluğunu, bazen de her ikisini birden etkilemektedir (44). Östrojen eksikliğinde osteoklast aktivitesinde artış, osteoblast aktivitesinde azalma olur ve sonuçta kemik kütlelerinde azalma meydana gelir. Östrojen eksikliğinde proinflamatuvar sitokinlerin salınımında artış olur (monosit, makrofaj ve osteoblastlardan interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-a)). Bu artışın nedeni bilinmemektedir (45). Proinflamatuvar sitokinler ile uyarılan stromal hücre ve preosteoblastlardan osteoklast prekürsörlerinin proliferasyonunu veya osteoklastogenezisi stimüle eden IL-1, IL-6, makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) ve nükleer faktör kappa B reseptör aktivatörü ligandı (RANKL) gibi faktörler salgılanmaktadır (46). Östrojen eksikliği ile matür osteoklastların apoptozu azalmakta, aktivasyonu artmaktadır (47). RANKL, osteoprotegerin ligandı (OPGL) ya da osteoklast farklılaşma faktörü (ODF) olarak da bilinmektedir. RANKL membrana bağlı TNF ailesindedir ve stromal fibroblastlar, osteoblastlar, T hücreleri ile tümör hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Osteoklastların farklılaşmasında en temel düzenleyici faktörlerden biridir. Membrana bağlı ve serbest formları bulunmaktadır. Postmenapozal osteoporoz, romatoid artrit, maligniteye bağlı kemik yıkımı gibi patolojik kemik kaybının görüldüğü durumlarda da önemli rol oynamaktadır. Osteoblastlardan RANKL salınımı IL-1b, IL-11, TNF-a ve PG-E2 gibi sitokinlerin yanı sıra deksametazon, 1,25(OH)₂ vitaminD₃ ve PTH gibi hormonlar tarafından da stimüle TGF-beta ile inhibe olmaktadır (48, 49). Östrojen eksikliği sonucu, osteoblastların RANKL üretimi artmakta ayrıca osteoblastın RANKL üretimi ve aktivitesini azaltan osteoprotegerin (OPG) üretimi de azalmaktadır. Osteoblastlardaki OPG salınımı IL-1alfa, IL-1beta, TNF-alfa gibi sitokinler ve 1,25(OH)₂ vitaminD₃, östrojen ve özellikle TGF-b tarafından stimüle edilir (50-52). Sonuçta osteoblastogenezisin azalmasına, osteoblastların ve osteositlerin yaşam sürelerinin kısalmasına yol açarak postmenopozal OP patogeneğinde rol alırlar (53).

RANKL, makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) varlığında, preosteoklastlardaki reseptörü RANK'a bağlanarak osteoklastların farklılaşmasını ve aktivasyonunu uyarmakta apoptozunu ise inhibe etmektedir. RANK-RANKL etkileşimi ile osteoklast prekürsör hücrelerin matürasyonu başlamaktadır (54). Premenopozal ya da östrojen tedavisi alan postmenopozal kadınlara göre postmenopozal kadınlarda stromal hücrelerin ve T hücrelerinin daha fazla RANKL oluşturduğu ve RANKL salınımının östradiol verilmesi ile baskılandığı gösterilmiştir. RANKL'ın keşfedilmesi yeni terapötik hedeflerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Yapılan çalışmalarda spesifik anti-RANKL antikoru olan Denosumabın kemik rezorpsiyonunu hızlı ve önemli oranda baskıladığı ve vertebral, vertebra dışı ve kalça kırık riskini azalttığı gösterilmiştir bu nedenle osteoporoz tedavisinde iyi bir seçenek olabileceği düşünülmektedir (55-57).

Sağlıklı genç kadınlarda oral kontraseptiflerin serum OPG seviyesini arttırdığı, OPG/RANKL oranında artışa neden olduğu ancak glukokortikoidler, PTH ve PGE2'nin OPG salınımını baskıladığı gösterilmiştir (58,59).

2.2.4. Osteoporoz Sınıflaması

Osteoporozun birçok nedeni vardır ve değişik klinik tablolar ile karşımıza çıkabilir. Osteoporoz primer ve sekonder olarak iki grupta sınıflandırılabilir (Tablo 2). İdiyopatik osteoporoz daha çok çocuk ve erişkinlerde görülmekte ve nedeni bilinmemektedir. İnvolyüsyonel osteoporozu da Tip I ve II olarak iki başlık altında değerlendirebiliriz. Tip I osteoporoz daha önce Albright tarafından postmenopozal osteoporoz, Tip II osteoporoz ise senil osteoporoz olarak adlandırılmıştır (60). Her iki tipin karşılaştırması Tablo 3'de yapılmıştır.

Tablo 2. Osteoporozun sınıflandırılması

İdiyopatik	Juvenil osteoporoz Genç erişkinlerde idiyopatik osteoporoz İnvölüsyonel osteoporoz Tip I (postmenopozal osteoporoz) Tip II (senil osteoporoz)
Sekonder	Hiperkortizolizm Hipogonadizm Hipertiroidizm Hiperparatiroidizm Antikonvülzanlar Malabsorbsiyon sendromu Romatoid artrit Bağ dokusu hastalıkları Kronik nörolojik hastalıklar Kronik obstrüktif akciğer hastalığı Maligniteler

Tablo 3. İnvölüsyonel osteoporoz

	Tip I	Tip II
Yaş (yıl)	51-75	70 üzeri
Cinsiyet oranı (K:E)	6:1	2:1
Kemik kaybı tipi	kanselöz	Kanselöz ve kortikal
Kemik kaybı hızı	hızlı	yavaş
Kırık bölgeleri	vertebra(crush), radius	vertebra (multipl kama), femur
Paratiroid fonksiyonu	azalmış	artmış
Kalsiyum absorpsiyonu	azalmış	azalmış
Östrojen etkisi	iskelet üzerine	iskelet dışına
Ana neden	menopoz ile birlikte bireysel predispozan faktörler	östrojen yetmezliği de dahil yaşlanmaya bağlı faktörler

2.2.5. Osteoporoz ve Risk Faktörleri

Osteoporoz multifaktöriyel bir hastalık olup, uzun süre klinik olarak sessiz seyredildiği için risk faktörlerinin belirlenmesi önemlidir. Yüksek risk altındaki bireyler belirlenerek ve bazı risk faktörleri azaltılarak kırık oluşumu önlenabilir (Tablo 4) (61,62) .

Tablo 4. Osteoporoz risk faktörleri

Değiştirilebilir risk faktörleri	Değiştirilemeyen risk faktörleri
Sigara	Ailede osteoporoz veya kırık öyküsü
Düşük vücut ağırlığı (vücut kütle indeksi <19)	Beyaz veya Asya ırkı olmak
Endokrin bozukluklar	İleri yaş (65 yaş üzeri)
Prematür veya cerrahi menapoz	Kadın cinsiyet
Kronik kortikosteroid tedavisi	Osteoporotik kırık öyküsü
Östrojen veya testosteron eksikliği	
Tiroid hormon aşırı replasmanı	
Kalsiyum ve D vitamin eksikliği	
Aşırı alkol alımı	
Yetersiz fiziksel aktivite	
Yüksek kemik döngüsü	
Antikonvülsanlar	
Beslenme bozuklukları	
Azalmış görme yeteneği	
Nörolojik hastalıklar	
İyatrojenik nedenler	

Tablo 5. Düşük kemik kütleli kırık risk faktörleri

Yüksek risk	Orta risk	Risk faktörü olmayanlar
Yaş (70-80 yaş üzeri)	Cinsiyet (kadın)	Kafein tüketimi
Düşük vücut ağırlığı	Sigara (aktif içicilik)	Çay tüketimi
Kilo kaybı	Düşük güneş ışığı maruziyeti	Menopoz
Fiziksel inaktivite	Ailede osteoporotik kırık öyküsü	Nulliparite
Kortikosteroidler	Cerrahi menopoz	Florürlü su tüketimi
Antikonvülsanlar	Erken menopoz (45 yaş altı)	Tiazid diüretikler
Primer hiperparatiroidizm	Kısa fertil period (30 yıl altı)	
Tip I diabetes mellitus	Geç menarş (15 yaş üstü)	
Anoreksia nervosa	Laktasyon olmaması	
Gastrektomi	Düşük kalsiyum alımı (<500-850mg)	
Pernisyoöz anemi	Hiperparatiroidizm	
Geçirilmiş osteoporotik kırık varlığı	Hipertiroidizm	
	Diabetes mellitus Tip2	
	Romatoid artrit	

Kemik mineral yoğunluğu ile birlikte veya KMY'na bakılmaksızın klinik risk faktörlerine bakılarak 10 yıllık kalça kırık riski tahmini için Dünya Sağlık Örgütü tarafından FRAX (fracture risk assesment tool) geliştirilmiştir (63). FRAX'ta değerlendirilen risk faktörleri Tablo 5'te görülmektedir.

Tablo 6. FRAX'ta değerlendirilen risk faktörleri

Yaş
Cinsiyet
Boy, kilo
Kırık öyküsü
Anne veya babada kalça kırık öyküsü
Aktif sigara içimi
Kronik glukokortikoid kullanımı
Romatoid artrit
Günde 3 birimden fazla alkol kullanımı
Diğer osteoporoz nedenlerinin varlığı
KMY

2.2.6. Osteoporozda Klinik Bulgular

Osteoporozun tek klinik bulgusu kırıktır. Kırıklar en sık el bilek, kalça ve vertebra kırığı olarak karşımıza çıkmaktadır ve düşük enerjili travmalarla meydana gelmektedir. El bilek kırığı gelişen hastalarda ikinci kırık riski 2 kat daha fazladır. Kalça kırığı osteoporozun morbidite ve mortalitesi en yüksek komplikasyonu olup hastane hizmeti gerektirir. Kalça kırığı riski yaşla birlikte artış göstermekte ve yaşam süresini kısaltmaktadır (61).

Osteoporozda en sık görülen kırık vertebra kırıklarıdır. 50 yaşından sonra görülme sıklığı %35-50 artmaktadır (62). Semptomların gözden kaçması ve diğer hastalıkların ayırıcı tanısında daha az dikkate alınması nedeniyle her 3 vertebral kırıktan sadece birisi teşhis edilebilmektedir. Vertebral kırıklar önemli morbidite nedenidir. Başlangıçta asemptomatik olabilir veya ağrı ile karşımıza çıkabilir. İlerleyen dönemlerde boyda kısalma, kifotik deformite, şiddetli sırt ağrısı, ileri deformitelerde solunum güçlüğü, bozulmuş ambulasyon ve denge gibi problemlere neden olabilmektedir. Hastalar tarafından en sık sırt ağrısı ve boyda kısalma yakınmaları bildirilmektedir. Vertebral kırık sonrası akut ağrı, paravertebral spazm ve spinöz

çıkıntılarda lokalize hassasiyet görülebilir. Ağrı yaklaşık 6 haftada azalır. Vetebral kırıklara bağlı olarak hayat boyunca 6 cm ve daha fazla boy kısalması görülebilir (64).

2.2.7. Osteoporozda Tanı Yöntemleri

Osteoporoz tanısı ve kırık riskinin saptanmasında, tedaviye karar verme ve tedavi etkinliğinin saptanmasında KMY ölçümleri yaygın olarak kullanılır.

Tablo 7. KMY değerlendirmesinde kullanılan tetkikler (65)

Radyografiler
Dual enerji x-ray absorbsiyometri (DEXA)
Tek foton absorbsiyometri (SPA),
Dual foton absorbsiyometri (DPA),
Kantitatif kompüterize tomografi (QCT),
Speed of sound (SOS) ve broadband ultrasonic attenuation (BUA) parametrelerini içeren ultrasonik ölçüm,
Tek enerji x-ray absorbsiyometri (SXA)

Bu testlerin uygulanmasında karar verirken testlerin geçerliliği ve tekarlanabilirliği mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Anatomik bölgelere göre en iyi sonuç veren teknikler yapılmış olan bir çalışmada gösterilmiştir. En güvenilir sonuçlar spiral QCT ile elde edilmiş, omurga ölçümlerinde QCT ve DEXA arasında da kuvvetli birliktelik bulunmuştur (63,66,67).











Anatomik bölgelere göre en iyi sonuç veren teknikler:

1. Omurganın değerlendirilmesinde kantitatif tomografi (QCT)
2. Kalçada dual enerji x-ray absorbsiyometri (DEXA)
3. Radius için dual enerji x-ray absorbsiyometri (DEXA)
4. El için radyografik absorbsiyometri (RA)
5. Kalkaneus için SOS ve BUA parametreleri ile kantitatif ultrason (QUS)

Radyografi

Radyografide osteopenik görünüm için kemik kütlesinde en az %30 kayıp olması gerekmektedir. Vertebra cisimlerindeki horizontal trabeküllerdeki azalmayı vertikal trabeküllerde göreceli bir kalınlaşma izler ve vertebrada vertikal çizgilenme görülür. Trabeküler kemiğin yoğunluğunun azalmasıyla vertebralarda resim çerçevesi veya boş kutu görünümü oluşur. Osteoporozla bağlı vertebra deformiteleri kama, bikonkav ve kompresyon şeklinde görülmektedir. Vertebral deformiteleri belirleme amacıyla çeşitli indeksler geliştirilmiştir ancak en sık kullanılan semikantitatif kırık değerlendirme-Genant radyolojik osteoporoz skorlama sistemidir. Kama vertebrada vertebra anterior yüksekliğinde %20 veya daha fazla azalma, bikonkav vertebrada orta yükseklikte %20 veya daha fazla azalma, kompresyon vertebrada ise vertebra anterior-orta ve posterior yüksekliğinde %20 veya daha fazla azalma olmaktadır. Akut vertebra kırıklarında direk grafi ile kırıklar tespit edilemeyebilir. Bu durumda MR ile görüntüleme daha faydalı olacaktır (68-70) .

Sigh İndeksi proksimal femurdaki trabeküllerin orijinal kalınlıklarına bağlı olarak önceden tahmin edilebilen ve kaybolacağı varsayımına dayanan bir femoral indekstir.

	Normal (Grade 0)	Kamalaşma	Bikonkavite	Kompresyon
				
Hafif Deformite (Grade 1)				
Orta Derecede Deformite (Grade 2)				
Ciddi Deformite (Grade 3)				

Şekil 1. Semikantitatif kırık değerlendirme - Genant radyolojik osteoporoz skorlama sistemi

Kemik mineral yoğunluğu ölçüm yöntemleri

1. Tek Foton Absorbsiyometri (SPA):

Bu metod; I125 kaynağından yapılan düzenli monoenerjetik foton hüzmesinin, bir ekstremiteden radyasyon ile geçişinin, Na iodid içeren ve radyoaktif cisim parıltılarını saptayan bir dedektör ile ölçülmesidir. Bu teknik, sadece yumuşak doku kalınlığının sabit olduğu vücut bölgelerinde kullanılabilir ki, bu da distal radius ve ulna ile sınırlı kalmaktadır.

2. Dual Foton Absorbsiyometri (DPA):

Gadalinium kaynağından kaynaklanan iki foton hüzmesinin iki farklı enerji ile ölçülmesidir. Femur, omurga ve tüm vücut kemik mineral yoğunluğu hakkında kantitatif değerler verir. Radyasyon dozu 10 mrem'dir. KMY ve kemik mineral içeriği konusunda kantitatif bilgi sağlar. Duyarlı ve özgül bir yöntem olmakla birlikte, her toplumda kırık riski sınırının ayrılarak araştırılması gerekliliği göz önünde bulundurulmalıdır. Yalancı negatif sonuç verebilmesi, radyoizotop madde maliyetinin yüksek olması, yılda bir kez kaynağın değiştirilme zorunluluğu ve buna bağlı olarak hata payının artması gibi olumsuzlukları vardır.

3. Kantitatif Kompüterize Tomografi (QCT):

Hacimsel (gr/cm^3) mineral yoğunluk ölçümü yapan oldukça pahalı bir yöntemdir. 8-10 mm kalınlıktaki kesitler, vertebraların orta hattından geçirilir. Radyasyon dozu, 200-900 mrem arasında değişmektedir. Trabeküler kemik, kortikal kemik ayrımı yapılabilir. Vertebra dışındaki kalsifikasyonlardan etkilenmez. Periferik ölçüm, epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir, ancak çok sayıda kesitler alındığında doğru sonuçlar elde edilebilir. Yüksek rezolüsyonlu tomografinin kullanım amacı trabeküllerin durumunun değerlendirilmesidir. İnce kesitler, trabeküler ağ göstermede başarılıdır. Bazı çalışmalarda, bu kesitlerde trabeküler fragmantasyon indeksi (trabeküler ağ uzunluğunun trabekül devamsızlıklarına oranı), osteoporotik hastaları normal sağlıklı kişilerden ayırmada kullanılmıştır Ancak trabeküler yapı ölçümünün kırıkları çok iyi ayırt etmesine rağmen, vertebra dayanıklılığını değerlendirmede tek başına yeterli olmadığı kanısına varılmıştır (65).

4. Ultrason Ölçümleri:

Düşük maliyeti, taşınabilir olması, iyonizan radyasyona maruz bırakmaması ve kemik yapısal organizasyonu ve doku materyal özellikleri hakkında fikir vermesi açısından, epidemiyolojik araştırmalarda önerilen bir yöntemdir. Kalkaneus ve patellada, trabeküler kemiği, tibiada kortikal kemiği ve falankslarda integral kemiği değerlendiren teknikler vardır. Ultrason dalgasının yayılım hızı veya ses hızı, ölçülen vücut kısım genişliğinin geçiş süresine oranı (m/sn) ile hesaplanır. Süngerimsi kemikte baskın olan zayıflama mekanizması dağılma iken, kortikal kemikte absorpsiyon ağırlık kazanır. Birleşik parametreler SOS ve BUA kombinasyonundan oluşan bu parametreler; katılık, sertlik ve kantitatif ultrason indeksi olarak tanımlanmaktadır. Falanksların kantitatif ultrasonik yöntemle ve radyografik inceleme ile morfometrik değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlar, QCT ve DEXA ile yapılan vertebra dansitometrik inceleme sonuçları benzer bulunmuştur (71).

Yapılan çalışmalarda yaşlı kadınlarda kemik ultrasonunun kalça kırığını belirlemede kalça DEXA ölçümü kadar iyi olduğu ancak erken dönem postmenopozal kadınlarda vertebra ve kalça düşük KMY'nu belirlemede yetersiz olduğu bulunmuştur. Kantitatif ultrason osteoporoz tanısını koymada ve tedavi izlemede yeterli değildir (72).

5. Tek Enerji X-Ray Absorbsiyometri(SEXA):

Yumuşak dokuların kalınlığı ölçüm sonuçlarını etkilediği için, dokuların az olduğu kalkaneus ve ön kol gibi bölgelerde ölçüm yapılabilir. Kaynak X-ışınıdır. Ölçüm 5 dakika sürer. Ucuz, hızlı ve taşınabilir bir tekniktir. Alınan radyasyon dozu 1mikro Sv.dir.

6. Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometri

Günümüzde altın standart olarak kabul edilir. Enerji spektrumundaki değişikliklerin yaratacağı problemler, otomatik iç referans sistemi ile çözümlenmiştir. Işın, önce absorpsiyon materyali içeren bir ayarlama diskinden, sonra hastanın dokusundan geçer ve hastadan elde edilen değer, absorpsiyon materyalinden alınan değere

oranlanarak verilir. Yüksek rezolüsyon ile elde edilen görüntüler, ard arda incelemeler sırasında aynı bölgenin ölçüldüğüne emin olmaya olanak tanıdıkları için, netliğe önemli ölçüde katkıda bulunurlar. Duyarlılık oranı yüksektir. Tüm vücut, ön-arka ve lateral lomber omurga ve femur ölçümü yapılabilir. Tarama iki boyutludur (gr/cm²), alansal yoğunluğu verir. Periferik ölçüm de yapılabilir. Alınan radyasyon dozu 1- 5 mrem'dir. DXA ölçümlerinde, ciddi kalite güvencesi programları ve çapraz kalibrasyon prosedürleri uygulamalarının, özellikle klinik araştırma yapan merkezlerde yaygınlaştırılması gerekir. İyi bir değerlendirme için, uygun cins ve ırk referansları ile karşılaştırılmaların yapılması ön koşuldur. Çekim için geçen süre çok kısadır (2- 6 dk)(65).

7. Radyografik Absorbsiyometri (RA):

Standard el radyografilerindeki kemik dansitesinin, kendine özgü kalibrasyonu yapılmış aliminyum kama ile karşılaştırılma esasına dayanan bir yöntemdir. Filmler, gelişmiş bilgisayar analizleri ile değerlendirilir (mikrodansitometre). Ek bir cihaza gereksinim yoktur. Kırık riski konusunda da fikir vermektedir. Maliyet ve riski düşüktür (73).

8. Radyogrametre

Tübüler kemikte kortikal kalınlığın basit olarak ölçümünü içerir. Sonuçlar kombine kortikal kalınlık, kortikal indeks, kortikal alan olarak belirtilir. Bir varyasyonu dijital X-ray radyogrametre'dir. En yeni versiyonunda II-IV. metakarplardan analiz yapılır. Araştırmalarda metodun yeterli kesinlikte olduğu ve yaş, kırık öyküsüyle iyi bağlantıda olduğunu göstermiştir (74).

9. Kemik Sintigrafisi

Teknesyum 99m kullanılarak kemikte tutulan radyoizotop miktarı değerlendirilir. Kemikte biriken farmasötik ajanın miktarı, kemiğin turnover hızına ve kanlanmasına bağlıdır. Kemiğin fonksiyonel durumu hakkında bilgi vermektedir.

10. Manyetik Rezonans Görüntüleme:

Trabeküler kemik yapıyı belirlemek ve trabeküler kemik yoğunluğunu ölçmek amacıyla kullanılan, üç boyutlu görüntüleme sağlayan tekniklerden biridir.

2002 yılında Osteoporoz Bilimsel Araştırma Konseyinin Konsensusuna göre kemik dansitometrisi endikasyonları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 8. Kemik dansitometrisi endikasyonları

65 yaş üzeri kadınlar
Birden fazla riski olan genç postmenopozal kadınlar
Uzun süreli kortikosteroid kullanımı (altı aydan fazla >7.5 mg/gün)
Prematür menoz (45 yaş altı)
Düşük enerjili travma sonrası kırığı olanlar
Primer hipogonadizm
Osteoporoz ile ilişkili kronik hastalıklar
Annede kalça kırığı öyküsü
Vücut kütle indeksinin düşük olması ($VKI < 19 \text{ kg/m}^2$)
Radyografilerde osteopeni ve/veya vertebral deformite varlığı
Boyda kısalma (4 cm), dorsal kifozda artış

Tablo 9. ISCD'e göre (International Society of Clinical Densitometer) kemik densite ölçüm endikasyonları

65 yaş ve üstü kadınlar
70 yaş ve üstü erkekler
Frajilite fraktürü olan erişkinler
Düşük kemik yoğunluğu ile ilişkili hastalığı/durum söz konusu olanlar
Düşük kemik yoğunluğu ile ilişkili ilaç alanlar
Düşük kemik yoğunluğu için tedavi alanlarda tedavi etkisini izlemek için

Tablo 10. ISCD tarafından önerilen kırık değerlendirme endikasyonları (75)

1. Aşağıdaki kriterlerden en az birine sahip osteopenik postmenopozal kadınlar

- 70 yaş ve üzerinde olma
- Gençlik boy uzunluğuna göre 4 cm'den fazla kısalık olma
- Belirlenmiş 2 cm'den fazla boy uzunluğunda azalma
- Geçmişinde vertebral kırık öyküsü bulunması
- Aşağıdakilerden en az ikisine sahip olanlar:
 - 60-69 yaş arasında olma
 - Nonvertebral kırık öyküsü olma
 - Genç erişkinliğine göre 2-4 cm boy kısalması olanlar
 - Vertebral kırık riskini artıran kronik hastalığı olanlar (KOA, RA, Crohn hastalığı, vs)

2. Aşağıdaki kriterlerden en az birine sahip osteopenik erkekler

- 80 yaş ve üzerinde olma
- Genç erişkinlik dönemine göre 6 cm'den fazla boy kaybı olma
- Belirlenmiş 3 cm'den fazla boy uzunluğunda azalma
- Geçmişinde vertebral kırık öyküsü olması
- Aşağıdakilerden en az ikisine sahip olanlar:
 - 70-79 yaş arasında olma
 - Nonvertebral kırık öyküsü
 - Genç erişkinliğine göre 3-6 cm boy kısalması
 - Vertebral kırık riskini artıran kronik hastalığı olanlar (KOA, RA, Crohn hastalığı, vs)
 - Androjen antagonist tedavisi alan veya orşiektomi yapılmış olanlar

3. En az 3 aydır 5 mg ve daha fazla glukokortikoid alan kadın ve erkekler

4. Dansitometreye göre osteoporozu olan aynı zamanda bir veya daha fazla vertebral kırık tespit edilen postmenopozal kadın ve erkekler

Laboratuvar Tetkikleri

Primer osteoporozda rutin biyokimya tetkikleri normal sınırlar içindedir. Primer ve sekonder osteoporoz ayırımı için ayırıcı tanı yöntemleri gereklidir. Özellikle hematolojik maligniteleri ekarte etmek için hemoglobin, lökosit ve lökosit formülü, sedimentasyon hızı gibi tetkikler gereklidir. Tam idrar tahlili, kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, PTH, açlık kan şekeri, kreatinin, AST, ALT, serum proteinleri, serum 25 OH vitamin D3 düzeyleri, TSH, serbest T4, premenopozal kadın ve erkeklerde LH, FSH, prolaktin, plazma testosteron veya östrodiol düzeyleri, serbest idrar kortizolu, 24 saatlik idrarda kalsiyum ve sodyum miktar tespiti ile ayırıcı tanı yapılabilir. Klinik bulguların gerektirdiği durumlarda idrarda homosistein, Bence Jones proteinürisi, anti-gliadin antikoru ve son olarak da kemik biyopsisi ve/veya kemik iliği aspirasyon biyopsisi yapılabilir (6).

İdrarda Kalsiyum Düzeyi

İdrarla kalsiyum atılımının değerlendirilmesinde 24 saatlik idrarda kalsiyum, spot idrarda kalsiyum/kreatinin oranı kullanılmaktadır. İdrarla atılan kalsiyum normalde günlük 4mg/kg'ı geçmemelidir. Kadınlarda günlük 250 mg, erkeklerde ise 300 mg üzeri kalsiyum diyetle ilgili olarak değişmekle beraber genellikle patolojik kabul edilir. Kalsiyum/kreatinin oranı ise 0,30'dan az olmalıdır. Primer osteoporozda idrar kalsiyum değerleri genellikle normal sınırlardadır. Ancak immobilizasyon, hipertiroidi, hiperparatiroidi, kortikosteroid tedavisi gibi sekonder osteoporozda değerler değişmektedir. 24 saatlik idrar kalsiyum atılımı normal, açlık idrar kalsiyum atılımı yüksek ise kemik rezorbsiyonundaki artış düşünülmelidir. Her ikisinin de normalden fazla olması ise ya masif artmış kemik yıkımını ya da barsak absorpsiyonundaki artışı düşündürür (sarkoidoz, vitamin D toksisitesi, hiperkalsiürik nefrolitiazis gibi). 24 saatlik idrarda kalsiyum atılımı, sabah idrarında kalsiyum/kreatinin oranlarının saptanması kemik yıkımının artışında kullanılan yararlı ve ucuz yöntemlerdir ancak duyarlı değildir (76).

Serum Kalsiyum ve Fosfor Düzeyleri

Serumda kalsiyum % 40'ı proteine bağlı, % 48'i iyonize ve %12'si kompleks olarak bulunur. Klinik değerlendirmede genelde total kalsiyum miktarı kullanılır. Normal total serum konsantrasyonu yaklaşık 8,6 -10,6 mg/dl dir. Bu konsantrasyon erkekte ilerleyen yaşla birlikte azalırken, kadında yaşla ilgili bir değişim görülmemiştir. Primer osteoporozlu hastalarda serum kalsiyum ve fosfat düzeyleri normal iken sekonder osteoporozda değişir (77).

Serum Parathormon Düzeyi

Parathormon böbrekte kalsiyumun tübüler reabsorbsiyonunu artırırken fosfatın reabsorbsiyonunu baskılar ve aynı zamanda kalsitriol yapımından sorumlu olan alfa-1 hidroksilaz enzimini uyarır. Osteoporotik kadınlarda PTH düzeyleri normal, düşük veya yüksek olabilir. Kırıkları olan postmenopozal kadınlarda PTH düzeylerinin normal yaşlılarına göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Östrojen yetersizliği, kemiği PTH'na daha duyarlı kılmaktadır. Östrojen yetersizliğine bağlı OP'de PTH düzeyi normaldir. Serum kalsiyum ve PTH düzeyi yüksek olan osteoporotik hastalar primer hiperparatiroidi yönünden araştırılmalıdır (78, 79).

Osteoporozda Markerlar

Osteoporozda kırık riski tahmininde en sık kullanılan yöntem olan DEXA bize kemiğin statik durumu hakkında bilgi vermektedir. KMY ölçümünden bağımsız olarak kemik turnover markerleri bize iskelet durumu hakkında dinamik bilgi sağlamaktadır (80).

Sağlıklı kemikte yapım ve yıkım süreçleri dengededir ve bu denge postmenopozal dönemde yıkım lehine bozulmakta ve kemik kaybı artmaktadır. Yapım ve yıkım döngüsü primer olarak osteoblastlar tarafından başlatılan bir uyarı ile gerçekleşir. Sistemik ve lokal faktörler osteoblastları uyarır ve osteoblastların uyarısı ile osteoklast matürasyonu gerçekleşir. Matür osteoklastlar rezorpsiyonu gerçekleştirdikten 2-3 hafta kadar kısa bir süre sonra apoptozis gerçekleşir ve rezorpsiyon alanına osteoblastlar yerleşip yeni matriks sentezler ve bu remodeling

süreci aylar sürer. Daha sonra ilk 6 ayda hızlı daha sonra yıllar süren matriks mineralizasyonu başlar, osteoblastlar osteositlere dönüşür. Mekanik faktörlerin etkisiyle birlikte yeni kemik şekillenir (81, 82)

Bu dinamik döngü içinde kan veya idrardan belirlenebilecek kemik turnover markerleri oluşmaktadır ve KMY ile birlikte kullanıldıklarında döngü hızını belirlemede ve verilen tedaviye yanıtı izlemede önem taşımaktadır. Noninvaziv, tekrarlanabilir, ucuz olmaları, kemik metabolizmasındaki kısa dönem değişikliklerinin takip edilmesi, patogenezin belirlenebilmesi, erken dönemde tedaviye başlanabilmesi, antirezorbtif tedaviye cevabın erken belirlenmesi, kemik mineral yoğunluğu ile beraber kemik potansiyel kaybını ölçmede daha iyi bir risk tayin yöntemi olması avantajlarıdır. Teknik kısıtlılıklar, diürenal varyasyon dezavantajlarıdır. Kemik markerları ile KMY ölçümü arasındaki ilişkinin yaşla birlikte arttığı, özellikle 30 yıldan uzun süredir menapozu olan yaşlı kadınlarda bu ilişkinin belirginleştiği vurgulanmaktadır (6, 83-85)

Tablo 11. Kemik yapım ve yıkım markerları

Yapım	Yıkım
<p><i>Serum</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Kemik alkalin fosfataz (BAP) - Prokollajen Tip I Propeptidleri - Tip I kollajen C terminal peptidleri (PICP) - Tip I kollajen N terminal peptidleri (PINP) - Osteokalsin 	<p><i>Serum</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Çapraz bağlı N telopeptidleri (NTX) - Serum tartarat dirençli asit fosfataz (TRACP) <p><i>İdrar</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Tip I kollajen C telopeptidleri (CTX) - Çapraz bağlı N telopeptidleri (NTX) - Deoksipridinolin - Pridinolin - Hidroksipridinolin

Kemik Yapım Markerları

Kemiğe spesifik alkalen fosfataz (BAP)

Alkalen fosfataz monofosfat ester gruplarının hidrolizini sağlayan bir enzimdir ve izoenzimleri kodlayan 4 gen mevcuttur. Kemik, karaciğer, barsak, böbrek ve plasenta gibi pek çok organ ve dokudan kaynaklanır. Bu nedenle osteoporoz teşhis ve tedavisinde duyarlı ve spesifik bir test değildir. Serumdaki ALP'nin %95'i kemik ve karaciğer kaynaklıdır. Kemik izoformu olan BAP osteoblastlar tarafından sentezlenerek inorganik ve kalsiyum ATPaz olarak veya kalsiyum bağlayıcı protein gibi görev yapan mineral kristalizasyonunu inhibe eden yıkıcı pirofosfat, fosfor lokal konsantrasyonlarını artırarak etki eder. BAP serum düzeyleri yaş ile birlikte artış göstermektedir. Serum yarı ömrü uzun (2 gün), diüurnal değişikliklerden etkilenmez. Böbrek fonksiyonlarından etkilenmediği için bozulmuş renal fonksiyonu olan hastalarda kemik oluşumunu değerlendirmede daha güvenilir bir yöntemdir. Menopoz, Paget hastalığı, primer hiperparatiroidizm ve kronik renal yetmezliği olan hastalarda serum BAP düzeylerinde artış görülür. Karaciğer izoformu ile çapraz reaksiyon görülebilir (%15) (86, 87).

Osteokalsin (OC)

Kalsiyum bağlayıcı özellikte gama karboksi glutamik asit rezüdüleri taşıyan 49 aminoasitten oluşan 5800 kDa molekül ağırlığında nonkollajen küçük bir proteindir ve osteoblast ile odontoblastların bir ürünüdür. Kemikte kollajen olmayan proteinin çoğunluğunu oluşturur (86, 88). Osteoid sentezi sırasında osteoblastlardan salınmakta ve kemik remodeling sürecinde negatif feedback sağlayarak osteoid mineralizasyonunu etkilediği düşünülmektedir. OC'nin çoğu, hidroksiapatite bağlanarak kemik matriksinin içine girer. Küçük bir kısım ise, dolaşıma salınır. Gençlerde % 90'ı, erişkinde ise % 70'i matrikse bağlıdır. Kemik döngüsünün arttığı durumlarda, puberte, primer hiperparatroidi, hipertroidi, renal osteodistrofi, tedavi edilmemiş osteomalazi ve metastatik kemik hastalıklarında serum düzeyi artar. Hipoparatiroidi, hipotroidi, Cushing sendromu, Multiple Myelom ve malign hiperkalsemi gibi glukokortikoidle tedavi edilen hastalıklarda ve estrogen kullanımında OC düzeyi düşer (89,90).Dolaşımdaki yarı ömrü 5 dakikadır ve BAP

ile Tip I kollajene göre osteoblast aktivitesini daha geç yansıtan bir markerdir (86). Serumda OC düzeyleri diüurnal değişiklik gösterir. Seviyeleri sabah 4 civarında pik yapar, besin alımından etkilenmez. OC böbrekten temizlendiği için, renal yetmezlikte serum düzeylerinde artış olur (86).

Osteoblastlar tarafından OC'nin sentezi, γ -karboksile glutamik asit (Gla) kalıntısının oluşumu için vitamin K'yı ve üretimin uyarılması için vitamin D3'u gerektirir. Kalsiyum ve hidroksiapatit için yüksek affiniteyi sağlar. Serum osteokalsin düzeyleri, yaşla beraber belirgin olarak artmakta, fakat K vitamini tedavisi ile normal düzeylere getirilebilmektedir Düzeyleri kalsitriol ve K vitaminine bağımlıdır. Serum osteokalsin artışı ile femur kırığı arasında pozitif korelasyon vardır (91- 93).

Prokollajen Tip I Propeptidleri (PICP; PINP)

Kemiğin organik matriksinin yaklaşık olarak % 90'ını Tip I kollajen oluşturur. Kollajen osteoblastlardan sentezlendikten sonra ekstraselüler alana prokollajen olarak salınır ve amino ve karboksi terminal uçlarında ayrılma olarak Tip I kollajen N terminal (PINP) ve C terminal (PICP) propeptidler oluşur. PICP karaciğerin endotelial hücrelerince dolaşımdan temizlenir. PICP, deri, tendon ve dişler gibi diğer dokularda da değişen miktarlarda oluşumu nedeniyle kemik yapımını gösteren spesifik bir belirleyici değildir. Menopoz, serum PICP seviyelerinde % 20 artışa neden olur. Ancak bu değerler dansitometri ile yapılan kemik kaybı ölçümleri ile korelasyon göstermemektedir. Bu peptidlerin ölçümlerinin en büyük avantajı tip I kollajen sentezine spesifik göstergeler olmasıdır. Bu nedenle 1,25 D3 vitamini tedavisi veya yatak istirahati gibi osteokalsin düzeylerinde yalancı artış olan durumlarda kemik yapımını görmek için kullanılabilir. Hiperparatroidi, Paget hastalığı ve normal adolesansda artar. Osteogenez imperfektada azalır (94,95). PICP 6-8 dakikada hızla yıkılır ve kollajen ile serum PICP oranı 1:1 dir. Serum PICP oranları ile kemik histomorfometrisi ve tüm vücut kalsiyum kinetik indeksleri uyumludur. PINP diüurnal stabilitesi nedeniyle daha avantajlıdır ve yapılan çalışmalarda tedavi takiplerinde %80'e varan azalmalar göstermiştir (84, 86).

Kemik Yıkım Belirteçleri

Serum Tartarat Dirençli Asit Fosfataz (TRAP)

Asit fosfataz primer olarak kemik, prostat, trombosit, eritrosit ve dalak olmak üzere birçok dokuda bulunur ve en az 6 tipi vardır. Osteoklastlarda 2 formu saptanmıştır: tartarat rezistan ve tartarat sensitif formlar. TRAP kemik rezorpsiyonu sırasında salınır, makrofaj gibi başka hücrelerde de az miktarda bulunur. Postmenopozal kadınlarda ve kemik turnoverinin arttığı diğer durumlarda serum TRAP seviyesi yükselir. Diğer kemik yıkım belirleyicileri kadar hassas değildir (84).

Tip I Kollajen N ve C-Telopeptid Yıkım Ürünleri (NTX-1, CTX-1)

Kemik yıkımı sırasında çapraz bağların yalnızca % 40'ı serbest pridinolin çapraz bağları, % 60'ı peptite bağlı çapraz bağlar halindedir. Tip I kollajenin biri amino diğeri karboksi terminalinde olmak üzere iki adet çapraz bağ sentez bölgesi vardır. Tip I kollajen telopeptidlerinin idrardaki ölçümü ELISA yöntemi ile yapılır. Bu yöntemle, yapılan çalışmalarda telopeptidlerin kemik yıkımı için sensitif ve spesifik markerlar olduğu görülmektedir (90). NTX ölçüm referans aralıkları yaş ve cinsiyete göre değişmektedir. İdrar kreatinin oranından da etkilenebilmektedir. Tüm bu dezavantajlarına rağmen NTX postmenopozal kadınlarda kırık riskinde anlamlı bir belirleyicidir. Besin alımından az etkilenir ancak diürenal değişiklikler önemlidir. Karaciğer fonksiyonlarından da etkilenmektedir (84).

CTX, tip I kollajenin iki alfa zincirinin C terminali peptidlerinin diğer kollajen molekülünün gerek alfa1 gerek alfa α 2 zincirinin helikal bölgesine çapraz bağlanmasıyla meydana gelirler. Geliştirilen immun tekniklerle α -CTX (non-izomerize form) ve β -CTX (izomerize form) ölçülebilir. α -CTX, CTX nativ sekansıdır, β -CTX Tip I kollajen matürasyonunu yansıtır. Her iki formun eş zamanlı ölçümü ile α -CTX/ β -CTX oranı kemik döngüsünün bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (86).

Üriner Pridinolin (PYD) ve Deoksiptridinolin (DPD) Düzeyleri

Kollajende bulunan, ekstraselüler matriksteki kollajeni stabilize eden, indirgenemeyen çapraz bağlar bulunmaktadır ve iki ana çapraz bağ molekülü mevcuttur: PYD ve DPD. Çapraz bağlar ekstraselüler olarak kollajenin matrikse depozisyonu sırasında meydana gelir ve sadece kemik yıkımı veya kollajen yıkımı sırasında salınırlar. PYD, esas olarak artiküler kartilajda olmak üzere bağ dokularında bulunurken; DPD sadece kemik ve dentin, aorta ve ligamanlarda bulunur ve kemik kollajenindeki çapraz bağların % 21'ini oluşturur. İnsanda Pyr/D-Pyr oranı 2/3'tür. Kemik matriksin osteoklastlar tarafından yıkımıyla salınırlar. Her ikisi de henüz salınmış kollajen moleküllerinin posttranslasyonel modifikasyonu ile oluştuğundan ve ekstraselüler matriks ile birleştiğinden kollajen sentezinde tekrar kullanılmazlar. Dolayısıyla sadece matür kollajen yıkımını yansıtırlar, yeni sentezlenen kollajen yıkımını göstermezler (84, 96, 97).

PYD ve DPD vücutta metabolize edilmezler. Yaklaşık % 40'ı serbest olarak, % 50'si ise peptide bağlı olarak idrarla atılır. Belirgin diurnal değişkenlikleri vardır; idrarla atılım geceleri yükselir ve gün içinde düşüş gözlenir. Ölçümler için, HPLC ve immunokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. İdrarda kollajen çapraz bağların atılımı OP'de ve kemik rezorpsiyonunun arttığı durumlarda yükselmektedir

İdrar Hidroksiprolin (OHP) Düzeyleri

Hidroksiprolin kollajenin aminoasit içeriğinin %13-14'ünü yansıtır, kollajen yıkımı ile serbestleşerek idrara geçer. Dolaşıma gecen OHP'nin yaklaşık % 85-90'i karaciğerde metabolize olur. İdrarla atılan % 10-15'lik OHP'nin yaklaşık % 90'ı küçük peptidler halinde, % 1'i serbest şekildedir. 24 saatlik idrar veya sabah idrarında, kalorimetrik yöntemlerle veya yüksek performanslı likid kromatografisi (HPLC) yöntemi ile ölçülür. Kemik rezorpsiyonu ile korelasyonu zayıf olduğundan klinik kullanımda yeri azalmıştır. (84)

İdrarda Hidroksilizin Düzeyi

Hidroksilizin, kollajen ve kollajen benzeri peptidlerde bulunan bir diğer aminoasittir, ancak diğer aminoasitler gibi yıkıldıktan sonra kollajen biyosentezinde yeniden

kullanılmaz. Hidroksilizin iki glikolize formda bulunur: glukozilgalaktozil hidroksilizin (GGH) ve kollajen için spesifik olan galaktozil hidroksilizin (GH). Her iki form da kollajen yıkımı sırasında dolaşıma karışır ve idrarda HPLC tekniği ile ölçülebilir. Kemik ve ciltte Tip I kollajendeki oranları değişkendir. Kemikte GH/GGH oranı 7:1 iken ciltte 1:2 dir GH, OHP'ye göre kollajen metabolizmasının daha spesifik markeridir. Hidroksilizin avantajı, glikolize formların metabolize olmaması, tamamen değişmeden idrarla atılması ve diyet bileşenlerinden etkilenmemesidir (84).

2.3. Genetik Polimorfizm

Osteoporoz, dünya genelinde 50 yaş üstü her 3 kadından birini ve her 8 erkekten birini etkileyen en sık görülen metabolik hastalıktır (98). Kemik dansitometrisi ölçümü ile KMY ölçümü günümüzde kırık riskini belirlemede en iyi ve en sık kullanılan yöntemdir. Yaş cinsiyet, diyet, fiziksel aktivite düzeyi, ilaçlar ve menopoz durumu gibi birçok faktör osteoporoz gelişiminde etkilidir. İkiz çalışmalarında KMY'nun genetik kalıtım oranı ikizlerde %60-90, ebeveyn ve çocukları arasında %45-70 olarak bulunmuştur. Genel olarak KMY genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir (99).

2.3.1. DNA

Gen kuşaklar arasında genetik bilgi akışının sağlayan protein sentezi için gerekli kodu içeren bazı RNA virüsleri hariç daima DNA molekülleridir. Gen analizleri için elde edilmesi ve tetkik edilmesi diğer dokulara göre daha kolay olan kan iyi bir örnektir. Kanda; çekirdeği dolayısıyla kromozomları ve DNA'sı olan lökositlerden analizler yapılmaktadır (100).

DNA molekülü polimerik bir nükleik asit makromolekölüdür: beş karbonlu bir şeker (deoksiriboz), fosfat grubu ve azotca zengin purin (A: adenin, G:guanin)ve primidin (T: Timin, C:Sitozin) bazlarından oluşur. DNA molekülleri iki zincirin birbiri eksenini etrafında birbirlerine antiparalel olarak sarılması ile meydana gelen çift sarmal yapıdadır. Bu yapıya “double helix” yapısı denir. DNA'nın, hücre çekirdeğinin

içerisindeki paketlenmesinin ilk basamağı yaklaşık 146 baz çifti uzunluğundaki DNA zincirinin histon oktameri etrafına sarılması ile nükleozom oluşumudur. Nükleozomlar kromatinin tekrarlayan alt birimleridir. DNA molekülünün lizin ve arjininden zengin bazik histon proteinleri ile bağlanması sonucunda kromatin yapısı oluşur (101,102).

Genetik bilginin akışı DNA → RNA → Protein şeklinde gerçekleşir. Bu akış santral doğma olarak bilinir ve retroviruslar hariç tüm canlılar için aynı mekanizma geçerlidir. Genetik bilgi DNA zinciri boyunca yer alan bazların diziliminde saklıdır. Buna genetik kod denir. DNA zincirinde ardarda gelen üç nükleotid bir kod oluşturur ve bu kod, proteindeki aminoasit dizilerini belirler. DNA'nın yapısında dört nükleotidin yer alması ve bunlarda yan yana gelen üç tanesinin bir kod oluşturmasından dolayı, 4'ün 3'lü kombinasyonuna göre 64 farklı kodon genetik kodu oluşturmaktadır. İnsan genom projesi ile genomumuzun organizasyonunun tahmin edilenden daha çok karmaşık olduğu gözlenmiştir. Sahip olduğumuz DNA'nın aslında %10'nundan daha az bir kısmı proteine kodlamaktadır. Genomumuzun toplam uzunluğunun dörtte üç kadarı tek kopya DNA'dan oluşmaktadır (103).

Kromozom

İlk defa 1840 yılında botanikçi Hofmeister tarafından Tradescantia bitkisinin polen hücrelerinde görülmüş ve 1888 yılında Waldeyer tarafından da kromozom adı verilmiştir. Hücre çekirdeğinin içinde genler ve diğer DNA parçalarının ve proteinin bir arada olduğu genom parçacıkları kromozomlardır. İnsanlarda 46 kromozom bulunmaktadır (102).

Genom ve genler

Bir organizmanın DNA'sında saklanan genetik bilgi, o organizmanın genomunu oluşturur. Bir haploid memeli genomu 3×10^9 nükleotid çiftinden oluşmaktadır. Bu genom 24 farklı kromozom halinde hücrenin çekirdeğinde bulunmaktadır. 23 çift kromozomdan 22 tanesi otozom kromozomları, 2 tanesi ise (X ve Y) eşey kromozomlarını oluşturmaktadır (103,105). Aminoasitler proteinleri oluşturmaktadır ve

aminoasitlerin dizilimini belirleyen genlerdir. Bütün hücrelerimizde aynı genler var ancak her hücrede her gen aktif değildir.

Tüm yaşayan varlıkların DNA'sının %99'u aynıdır. Özellikleri belirleyen geri kalan %1 DNA'dan ibarettir (106). Çeşitlilik DNA zincirindeki küçük farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bazı DNA sekanslarındaki farklılıklar insan fenotipini etkilemekte bazıları ise direkt hastalığa neden olmaktadır. Bu iki uç arasında anatomik, fizyolojik, tedaviye cevap, ilaçlara karşı yan etki, infeksiyonlara yatkınlık, kansere yatkınlık ve kişilik özellikleri gibi genetik farklılıklar yer alır.

Bir genin özgün bir kromozom bölgesinde (lokus) veya DNA dizisinin birkaç alternatif formundan her birine "allel" denir. İnsanlar her otozomal lokusunda biri anneden diğeri babadan gelen iki allel bulundurur. Farklı genom lokuslarındaki allellerde çok çeşitli mutasyonlar bulunmaktadır. Bu mutasyonlar toplumda normalin varyasyonundan kalıtsal hastalıklara kadar uzanmaktadır. Günümüzdeki rutin moleküler teknikler ile birçok genetik hastalıktaki mutasyonlar kolaylıkla belirlenebilmektedir. Toplumdaki farklı mutasyonların tanımlanması ile ailelerin genetik hastalıklar açısından taranması ve geniş popülasyonların risklerinin belirlenmesi mümkün olabilmektedir (107,108)

Vücudumuzda oluşabilecek DNA bozukluklarını bulmak ve düzeltmek için çok iyi ayarlanmış enzim sistemleri bulunmakla beraber, yaşlandıkça veya stres altında arttıkça bu sistemlerin çalışması yavaşlar. Vücutta oluşan bu DNA bozuklukları eğer proteini kodlamayan bölgelerde ise varlıkları bile anlaşılmaz ama eğer proteinlerin yapımını veya fonksiyonlarını bozarsa birçok genetik hastalıklara sebep olabilir (107, 109).

Hücre bölünürken genetik bilginin bölünmesi üç basamaktan oluşur (108,110):

- Replikasyon: Genetik bilgiyi taşıyan çift zincirli DNA kopyalanarak dört zincir oluşturur.
- Transkripsiyon: DNA'daki bilgi RNA'ya aktarılır. Bilgi taşıyan RNA'ya mesajcı RNA (mRNA) adı verilir.

- Translasyon: mRNA'daki baz sekansı üç bazlık kodonlar halinde amino asitleri belirler. Bu protein sentezi ribozomlarda oluşur.

2.3.2. Genetik

Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçeneklerin *polimorfizm* denir ve toplumda mutasyonlardan daha sık rastlanır. İnsan genomunda en sık rastlanan polimorfizm tipi tek nükleotid polimorfizmleridir (SNP). Genetik polimorfizmler bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkları belirlememizi sağlar. Bazı gen polimorfizmleri (alleller) bir hastalık riskini artırırken, bazıları azaltabilmekte (koruyucu alel), bazı polimorfik aleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir (111).

Popülasyonda genlerin dağılımı

Popülasyon genetiği bir popülasyondaki farklı genotiplerin frekansları ile ilgilenir. Allel frekansı kavramı, direkt olarak bireysel genotiplerin frekansı değil, tamamen popülasyondaki allel frekansını tamamlar. A ve a şeklindeki iki olası allele sahip bir gen lokusu için yegâne olası genotipler AA, Aa veya aa'dır. İki allelin birlikte frekansı (A'nın frekansı p ve a'nın frekansı q) %100 (1.0) olmalıdır. Eğer iki allel aynı derecede sık ise (her biri 0.5) A alleli için $p=0.5$ ve a alleli içinde $q=0.5$ frekansına sahiptirler, yani $p+q=1$ dir. Bir popülasyonda iki allelin sıklık dağılımı basit bir binominal ilişkisi gösterir: $(p+q)^2=1$. buna göre popülasyondaki genotip dağılımı $p^2+2pq+q^2=1$ 'e uyar. p^2 sembol genotip frekansını, $2pq$ Aa heterozigotların frekansını ve q^2 'de homozigot aa fekansını belirler. Tablo 12 bir popülasyondaki allel dağılımı ve frekanslarını göstermektedir. Bir allelin sıklığı bilindiği takdirde genotip'inin popülasyondaki sıklığı saptanabilir (112).

Tablo 12. Genotipin popülasyonda sıklığının hesaplanması

	A(p)	a(q)
A(p)	AA(p^2)	Aa(pxq)
a(q)	Aa(pxq)	aa(q^2)

2.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün milyonlarca, hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir. DNA'nin iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon); daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (hibridizasyonu); sonra zincirin uzamasını (polimerizasyonu) (çift iplikçikli DNA'ların sentezi) ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. Bu üç adım (denatürasyon/primer bağlanması/DNA sentezi) bir PCR siklusunu oluşturur. Her adım farklı ısılarda gerçekleştirilir. (Sırasıyla 94°C-98°C; 37°C-65°C; 72°C). PCR tekniğinde, tek veya çift iplikçikli DNA RNA'ya hedef olarak kullanılabilir. Bu teknikle bir DNA hedefini 106-1012 arasında çoğaltmak mümkündür. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak; bu iki primer ile sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamaktadır (113).

PCR Temel Bileşenleri

1. Çoğaltılacak DNA bölgesini içeren DNA kalıbı,
2. Çoğaltılacak bölgenin başını ve sonunu belirleyen iki primer,
3. Çoğaltılacak bölgeyi kopyalayacak olan DNA polimeraz enzimi,
4. Yeni zincirin yapımında kullanılacak olan nükleotid trifosfatlar,
5. DNA polimeraz enzimi için gerekli olan kimyasal ortamı sağlayan tampon sistemi

Kullanım Alanları

1. DNA'nın dizi analizi ve DNA haritalamasında,
2. İnsan genom projesindeki araştırmalarda,
3. Genetik hastalıkların teşhisinde,
4. DNA parmak izi analizinde,
5. Adli tıp örneklerinin genetik tiplendirilmesinde,

6. Allellik dizi varyasyonlarının gösterilebilmesi ile doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesinde,
7. Tarımda (tohum saflığının belirlenmesi),
8. Sistematik ve evrim çalışmalarında (doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı, türler arasındaki polimorfizmin belirlenmesinde),
9. Klonlama deneylerinde,
10. Mutagenез çalışmalarında,
11. Fosil DNA çalışmalarında,
12. Gen ifadelerinin karşılaştırılmasında kullanılmaktadır.

2.3.4. Genetik ve Osteoporoz

Doruk kemik kütlesi % 50-85 genetik kontrol altındadır ve ikiz çalışmalarında diyet, cinsiyet, ırk, egzersiz gibi faktörlere ek olarak genetik faktörlerin de DKK oluşumunda rol aldığı gösterilmiştir (114,115).

Tablo 13. DKK oluşumunda rol oynayan aday genler. (114)

-
- Vitamin D reseptör geni (VDR)
 - Tip I kollajen alfa 1 geni
 - GH-IGF aksisi
 - Estrojen reseptör geni
 - IL-1, IL-6
 - CaSR (kalsiyuma duyarlı reseptör) geni
 - Apolipoprotein E allelleri
 - LRP5 geni
-

Son yıllarda çok sayıda gen ile osteoporoz ve osteoporotik kırık ilişkisi araştırılmıştır. KMY ve osteoporotik kırık ilişkisi vitamin D reseptör, estrojen reseptör, COL1A1 geni, TGF-B ve birçok gende çalışılmış. Ancak yapılmış çalışmalarda tam tutarlılık gösterilememiştir. Bu durum yapılan çalışmaların örneklemelerinin küçük olması ve aday genin KMY ve kırık ilişkisini birebir gösterecek derecede güçlü olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

COL1A1, Sp1 bağlayıcı bölge polimorfizmleri ilk olarak 1996 yılında tanımlanmış ve sonrasında osteoporoz için birçok kez çalışılmıştır. COL1A1 kemik ekstraselüler matriksinin ana bileşeni olan tip I kollajenin alfa 1 zincirini kodlar. Bu gendeki mutasyonlar osteogenez imperfekta hastalığına neden olur. COL1A1 geni aynı zamanda osteoporozda en çok araştırılan aday genlerdendir. En çok çalışılan intron 1 bölgesindeki SP1 bağlanma bölgesini etkileyen +1245G/T polimorfizmidir. T allelinin SP1 bölgesine yüksek afinitesinden dolayı, COL1A1 mRNA ve proteinde yapımındaki artış alfa 1 ve 2 zincirleri arasında dengesizliğe ve sonuçta kemik mineralizasyonunu etkileyerek KMY’da ve kemik gücünde azalmaya neden olur. Bir başka deyişle kemiğin biyomekanik özellikleri değişir. COL1A1 alleli ile KMY ve kırık arasında bazı çalışmalarda ilişki tespit edilmişken bazı çalışmalarda tespit edilememiştir (116,117).

VDR: Osteoporozda ilk çalışılan genidir ve yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur (118). VDR promoter bölgesi ve 3’-untranslated region bölge haplotipleri KMY’undan bağımsız olarak kırık ile ilişkili bulunmuştur (119). Cdx2 A-alwl polimorfizmi varlığında vertebral kırık riskinde %9 azalma olmaktadır (120). 65 yaş ve üstü 6,698 Amerikalı kadında yapılan bir çalışmada, FokI polymorphism C/C genotipi distal radius daha düşük KMY değerleri, non-vertebral düşük enerjili travma kırıkları ile ilişkili bulunmuştur ve T/T genotipi ile karşılaştırıldığında el bilek fraktür riski %33 daha fazladır (121).

Osteokalsin: Kemik ve enerji metabolizması arasındaki ilişkiyi sağlayan osteokalsin gen polimorfizmi üzerine yapılan çalışmalarda, KMY, BMI ve tüm vücut yağ kitlesi arasında ilişki saptanmamış ancak polimorfizmler ile serum osteokalsin ve kırık ilişkisi anlamlı bulunmuştur. Gelecekte osteoporoz riski olan kadınların belirlenmesinde osteokalsin lokusunun genotiplendirmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir (122). Östrojen kemik oluşumu ve osteoporoz gelişiminde önemli role sahiptir. Postmenopozal kadınlarda östrojen replasman tedavisinin osteoporozu ve sekonder osteoporotik kırıkları önlediği bilinmektedir.

ESR1: COL1A1ın x alel taşıyıcılarından daha yüksek KMY değerleri ve daha düşük kırık riskine sahip oldukları anlaşılmıştır. ESR1 haplotipinin kemik kalitesi ile ilişkisi

gösterilmiştir. 2 SNP'nin yaşlı Çinli kadınlarda kalça kırığı ile ilişkisi tespit edilmiştir (117).

ESR2: Bugüne kadar ESR2 geni üzerinde yapılan çalışmaların çoğunda, KMY ve kırık ile arasında ilişki tespit edilmiştir. ESR2 genin 6 SNP'sinde postmenopozal kadınlarda ESR ve IGF1 ile birlikte veya tek başına kırık üzerine etkisi saptanmıştır (117).

Tablo 14. Osteoporozla ilişkisi araştırılan genler (117).

Kanıtlanmış olan genler	Umut vadeden genler	Varsayılan genler
VDR	ESRRG	DKK2
ESR1	CYP19A1	WNT3A
ESR2	CYP17A1	APC
LRP5	UGT2B17	BMP4
LRP4	FZD1	BMP7
SOST	SFRP1	BMPR1B
GRP177	SFRP4	SMAD6
RANKL/RANK/OPG yolağı	WNT10B	GHRH
OPG	CTNNB1	DMP1
RANK	FOXC2	FLT1
RANKL	TGFBR3	HOXA
COL1A1	SPTBN1	IGFBP2
SPP1	CNR2	NFATC1
ITGA1	PTH	PTN
SP7	ENPP1	RHOA
SOX6	HMGA2	LTBP2
	FLNB	RERE
	CLDN14	G1P2
	PBX1	SSU72
	IL21R	CCDC27
	MEF2C	MHC regionVPS13B
	STARD3NL	EphrinA-EphR yolağında
	FLJ42280	21 gen
	DCDC5	
	DCDC1	
	CRHR1	
	MEPE	
	HDAC5	
	C17orf53	
	PLCL1	
	RTP3	
	STAT1	

3. GEREÇLER ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Osteoporoz Polikliniğine başvuran tek merkezde DEXA yöntemi ile KMY ölçümü yapılan postmenopozal kadınlar arasında, Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre primer osteoporoz tanısı konulan 113 hasta ve primer osteoporoz tanısı konulmayan 57 sağlıklı postmenopozal kadın kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Postmenopozal dönemde olup kemik metabolizmasını etkileyebilecek ilaç alan hastalar (örn. oral kontraseptif, bisfosfonat, PTH, kortikosteroid, sitostatik ilaçlar, 6 aydan daha uzun süre bisfosfonat kullanımı gibi), kemik metabolizmasını etkileyebilecek hastalığı olanlar (hipofiz bezi hst, hiperparatiroidizm, tiroid hormonu bozuklukları, neoplazi, immobilizasyon, anoreksi, DM), kronik inflamatuvar hastalığı olan hastalar, sigara ve alkol kullananlar çalışmaya dahil edilmedi.

Hasta ve kontrol grubundaki kadınların yaş, boy, kilo, VKİ, menopoz yaşı, menopoz süresi, HRT kullanımı, HRT kullanım süresi, günlük kalsiyum alımı, fiziksel aktivite skoru, kahve, çay kullanımı ve beslenme alışkanlıkları (süt, yoğurt, peynir, yeşil sebze, tüketimi) kaydedildi. DXA ölçümleri aynı merkezde (AÜTF Hastanesi Nükleer Tıp Merkezi) yapılmış olan hastalar çalışmaya alındı. Hasta grubundaki tüm kadınların lateral torakal ve lomber grafileri çekilerek vertebral kırık araştırıldı. Şüpheye düşüldüğünde ilgili düzeyin bilgisayarlı tomografisi çekildi. Ayrıca vertebra dışı kırıklar (kalça, kol, diğer) sorgulandı.

Arastırma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı. Tüm katılımcılar yazılı onam formlarını imzaladılar.

Klinik Ölçümler

- **Menopoz tanımı:** En az ay 6 süreyle menstrüasyon görmeyen kadınlar menopozda kabul edildi.

- **Kemik mineral ölçümü:** DXA (Hologic, Discovery A (s/n 81461) yöntemi ile ön arka lomber vertebra (L1-4) ve femur boynu ölçümü yapıldı. Değerler gram/cm² olarak hesaplandı.

- **Kırık değerlendirilmesi:** Kırık değerlendirmesi için semikantitatif bir yöntem olan Genant Radyolojik Osteoporoz Skorum Sistemi kullanıldı. Hastaların torakal ve lomber lateral grafileri incelendi. Kama vertebra saptandığında, vertebra anterior yüksekliğinde %20 veya daha fazla azalma, bikonkav vertebra saptandığında orta yükseklikte %20 veya daha fazla azalma, kompresyon saptandığında ise vertebra anterior, orta ve posterior yüksekliğinde %20 veya daha fazla azalma olması durumu *vertebral kırık* olarak değerlendirildi. Akut vertebra kırığı olan bir hastada kırık tanısını doğrulamak için direkt grafiye ek olarak MR görüntüleme yapıldı.

- **Fiziksel aktivite düzeyi:**

Hafif: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayıp, ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktivitelere katılanlar

Orta: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayan, ancak ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktiviteleri olanlar

Yüksek: Düzenli egzersiz alışkanlığı olanlar

- **Günlük kalsiyum alımı:** Günlük tüketilen süt ve yoğurda göre aşağıdaki şekilde sınıflama yapıldı.

Çok düşük: < 500 mg kalsiyum alanlar

Düşük: 500-1000 mg kalsiyum alanlar

Normal: >1000 mg kalsiyum alanlar

Bası besinlerin kalsiyum içeriği

1 kase az yağlı yoğurt:	450 mg
1 bardak süt:	250 mg
30 gr (bir kibrit kutusu kadar) az yağlı kaşar peynir :	250 mg
Beyaz peynir Kibrit Kutusu:	190 mg
Ayran 1 Su Bardağı:	285 mg

Genetik Analiz

Bu çalışma kapsamında aydınlatılmış onam formları alınarak, isimleri saklı kalmak koşulu ile birbiri ile akraba olmayan primer osteoporoz olan 113 postmenopozal kadın hasta ve 57 sağlıklı postmenopozal kadına ait periferik kandan elde edilen DNA örnekleri incelendi.

DNA İzolasyonu:

Hastalardan ve kontrol grubundan alınan kanlar Tuzla ve DNA izolasyon kiti (invitrogen) kullanılarak izole edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İlk olarak Col1A1 SNP'i için aşağıda belirtilen uygun primer çiftleri kullanılarak PCR gerçekleştirilmiştir. Her bir PCR işleminde final konsantrasyonları 100 ng DNA, 0.1µM primer çifti, 1XPCR tamponu, 200 µM her bir dNTP ve 1 U Taq polimeraz (Solisbiodyne) olacak şekilde karışım hazırlanmış ve aşağıda belirtilen koşullarda reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

Primerler		Reaksiyon koşulları
forward	5' CTG GAC TAT TTG CGG ACT TTT TGG-3'	94°C 12dk 94°C 1 dk. 64°C 1dk. } 40siklus 72°C 1dk.
reverse	5' GTC CAG CCC TCA TCC TGG CC-3'	

Şekil 2. PCR reaksiyonu

PCR işlemi bittikten sonra ürünün varlığını kontrol etmek amacıyla %2'lik agaroz jelde 120 Volt'da 20 dakika elektroforez yapılmıştır. Jel, 1XTBE [0.089M Trizma Base (Sigma, T8524), 0.089M Borik Asit (Sigma, B6768), 0.002M EDTA] içinde 0.1µg/µl Etidyum bromide (Sigma, E8751) içerecek şekilde hazırlanmıştır .

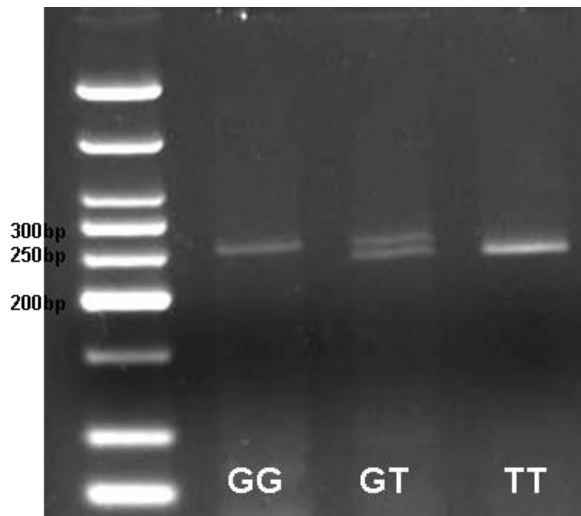
RFLP (Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi)

Her bir PCR ürünü MscI ((Fermantas #ER1211) restriksiyon enzimi ile 37 °C’de 16 saat inkübe edilmiştir. 65 °C’de 20 dakika inkübasyon ile enzim inaktivasyonu sağlanmıştır PCR ürünleri aşağıda belirtilen koşullarda kesimlenmiştir.

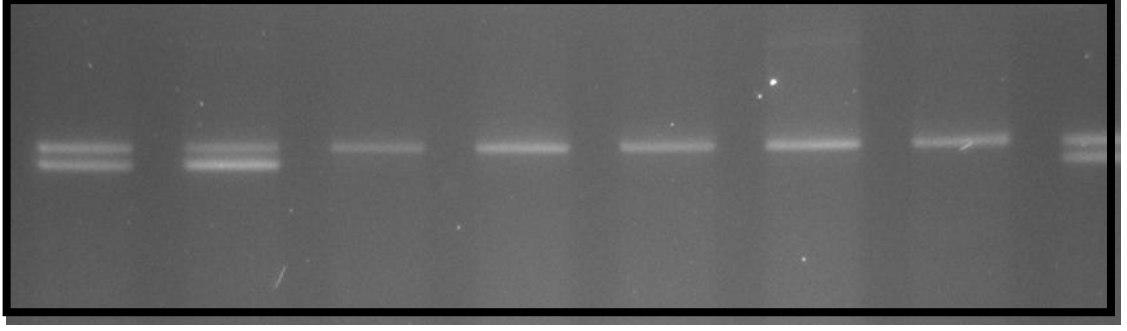
Tablo15. PCR ürünleri kesimlenmesi

PCR ürünü	10µl
Tampon R	2µl
MscI Enzim	1µl
Distile H2O	18

Fragman boylarının belirlenmesi için kesim ürünleri %4’lük agaroz jelde 90 Volt’da 40 dakika olacak şekilde, uzunlukları bilinen kontrol “marker” (Amresco, J130) eşliğinde yürütülmüştür. Jel, 1XTBE [0.089M Trizma Base (Sigma, T8524), 0.089M Borik Asit (Sigma, B6768), 0.002M EDTA] içinde 0.1µg/µl Etidyum bromide (Sigma, E8751) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Kesim ürünleri jel görüntüleme cihazında görünür hale getirilmiştir. Kesim ürünleri Homozigot yaban tip (GG) 280 bç, Heterozigot (GT) 280 ve 260 bç, Homozigot mutant (TT) 260 bç olarak değerlendirilmiştir. Şekil 31’de Col1A1 polimorfizmi araştırılan 3 örneğe ait kesim ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3. Col1A1 polimorfizmi için 3 örneğe ait agaroz jel görüntüsü ve tespit edilen genotipler. Fragman uzunlukları bç. olarak verilmiştir.



Şekil 4. Col1A1 polimorfizmi için 8 örneğe ait agaroz jel görüntüsü ve tespit edilen genotipler.

Sonuçların Değerlendirilmesi

SNP'nin alel ve genotip sıklıkları Arlequin yazılım programı kullanılarak hesaplandı

Sonuç Parametreleri

- Kemik mineral yoğunluğu (DXA) : L1-L4 ve femur boynu
- Ayarlanmış KMY (boy, kilo, BMI, menopoz yaşı ve menopoz süresine göre çoklu regresyon analizi)
- Femurda osteoporotik kırık öyküsü
- Vertebra grafisinde osteoporotik kırık varlığı
- Vertebral kırıkların tip ve derecesine göre dağılımı
- COL1A1 genotip dağılımı (GG, GT, TT)
- Hasta ve kontrol grubundaki deneklerin allel yüzde oranları (GG, GT, TT)

İstatistiksel Analiz

İncelenen parametrelerde tanımlayıcı istatistik yapılarak kategorik değişkenler için yüzde oranları, sürekli değişkenler için ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. KMY'nu değiştirebilecek klinik değişkenlerin (yaş, VKİ ve menopoz süresi) etkisinden arındırmak için kovaryasyon analizi (ANCOVA) yapılarak düzeltilmiş KMY değerleri hesaplandı. Hasta ve kontrol grubunda allel oranları arasındaki fark için (Hardy Weinberg denkleminin uygunluk) Popgene Software testi kullanıldı. Bağımsız değişkenlerin kırık riskine etkisi için lojistik regresyon analizi yapıldı. Allelere göre ayrılan gruplar arasında (GG, GT, TT) klinik parametreler açısından fark olup olmadığı Student t ve ANOVA (varyans analizi) testleri ile incelendi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 57 (%35,5) sağlıklı kadın ve 113 (%65,5) postmenopozal osteoporoz tanısı alan kadın olmak üzere toplam 170 kişi katıldı. Yaş ortalaması hasta grubunda 61.5 ± 7.7 , kontrol grubunda 55.47 ± 7.25 idi. Postmenopozal osteoporozlu kadınlarda yaş ve menopoz süresi kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha fazla bulundu ($p < 0.001$) (Tablo 16). Kilo, boy ve vücut kitle indeksi değerleri ise kontrol grubunda anlamlı oranda daha fazla bulundu ($p < 0.05$). Postmenopozal osteoporozlu kadınların %43'ünde (49 hasta) vertebral kırık tespit edildi. Çalışmaya alınan örnekleme COL1A1 gen polimorfizmi için yapılan analiz sonucunda, genotip frekansları GG %62.9 (107 hasta), GT%35.3 (60 hasta) ve TT%1.8 (3 hasta) olarak bulundu. Bulunan allel oranları Hardy-Weinberg denklemi ile uyumlu idi ($p < 0.05$). TT aleli taşıyan denek sayısı 3 olduğundan, istatistiksel analizlerin yapılabilmesi için tüm denekler, GG ve T alelini taşıyanlar (GT + TT) olmak üzere 2 gruba ayrıldı.

Tablo 16. Hasta ve kontrol grubunun demografik özelliklerinin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu (n=57)	Hasta Grubu (n=113)	P
Yaş(yıl)	$55,47 \pm 7,25$	$61,5 \pm 7,7$	0,000
Menopoz süresi (yıl)	$9,6 \pm 10,79$	$15,6 \pm 10,37$	0,000
Boy (cm)	$157,91 \pm 6,04$	$156,19 \pm 6,05$	0,080
Kilo (kg)	$75,84 \pm 10,31$	$70,10 \pm 11,5$	0,002
VKİ (kg/m ²)	$30,41 \pm 3,72$	$28,78 \pm 4,89$	0,029
Vertebral Kırık	-	49 (%43)	

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

Postmenopozal osteoporozu olup vertebral kırığı olan kadınlarda, yaş ve menopoz süresi kırık olmayanlara göre daha fazla bulundu (Tablo 17). Boy, kilo ve VKİ açısından anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 17. Hasta grubunda demografik özelliklerin kırık ile ilişkisi

	Kırık yok (n=64)	Kırık var (n=49)	P
Yaş(yıl)	59,84 ± 7,56	63,67 ± 7,57	0,009
Menopoz süresi (yıl)	12,88 ± 8,38	17,04 ± 8,38	0,010
Boy (cm)	156,92 ± 5,52	155,22 ± 6,60	0,140
Kilo (kg)	69,67 ± 11,04	70,65 ± 12,29	0,657
VKİ (kg/m ²)	28,36 ± 4,79	29,34 ± 5,01	0,295

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

Tüm denekler dikkate alındığında GG ve GT+TT genotipini taşıyan ele alındığı yaş, boy, kilo, VKİ ve menopoz süresi açısından genotipler arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

Tablo 18. Tüm deneklerde genotip ile demografik özellikler arasındaki ilişki

	GG (n=107)	GT+TT (n=63)	P
Yaş (yıl)	59,32 ± 7,99	59,76±8,33	0,731
Boy (cm)	157,22 ± 5,90	155,98±6,27	0,200
Kilo (kg)	72,84 ± 11,32	70,63±11,62	0,226
VKİ (kg/m ²)	29,48 ± 4,48	29,07±4,79	0,568
Menopoz süresi (yıl)	12,21 ± 8,53	12,71±9,19	0,734

VKİ: Vücut kütle indeksi

Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı açısından anlamlı fark tespit edilmedi (Tablo 19). Kontrol grubunda yer alan hiçbir kadında TT aleli saptanamadı.

Tablo19. Hasta ve kontrol grubunda genotiplerin dağılımı

Genotip	Kontrol Grubu (n=57)	Hasta Grubu (n=113)	P
GG	34 (% 59,6)	73 (% 64,6)	
GT	23 (% 40,4)	37 (% 32,7)	0,319
TT	0 (% 0)	3 (% 2,7)	

Hasta grubunda vertebral kırık ile polimorfizm arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 20).

Tablo 20. Vertebral kırık ile genotipler arasındaki ilişki

Genotip	Kırık Yok (n=64)	Kırık Var (n=49)	P
GG	45 (% 70,3)	28 (% 57,1)	0,306
GT	18 (% 21,8)	19 (% 38,8)	
TT	1 (% 1,6)	2 (% 4,1)	

Hasta ve kontrol grubunda, G ve T alellerinin oranları birbirine benzer bulundu ($p>0.05$) (Tablo 21).

Tablo 21. G ve T alellerinin hasta ve kontrol grubunda sayısal dağılımı

Genotip	Hasta Grubu (n=113)	Kontrol Grubu (n=57)	p
G	183 (% 81)	91 (% 79,8)	0,453
T	43 (% 19)	23 (% 20,2)	

Postmenopozal osteoporozu olup vertebral kırığı olan kadınlarda, G ve T alellerinin oranları kırık olmayan kadınlara benzer bulundu (Tablo 22).

Tablo 22. Hasta grubunda kırık ile genotip ilişkisi

Genotip	Kırık yok (n=64)	Kırık var (n=49)	p
G	199 (% 82,2)	75 (% 76,5)	0,229
T	43 (% 17,8)	23 (% 23,5)	

Lomber ve femur KMY değerleri, postmenopozal osteoporozlu kadınlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu (Tablo 23).

Tablo 23. Hasta ve kontrol grubu arasında KMY değerlerinin karşılaştırılması

KMY	Kontrol Grubu (n=57)	Hasta Grubu (n=113)	p
FNKMY (gr/cm ²)	0,88 ± 0,09	0,70 ± 0,11	0,000
LKMY (gr/cm ²)	1,06 ± 0,11	0,79 ± 0,12	0,000

FNKMY: Femur boynu KMY

VKMY: Lomber KMY

Tüm deneklerde, hasta ve kontrol gruplarında, kırık olan ve olmayan hasta grubunda, yaş, menopoz süresi ve VKİ etkisinden arındırılmış KMY değeri ile alleller arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tablo 24. Tüm deneklerde genotip ile LKMY ve düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=106)	GT+TT (n=63)	p
LKMY(gr/cm ²)	0,881 ± 0,169	0,881 ± 0,187	0,994
Düzeltilmiş LKMY(gr/cm ²)	0,879 ± 0,160	0,886 ± 0,160	0,783

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY**Tablo 25.** Tüm deneklerde genotip ile FNKMY ve düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=107)	GT+TT (n=63)	P
FNKMY	0,762 ± 0,129	0,759 ± 0,146	0,900
Düzeltilmiş FNKMY	0,760 ± 0,124	0,763 ± 0,124	0,891

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 26. Kontrol grubunda genotip ile LKMY ve düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=34)	GT+TT (n=23)	P
LKMY(gr/cm ²)	1,057 ± 0,994	1,071 ± 0,131	0,632
Düzeltilmiş LKMY(gr/cm ²)	1,063 ± 0,108	1,062 ± 0,108	0,971

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 27. Kontrol grubunda genotip ile FNKMY ve düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=107)	GT+TT (n=63)	P
FNKMY(gr/cm ²)	0,872 ± 0,0,93	0,896 ± 0,096	0,358
Düzeltilmiş FNKMY(gr/cm ²)	0,877 ± 0,092	0,899 ± 0,092	0,619

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 28. Hasta grubunda genotip ile LKMY ve düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=72)	GT+TT (n=40)	P
LKMY(gr/cm ²)	0,798 ± 0,127	0,772 ± 0,110	0,279
Düzeltilmiş LKMY(gr/cm ²)	0,797 ± 0,117	0,774 ± 0,116	0,310

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 29. Hasta grubunda genotip ile FNKMY ve düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=73)	GT+TT (n=40)	P
FNKMY(gr/cm ²)	0,711 ± 0,110	0,681 ± 0,106	0,166
Düzeltilmiş FNKMY(gr/cm ²)	0,710 ± 0,103	0,681 ± 0,103	0,154

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 30. Hasta olan ancak kırığı olmayan grupta genotip ile KMY ve düzeltilmiş KMY arasındaki ilişki (ort ± SEM)

KMY	GG (n=45)	GT+TT (n=19)	p
LKMY(gr/cm ²)	0,778 ± 0.186	0,746 ± 0.161	0,292
Düzeltilmiş LKMY(gr/cm ²)	0,777 ± 0.15	0,749 ± 0.240	0,333
FNKMY(gr/cm ²)	0,695 ± 0.155	0,644 ± 0.269	0,091
Düzeltilmiş FNKMY(gr/cm ²)	0,693 ± 0.015	0,649 ± 0.023	0,110

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 31. Kırık olan hasta grubunda genotip ile LKMY ve Düzeltilmiş LKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=27)	GT+TT (n=21)	p
LKMY(gr/cm ²)	0,831 ± 0.242	0,796 ± 0,292	0,353
Düzeltilmiş LKMY(gr/cm ²)	0,829 ± 0.025	0,799 ± 0,028	0,447

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

Tablo 32. Kırık olan hasta grubunda genotip ile FNKMY ve Düzeltilmiş FNKMY arasındaki ilişki

KMY	GG (n=28)	GT+TT (n=21)	p
FNKMY(gr/cm ²)	0,735 ± 0,219	0,713 ± 0,186	0,456
Düzeltilmiş FNKMY(gr/cm ²)	0,737 ± 0,020	0,711 ± 0,023	0,414

KMY: Kemik mineral yoğunluğu (g/cm²); LKMY: Lomber KMY; FNKMY: Femur boynu KMY

GG ve GT+TT genotiplerini taşıyan bireyler günlük kalsiyum alımı açısından birbirine benzer bulundu (Tablo 33). Aynı şekilde hasta ve kontrol grubunda, kırığı olan ve olmayan grupta günlük kalsiyum tüketimi açısından anlamlı fark bulunmadı (Tablo 34, 35).

Tablo 33. Genotip ile diyetle kalsiyum alım ilişkisi

	GG (n=107)	GT+TT (n=63)	p
< 500 mg/gün	0	3 (%4,8)	
500-1000mg/gün	102 (%96,2)	56 (%88,9)	0,062
>1000 mg/gün	4 (3,8)	4 (%6,3)	

Tablo 34. Hasta ve kontrol grubunda günlük kalsiyum alımının karşılaştırılması

	Kontrol Grubu (n=56)	Hasta Grubu (n=113)	p
< 500 mg/gün	2 (%3,6)	1 (%0,9)	
500-1000mg/gün	50 (%89,3)	108 (%95,6)	0,220
>1000 mg/gün	4 (%7,1)	4 (%3,5)	

Tablo 35. Kırık ile diyetle günlük kalsiyum alımı arasındaki ilişki

Kırık	Yok (n=64)	Var (n=49)	p
< 500 mg/gün	0 (%0)	1 (%2)	
500-1000mg/gün	61 (%95,3)	47 (%96)	0,454
>1000 mg/gün	3 (%4,7)	1 (2)	

GG ve GT+TT genotiplerini taşıyan bireyler günlük aktivite düzeyi açısından birbirine benzer bulundu (Tablo 36). Aynı şekilde hasta ve kontrol grubunda, kırığı olan ve olmayan grupta günlük kalsiyum tüketimi açısından anlamlı fark bulunmadı (Tablo 37, 38).

Tablo 36. Genotip ile aktivite düzeyi arasındaki ilişki

Aktivite düzeyi	GG (n=107)	GT+TT (n=63)	p
Düşük	0 (%0)	1 (%1,6)	0,429
Orta	100 (%94,3)	60 (%95,2)	
Yüksek	6 (%5,7)	2 (3,2)	

Hafif: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayıp, ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktivitelere katılanlar

Orta: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayan, ancak ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktiviteleri olanlar

Yüksek: Düzenli egzersiz alışkanlığı olanlar

Tablo 37. Hasta ve kontrol grubunda günlük aktivite düzeyinin karşılaştırılması

Aktivite düzeyi	Kontrol Grubu (n=57)	Hasta Grubu (n=113)	p
Düşük	0 (%0)	1 (%0,9)	0,204
Orta	54 (%96,4)	106 (%93,8)	
Yüksek	2 (%3,6)	6 (%5,3)	

Hafif: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayıp, ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktivitelere katılanlar

Orta: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayan, ancak ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktiviteleri olanlar

Yüksek: Düzenli egzersiz alışkanlığı olanlar

Tablo 38. Hasta grubunda kırık ile günlük aktivite düzeyi arasındaki ilişki

Aktivite düzeyi	Kırık yok (n=64)	Kırık var (n=49)	p
Düşük	0(%0)	1(%2)	0,813
Orta	59(%92,2)	47(%96)	
Yüksek	5(%7,8)	1(2)	

Hafif: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayıp, ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktivitelere katılanlar

Orta: Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayan, ancak ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktiviteleri olanlar

Yüksek: Düzenli egzersiz alışkanlığı olanlar

TT alleli saptanan 3 hastanın 2'sinde (%67) vertebral kırık tespit edildi. Bu hastaların T skoru değerleri ve kırık bilgisi detaylı olarak Tablo 39'da gösterilmiştir.

Tablo 39. TT allelini taşıyan demografik özellikleri

	Yaş (yıl)	Menopoz Süresi (yıl)	VKİ (kg/m²)	Kırık
Hasta 1	60	10	28,85	Yok
Hasta 2	52	15	19,98	Var
Hasta 3	71	31	22,89	Var

Tablo 40. TT allelini taşıyan hastaların T skoru değerleri

T skoru	L1	L2	L3	L4	L1-4 Toplam
Hasta 1	-3,62	-3,26	-3,32	-3,06	-3,50
Hasta 2	-3,20	-3,80	-4,50	-4,60	-4,10
Hasta 3	-2,5	-2,20	-3,01	-3,10	-2,70

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, sağlıklı ve postmenopozal osteoporozu olan Türk kadınlarda COL1A1 gen polimorfizminin sıklığı araştırılmış, sonuçta genotipler ile vertebral kırık ve kemik mineral yoğunluğu arasında ilişki tespit edilememiştir. Deneklerin allel dağılım oranları Hardy Weinberg denklemi ile uyumluluk içinde bulunmuştur.

Mann ve ark. (123), COL1A1 geninde Sp1 bağlayıcı bölgede oluşan polimorfizm ile osteoporoz arasındaki ilişkiyi şu moleküler mekanizma ile açıklamışlardır; polimorfik ‘s’ alleli Sp1 transkripsiyon faktöründe kollajen 1 alfa zincirindeki artışla sonuçlanan bir değişime neden olmaktadır. Ss heterozigot olanlarda alfa 1/2 oranı 2,3, SS olanlarda 2 olarak bulunmuştur. Bu anormal kollajen oranı osteoporoz patogeneziyle ilişkilendirilmiştir. COL1A1 geninde Sp1 transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesini etkileyen polimorfizm bugüne kadar üzerinde en çok çalışılan polimorfizmdir. COL1A1 gen polimorfizmi ile KMY ve osteoporotik kırık arasındaki ilişki İlk defa 1996 yılında Grant ve ark. (124) tarafından bildirilmiştir. Sp1 bağlayıcı bölgede oluşan polimorfizm hastalıkla ilişkili polimorfizm olmaktan öte kırığa yatkınlığı artırmaktadır (125).

2003 yılında yayınlanan ilk metaanalizde, 7849 hastanın katıldığı 26 çalışma incelenmiş ve T alleli varlığında KMY’da orta derecede azalma ancak kırık riskinde belirgin artış tespit edilmiştir (116). TT allelini taşıyanlarda G allelini taşıyanlara göre herhangi bir kırığın olma riski 1,78 kat artmış olarak bulunmuştur. 2006 yılında birkaç Avrupa ülkesinde 20786 kişi üzerinde yapılan çalışmaların metaanalizinde ise sadece T alleli için homozigot olan kişilerde, KMY ve vertebral kırık ile ilişkili bulunmuştur (126). Buna göre, TT allelini taşıyan bireylerde vertebral kırık riski KMY’dan bağımsız olarak %33 arttığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda birçok toplumla benzer oranlarda allel dağılımı olmasına rağmen genotip frekansları, vertebral kırık ve KMY değerleri arasında ilişki saptanamamıştır. KMY’nu etkileyebilecek yaş, menopoz süresi ve VKİ gibi faktörlerin etkisi arındırıldığında dahi, genotip frekansları lomber ve femur boynu KMY değerlerini

belirlemede etkisiz bulunmuştur. Diğer yandan TT genotipini taşıyan birey sayısı üç ile sınırlı olduğundan homozigot genotipin vertebral kırık ve KMY üzerine etkisi gösterilememiştir. Elde edilen sonuçlar örneklem büyüklüğünün sınırlı olması, T allelinin normalden daha az seyrek görülmesi ve çalışmamızda homozigot T allelerini taşıyan denek sayısının az olması ile açıklanabilir. Hasta ve kontrol grubunda yaş, menopoz süresi, VKİ ve kilo açısından fark bulunması sonuçları etkileyebilecek diğer bir faktördür.

Diğer yandan, COL1A1 gen polimorfizminin KMY ve kırık riskini belirlemedeki rolü her toplumda ortaya konulamamıştır. Hollanda'da 6280 hastada yapılan bir çalışmada, 1997G/T polimorfizminin KMY ve kırık üzerine etkisi tespit edilmemiştir (127). Danimarkada 462 osteoporotik hasta ve 336 sağlıklı kişide yapılan 1663delT and +1245T alleles alleleri düşük KMY ile ilişkili bulunurken, aynı ilişki Amerika'lı premenopozal kadınlarda, İrlanda'lı genç kadın ve erkeklerde, Norveçli genç erişkinlerde, Fransız genç kadınlarda ve İsveç'li kadınlarda gösterilememiştir (128-134). Bu nedenle bulduğumuz sonuçların kendi toplumumuzun genetik yapısından kaynaklanabilecek bir özellik olabileceği ihtimali gözden uzak tutulmamalıdır.

Ülkemizde COL1A1 polimorfizmine yönelik araştırmalar oldukça sınırlıdır. Şimşek ve ark. (135), sınırlı sayıda postmenopozal kadınlarda yaptıkları bir çalışmada, COL1A1 polimorfizminin düşük KMY'nu belirleyici bir faktör olduğu öne sürmüşlerdir. Ancak bu çalışmaya sadece osteopenik hastalar alınmış, kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmamış ve T allelini taşıyan bireyler gruplanarak analiz yapılmamıştır. Bu nedenle elde edilen verilerin çalışmamız verileriyle karşılaştırılması uygun değildir. Dinçel ve ark.'nın (136) yaptığı çalışmada ise 19 kalça kırığı olan hasta ve 20 kontrol çalışmaya dahil edilmiş ve polimorfizm ile kırık arasında ilişki gösterilememiştir. Bu çalışmada da örneklem büyüklüğünün küçük olması sonuçların Türk toplumuna genellenebilirliğini sınırlamaktadır.

Çalışmamızda, homozigot T allelini taşıyan denek sayısının az olması istatistiksel analize olanak vermemiştir. Bununla birlikte, postmenopozal osteoporozu olup TT alleli taşıyan üç hastanın ikisinin ileri derecede osteoporotik olması, ikisinde (% 67)

vertebral kırık tespit edilmesi, bir hastada iki vertebrada kırık olması klinik olarak dikkat çekici bir durumdur. Bu gözlemin doğrulanması için Türk toplumunu yansıtacak yeterlilikte bir örneklem üzerinde çalışılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda sonuçlara etkisi olabilecek bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; bulunan genotip frekansları Hardy Weinberg denkleğine uygun olmasına rağmen, toplam denek sayısının az olması nedeniyle homozigot T alleli taşıyan hastaların (TT) istatistiksel analize dahil edilememesidir. İkincisi; hasta ve kontrol grubunun denek sayısı, yaş, menopoz süresi ve VKİ açısından farklı olması nedeniyle istenilen homojenlikte olmamasıdır. Üçüncüsü; kalça kırığı ve distal radius kırığı olanlar da osteoporotik hasta olarak kabul edildiği halde kırık değerlendirilmesinde sadece vertebral kırığın dikkate alınmasıdır. Bunun nedeni vertebra dışı kırığı olan hasta sayısının sınırlı olması nedeniyle analizin mümkün olamamasıdır. Dördüncüsü; çalışmamızda COL1A1 gen polimorfizminin tek başına ele alınması, kırık ve KMY'nu belirleme potansiyeli olan diğer genlerle (VDR, ER1, ER2, IL-6 gibi) olan etkileşimin incelenmemiş olmasıdır. İlişkili genlerin bir arada değerlendirilmesi ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebilirdi.

Son yıllarda osteoporozu yönelik araştırmaların hedeflerinden biri de kırığa yatkınlığı belirleyecek bir genetik tarama testinin geliştirilmesidir. Zira günümüzde genetik tedavi söz konusu olmadığından, kırık açısından yüksek risk taşıyan bireyleri belirlemek tedaviye erken başlamada yardımcı olabilecektir. Bu şekilde erken belirlenen risk altındaki kişilerde yaşam değişiklikleri ve medikal tedavilerle kırıklar önlenebilir. Hatta bu testler henüz osteoporozun başlamadığı çok erken dönemlerde yapılarak daha yüksek DKK oluşturulması hedeflenebilir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda elde edilen veriler, COL1A1 gen polimorfizminin postmenopozal osteoporozlu kadınlarda vertebral kırık riskini ve kalça ile lomber kemik mineral yoğunluk düzeyini belirlemede bir rolü olmadığını göstermektedir. Bu sonuçların Türk toplumuna genellenebilmesi için, yeterli denek sayısını içeren örneklemeler üzerinde kesitsel veya prospektif popülasyon çalışmaları yapılmalıdır.

ÖZET

Postmenopozal Kadınlarda Osteoporoz ve Kırık Riskinin Belirlenmesinde COL1A1 Gen Polimorfizminin Rolü

Bazı toplumlarda COL1A1 gen polimorfizmi ile osteoporotik kırıklar arasında ilişki saptanırken, bazılarında bu ilişki gösterilememiştir. Bu çalışmada COL1A1 gen polimorfizminin Türk postmenopozal osteoporozlu kadınlarda kemik mineral yoğunluğu (KMY) ve vertebral osteoporotik kırık için belirleyici bir faktör olup olmadığı araştırıldı. Denek grubuna Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre postmenopozal osteoporoz tanısı konulmuş 113 kadın, kontrol grubuna ise 57 sağlıklı kadın dahil edildi. Deneklerde tespit edilen allel oranları Hardy Weinberg eşitliğine uyumlu bulundu (GG %62.9(n=107), GT%35.3(n=60), TT%1.8(n=3). 49 (%43) hastada radyolojik olarak vertebral kırık tespit edildi. Hasta ve kontrol grubunda COL1A1 gen polimorfizmi ile KMY ve vertebral kırık arasında ilişki saptanmadı.

Anahtar kelimeler: COL1A1 geni, polimorfizm, osteoporoz, vertebral kırık kemik densitometrisi

SUMMARY

Role of COL1A1 Gene Polymorphism in Prediction of Osteoporosis and Fracture Risk in Postmenopausal Women

The relationship between COL1A1 gene polymorphism and osteoporotic vertebral fractures has been revealed in some countries while not revealed in some others. In this study, we investigated whether the COL1A1 gene polymorphism predicts bone mineral density (BMD) and vertebral fracture in Turkish women with postmenopausal osteoporosis. 113 women diagnosed as postmenopausal osteoporosis according to the WHO criteria were included in the patient group. The control group included 57 healthy women. Genotype frequencies were similar to those previously observed and in Hardy-Weinberg equilibrium: GG 62.9%(n=107), GT 35,3%(n=60), and TT 1,8%(n=3). 49 (43%) patients were determined to have vertebral fracture radiologically. There was no relationship between COL1A1 gene polymorphism, vertebral fracture and BMD.

Key words: COL1A1 gene, polymorphism, osteoporosis, vertebral fracture, bone densitometry

KAYNAKLAR

- 1- Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. Am J Med 1993;94:646-50.
- 2- Arasıl T. Günümüzde osteoporoz. In: Kutsal YG (ed.) Osteoporoz cep kitabı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2005:1-8.
- 3- Carbonare LD, Giannini S. Bone microarchitecture as an important determinant of bone strength. Endocrinol Invest 2004;27(1):99-105.
- 4- Deviren A. Osteoporoz Genetiği. In: Tüzün F ed. Osteoporoz ve Kemik Kalitesi. İstanbul 2003: 35- 51.
- 5- Mann V., Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH, A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. J Clin. Invest 2001;107: 899-907.
- 6- Kutsal YG. Osteoporoz. In: Kutsal YK, Beyazova M (eds.) Fiziksel tıp ve rehabilitasyon Ankara:Güneş Kitabevi. 2000;1872-93.
- 7- Kutlu M, Odabaşı E. Kemik Doku ve Fizyolojisi. Türkiye Klinikleri J Endocrin 2004;. 2:73-89.
- 8- Gür A, Saraç AJ, Nas K, Cevik R. The relationship between educational level and bone mineral density in postmenopausal women. BMC Fam Pract 2004;5(1):18.
- 9- Hadjidakis D, Androulakis I, Bone remodeling. Ann NY Acad Sci 2006:1092: 385–96.
- 10- Leeson T.S, Paparo A. Histology of bone. In: Leeson TS (ed.) Text/Atlas of Histology. W.B. Saunders Comp. 1988;7:186–90.
- 11- Junqueira LC. Carnerio J , Bone Basic Histology, ,In Koogan G ed. Text/atlas of basic histology. Rio DE Jeneiro Appleton&Lange, 2005 134-49.
- 12- Carbonare LD, Giannini S. Bone microarchitecture as an important determinant of bone strength. Endocrinol Invest 2004;27(1): 99–105.
- 13- Sinaki M. Prevention and Treatment of Osteoporosis. Randall L. Braddom, Physical Medicine and Rehabilitation, third edition:2007: 929-49.
- 14- Marcus R. The nature of osteoporosis. J Clin Met 1996;81:1–5.

- 15- Biberoglu S. Osteoporoz patogenezi. Gökçe Kutsal Y (ed). Osteoporoz. Güneş Kitabevi Ankara 2005:37-60.
- 16- Şimşek E. Kalsiyum fosfor ve kalsiyum homeostasisi. T Klin Pediatri 2002,11:211-20.
- 17- Wayne Sampson H. Alcohol, osteoporosis, and bone regulating hormones. Clin Exp Res 1997;21: 400–3.
- 18- Amman P, Rizzoli R. Bone strength and its determinants. Osteoporos Int 2003;14(3):13–8.
- 19- Johnston CC. Development of clinical practice guidelines for prevention and treatment of osteoporosis. Calcif Tissue Int 1996;59 (Supp 1):30–3.
- 20- Guyton C. In: Guyton C. (Ed): Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Comp. 1991;79:872-77.
- 21- Augat P, Schorlemmer S. The role of cortical bone and its microstructure in bone strength. Age and Ageing 2006; 35-S2:27–31.
- 22- World Health Organisation(1994) Assesment of fracture risk and its application to screening for postmenapousal osteoporosis. Technical report Series 843. World Health Organization, Geneva.
- 23- Kanis JA, Gluer CC. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of scientific advisors, Int Osteoporosis Foundation Osteoporos Int:1999; 11:192–202.
- 24- World Health Organization Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Technical report series/WHO843.Geneva:WHO;1994.
- 25- Johnell O, Hertzman P. What evidence is there for the prevention and screening of osteoporosis? Copenhagen, WHO Regional Office for Europe (Health Evidence Network report;<http://www.euro.who.int/document/e88668.pdf> accessed [20.8.2007]).
- 26- Nordin BE ‘Redefining osteoporosis’ Calcif Tissue Int. 2008; 83:365-7.
- 27- Rosen J. Postmenauposal osteoporosis. N Engl J Med 2005;53:595–603.
- 28- Kanis JA, Jonsson B. Economic evaluation of interventions for osteoporosis. Osteoporos Int 2002;13(10):765–7.

- 29-** Lane N, Leboff M, Kara M, Kutsal YG. Metabolik kemik hastalığı, Kelley Romatoloji İn:Arasıl T (ed). Güneş Kitapevi, 2006.
- 30-** RingeJD, Doherty JG. ‘ Absolute risk reduction in osteoporosis: assessing treatment efficacy by number needed to treat’ Rheumatol Int. 2009 Dec 25 , springerlink.
- 31-** Lee HJ, Kim SY, Kim GS, Hwang JY, Kim YJ, Jeong B, Kim TH, Park EK, Lee SH, Kim HL, Koh JM, Lee JY. Fracture, bone mineral density, and the effects of calcitonin receptor gene in postmenopausal Koreans. Osteoporos Int. 2009 Nov 28. PMID: 19946674
- 32-** Matthis C, Weber U. Health impact associated with vertebral deformities: results from the European vertebral osteoporosis study (EVOS). Osteoporosis Int 1998; 14:69–76.
- 33-** O’Neill TW, Felsenberg D, Varlow J. The prevalence of vertebral deformity in European men and women: (EVOS) J Bone Miner Res 1996;11:1010–8
- 34-** Delmas PD, Rizzoli R, Cooper C. Treatment of patients with postmenopausal osteoporosis worthwhile: The position of the International Osteoporosis foundation. Osteoporos Int 2005;16:1-5
- 35-** Todd C, Skelton D. What are the main risk factors for falls amongst older people and what are the most effective interventions to prevent these falls? Copenhagen, WHO Regional Office for Europe (Health Evidence Network report; 2004 <http://www.euro.who.int/document/E82552.pdf>, accessed [10.7.2007]).
- 36-** Cauley JA, Lui LY, Stone KL, Hillier TA, . Zmuda JM, Hochberg M, .Longitudinal study of changes in hip bone mineral density in caucasian and african-american women. Am J Geriatr Soc 2005;53:183–9.
- 37-** Tosteson AN, Hammond CS. Effect of menopause on femoral and vertebral bone loss. J Bone Miner Res 1995; 10:20–4.
- 38-** Ghannam NN, Hammani MM, Bakheet SM. Bone mineral density of the spine and femur in healthy Saudi females: relation to vitamin D status, pregnancy, and lactation. Calcif Tissue Int 1999; 65: 23-8.
- 39-** Johnell O, Kanis JA, Oden A. Mortality after osteoporotic fractures. Osteoporos Int 2003;14:183-6.

- 40-** Ben Khalifa F. Strong bones in later life: luxury or necessity? The view from Tunisia: need for an inclusive approach. *Bull World Health Organ* 1999; 7 (5): 427-8.
- 41-** Becker C. Management of osteoporosis. *Clinical Cornerstone* 2006;8(1):19-27
- 42-** Johnston CC, Slemenda CW. Determinants of Peak Bone Mass. *Osteoporosis Int* 1993;1:54-5.
- 43-** Recker R, Lappe J, Davies K, Heaney R. Characterization of perimenopausal bone loss: a prospective study. *J Bone Miner Res* 2000; 15:1965-73.
- 44-** Bonjour JP. Dietary protein: an essential nutrient for bone health. *J Am Coll Nutr* 2005; 24:526-36.
- 45-** Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M et al. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev* 2002; 23:90-119.
- 46-** Bashir A, Mak YT, Sankaralingam S, Cheung J, McGowan NW, Grigoriadis AE, Fogelman I, Hampson G. Changes in RANKL/OPG/RANK gene expression in peripheral mononuclear cells following treatment with estrogen or raloxifene. *Steroids* 2005; 70:847-55.
- 47-** Aubin JE, Bonnelye E. Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. *Osteoporosis Int* 2000; 11:905-13.
- 48-** Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 25:255-9.
- 49-** Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K, Watanabe K, Yamada Y. Transforming growth factor-beta stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. *J Biol Chem* 1998; 273:27091-6.
- 50-** Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 250:776-781.

- 51-** Saika M, Inoue D, Kido S, Matsumoto T. 17beta-estradiol stimulates expression of osteoprotegerin by a mouse stromal cell line, ST-2, via estrogen receptor-alpha. *Endocrinology* 2001; 142:2205-12.
- 52-** Murakami T, Yamamoto M, Ono K, Nishikawa M, Nagata N, Motoyoshi K, Akatsu T. Transforming growth factor-beta1 increases mRNA levels of osteoclastogenesis inhibitory factor in osteoblastic/stromal cells and inhibits the survival of murine osteoclast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 252:747-52.
- 53-** Mezquita-Raya P, de la HM, Garcia DF, Alonso G, Ruiz-Requena ME, de Dios Luna J, Escobar-Jiménez F, Muñoz-Torres M. The contribution of serum osteoprotegerin to bone mass and vertebral fractures in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2005; 16:1368-74.
- 54-** Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93:165-76.
- 55-** Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 2003; 111:1221-30.
- 56-** McClung M. Role of RANKL inhibition in osteoporosis. *Arthritis Res Ther* 2007; 9 Suppl 1:S3.
- 57-** Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A, Kutilek S, Adami S, Zanchetta J, Libanati C, Siddhanti S, Christiansen C. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361:756-65.
- 58-** Hofbauer LC, Schoppet M, Schuller P, Viereck V, Christ M. Effects of oral contraceptives on circulating osteoprotegerin and soluble RANK ligand serum levels in healthy young women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60:214-9.

- 59-** Locklin RM, Khosla S, Turner RT, Riggs BL. Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *Journal of Cellular Biochemistry*, 89(1):180-90.
- 60-** Melton LJ, Riggs BL, Epidemiology and classification in Hochberg MC, Silman A, Smolen JF, Weinblat ME, Weishman MH (eds.) *Rheumatology* Third edition, Elsevier, 2003.
- 61-** Dinçer G, Kars EY. ''osteoporozun kliniği ve risk faktörleri''. *Türkiye klinikleri J ORTHOPand Traumatol- Special topics* 2008;1(3):27-31.29 ile aynı
- 62-** Cauley JA, Hochberg MC, Lui LY, Palermo L, Ensrud KE. Long-term risk of incident vertebral fractures. *JAMA* 2007; 298:2761-7.
- 63-** Espallargues M, Sampietro-Colom L, Estrada MD, Sola M, del Rio L, Setoain, Granados A: Identifying bone-mass related risk faktors for fracture to guide bone densitometry measurements: A systemic review of the literature. *Osteoporosis Int* 2001; 12: 811–22.
- 64-** Woolf AD, Akesson K. 'Management of osteoporosis' *Rheumatology* Third edition 2003:2093-108.
- 65-** Akpolat V. Osteoporoz Tanısında Kullanılan Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçüm Yöntemleri *Dicle Tıp Dergisi*, 2008;35(3): 216-20.
- 66-** Cortet B, Boutry N, Dubois P, Bourel P, Cotten A, Marchandise X: In vivo comparison between computed tomography and magnetic resonance image analysis of the distal radius in the assessment of osteoporosis. *J Clin Densitometry* 2000; 3(1):15–26.
- 67-** Cawte S: Clinical Trial Quality Assurance. In: Pearson D, Miller CG (Eds) *Clinical Trials in Osteoporosis*, Springer, Great Britain, 2002, pp:95–136.
- 68-** Takahara K, Kamimura M, Nakagava H, Hashidate H. Radiographic evaluation of vertebral fractures in ostoporotic patients. *J Clin Neuroscience* 2007;14:122-6
- 69-** Genant HK, Wu CY, Van Kuijk C, et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res* 1993;8:1137-48.
- 70-** Kirazlı Y. Osteoporoz tanısında Görüntüleme yöntemleri. *Türkiye klinikleri J Orthop and Traumatol- Special topics* 2008;1(3):41-50.
- 71-** Gluer CC: The use of bone densitometry in clinical practice. *Clin Endocrinol Metab* 2000; 14(2): 195–

- 72-** Guessous I , Comuz J, Ruffieux C, Burckhardt P. Osteoporotic fracture risk in elderly women: estimation with quantitative heel ultrasound and clinical risk factors. *Radiol* 2008;248:179-84.
- 73-** Gökçe Kutsal Y: Osteoporoz tanısında görüntüleme yöntemleri ve histomorfometri.In: Gökçe-Kutsal Y(Ed): Osteoporoz.Güneş Kitabevi,Ankara, 2005, pp: 103–24.
- 74-** Jorgensen JT, Andersen PB, Rosholm A, Bjarnason NH. Digital X ray radiogrammetry: a new appendicular bone densitometric method with high precision. *Clin Physiol* 2000;20:330-5
- 75-** Schousboe JT, Vokes T, Broy SB, et al. Vertebral fracture assessment: the 2007 ISCD official positions. *J Clin Densitom* 2008;11:92-108.
- 76-** Sepici V. Osteoporoz tanı ve takibinde laboratuvar yöntemleri. Osteoporoz Gokce Kutsal Y (Ed) İst 2001:104-18.
- 77-** Karaoğlan B, Saracoğlu M, Tetik S, Ozet S, Erdem R, Koca I.:Primer ve sekonder osteoporozlu hastalarda serum Ca, P, alkalen fosfataz, idrar Ca ve kreatinin değerleri. *Osteoporoz* 1996;30:103-5.
- 78-** Arch K, Taylor sandra A, Leuken, Cesar Liberati, David J. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assesment of bone metabolism. *Rheumato Disease Clin North Ame.* 1994; 20(3):589-607 .
- 79-** Ketowicz M A, Klee G G, Kao P C , O'Fallon WM, Hodgson SF, Cedel SL, Eriksen EF, Gonchoroff DG, Judd HL, Riggs BL. Relationship between serum intact parathyroid hormone concentrations and bone remodelling in type I osteoporosis: evidence that skeletal sensitivity is increased. *Osteoporosis Int* 1990;1:14.
- 80-** Johnell O, Oden A, De Laet C, Garnero P, Delmas PD, Kanis JA. Biochemical indices of bone turnover and the assessment of fracture probability. *Osteoporos Int* 2002;13:523–68.
- 81-** Martin TJ, Seeman E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008;22:701–22.
- 82-** Boivin G, Meunier PJ. The degree of mineralization of bone tissue measured by computerized quantitative contact microradiography. *Calcif Tissue Int* 2002;70:503–11.

- 83-** Garnera P, Delmas P: Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. In (ed.) Watts NB. Endocrinology and metabolism clinics of North America. Philadelphia WB. Saunders Company, 1998, 303-23.
- 84-** R. Swaminathan Biochemical markers of bone turnover. Clinica Chimica Acta 2001;313 : 95–105.
- 85-** Seibel M.J. Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. Osteoporosis Int Suppl 2000;6:S 18-29.
- 86-** Brown, J.P.; Albert, C.; Nassar, B.A.; Adachi, J.D.; Cole, D.; Davison, K.S.; Dooley, K.C.; Don-Wauchope, A.; Douville, P.; Hanley, D.A.; Jamal, S.A.; Josse, R.; Kaiser, S.; Krahn, J.; Krause, R.; Kremer, R.; Lepage, R.; Letendre, E.; Morin, S. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. Clin Biochem. 2009;42: 929–42.
- 87-** Wechsel H.W, Petri E, Bichler K, Skeletal alkaline phosphatase: A marker for individual follow up in patients with advanced prostatic cancer . Urol Int. 1997; 58: 80-83.
- 88-** Price CP, Thompson PW. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. Ann Clin Biochem 1995;32:244-60
- 89-** Delmas PD, Biochemical markers of bone remodeling in osteoporosis. In: Papapoulos SE, Lips P, Pols HAP, Johnston CC, Delmas PD, (eds.) Proceedings of the 1996 World Congress on Osteoporosis Amsterdam. Netherlands: Elsevier Science BV, 1996:191-204.
- 90-** Seibel MJ, Robins SP, Blezikian JP. Markers of bone metabolism. In: Becker KL, (ed.) Principle and practice of Endocrinology and Metabolism. Lippincott Company. 1995:498-508.
- 91-** Colford J, Sailer D, Langham C. Five osteocalcin assay compared tracer specificity, fragment interference and calibration. Clin Chem. 1997;43:1240-8.
- 92-** Garnero P, Grimux M, Sequin P, Delmas PD. Characterization of immunoreactive forms of osteocalcin generated in vivo and in vitro. J Bone Miner Res. 1994;9(2):255-64.

- 93-** Binkley NC, Krueger DC, Engelke JA, Foley AL, and Suttie JW. Vitamin K supplementation reduces serum concentrations of under- γ -carboxylated osteocalcin in healthy young and elderly adults. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:1523-8.
- 94-** Risteli L, Risteli J. Biochemical markers of bone metabolism. *Annals of Medicine* 1993;25:385-93.
- 95-** Smodsrod B, Melkko B, Risteli S. Circulating carboxy terminal propeptide of type 1 procollagen is cleared via the mannose receptor in liver endothelial cell. *Biochem J*. 1990;271:345-50.
- 96-** Price CP, Thompson PW. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann Clin Biochem* 1995;32:244-60
- 97-** Garnero P, Delmas P D. Biochemical Markers of Bone turnover *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America* 1998: 27(2):303-23 .
- 98-** Li WF, Hou SX, Yu B, Li MM, Férec C, Chen JM. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation *Hum Genet* 2010; 127:249–85.
- 99-** Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, Halldorsson BV, Hsu YH, Richards JB, Zillikens MC, Kavvoura FK, Amin N, Aulchenko YS, Cupples LA, Deloukas P, Demissie S, Grundberg E, Hofman A, Kong A, Karasik D, van Meurs JB, Oostra B, Pastinen T, Pols HA, Sigurdsson G, Soranzo N, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Williams FM, Wilson SG, Zhou Y, Ralston SH, van Duijn CM, Spector T, Kiel DP, Stefansson K, Ioannidis JP, Uitterlinden AG. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 2009;41:1199–1206
- 100-** Adelland K Ogbonna G. Rapid purification of human DNA from whole blood for potential application in clinical chemistry laboratories *Clin Chem* 1990; 36(2): 261-4.
- 101-** Watson JD, Crick FHC. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953; 171: 737-8.
- 102-** Voet D, Voet JD. *Biochemistry*, In Voet D, Voet JD. (ed). 2nd edition, John Wiley. New York, 1995.

- 103-** Yılmaz E. Nukleik asitlerin yapısı, fonksiyonu ve genom organizasyonu
Ankara Türk Hematoloji Derneği - Moleküler Hematoloji Kursu
www.thd.org.tr/doc/kurs_pdf/molhem_01.pdf
- 104-** Eric Lam, Naohiro Kato, and Koichi Watanabe Visualizing Chromosome Structure/Organization *Annu. Rev. Plant Biol.* 2004. 55:537–54.
- 105-** Brown TA. *Genetics: a molecular approach*. 2nd ed. London : Chapman & Hall, 1992.
- 106-** Vogel F. Motulsky AG.: *Human genetics*. 3rd ed. Springer-Verlag, Berlin, 1996.
- 107-** Connor F, Smith-Ferguson M. *Essential Medical genetics*. Blackwell Science, 1997
- 108-** Fristrom JW, Clegg MT. *Principles of genetics*. 2nd ed. WH Freeman, San Francisco, 1998.
- 109-** Camerino G, Goodfellow PN: *Genetics of Disease*. *Current Opin Genet Develop* 1994;4:357-497.
- 110-** Darnell J, Lodish H, Baltimore D. *Molecular cell biology*. 2nd ed. Scientific American Boks, WH Freeman, New York, 1990.
- 111-** Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2008;21(3):282-95.
- 112-** Hartl DL. Jones EW *Population Genetics and Evolution* Jones and Bartlett Publishers, 1998:626-67.
- 113-** Birben E. Polimeraz zincir reaksiyonu Astım Allerji İmmünoloji 2006;4(2):92-4.
- 114-** Matkovic V, Fontana D, Tominac C, Goel P, Chesnut CH. Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. *Am J Clin Nutr* 1990;52: 878-88.
- 115-** Eckstein M, Vered I, Ish-Shalom S, Shlomo AB, Shtriker A, Koren-Morag N. Vitamin D and calcium-sensing receptor genotypes in men and premenopausal women with low bone mineral density. *Isr Med Assoc J* 2002; 4(5): 340-4.
- 116-** Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture *Bone* 2003;32: 711-7.

- 117-** Li WF, Hou SX , Yu B, Li MM, Férec C, Chen JM. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation *Hum Genet* 2010;127:249–85.
- 118-** Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA .Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994;367:284–7.
- 119-** Fang Y, van Meurs JB, d'Alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, Hofman A, van Leeuwen JP, Jehan F, Pols HA, Uitterlinden AG. Promoter and 3'-translated-region haplotypes in the vitamin d receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the Rotterdam study. *Am J Hum Genet* 2005;77:807–23.
- 120-** Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, Carey AH, Grinberg D, Langdahl BL, Lips P, Lorenc R, Obermayer-Pietsch B, Reeve J, Reid DM, Amedei A, Bassiti A, Bustamante M, Husted LB, Diez-Perez A, Dobnig H, Dunning AM, Enjuanes A, Fahrleitner-Pammer A, Fang Y, Karczmarewicz E, Kruk M, van Leeuwen JP, Mavilia C, van Meurs JB, Mangion J, McGuigan FE, Pols HA, Renner W, Rivadeneira F, van Schoor NM, Scollen S, Sherlock RE, Ioannidis JP. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006;145:255–64.
- 121-** MoVett SP, Zmuda JM, Cauley JA, Ensrud KE, Hillier TA, Hochberg MC, Li J, Cayabyab S, Lee JM, Peltz G, Cummings SR. Association of the VDR translation start site polymorphism and fracture risk in older women. *J Bone Miner Res* 2007;22:730–6.
- 122-** McGuigan F, Kumar J, Ivaska KK, Obrant KJ, Gerdhem P, Akesson K. Osteocalcin gene polymorphisms influence concentration of serum osteocalcin and enhance fracture identification. *Mol Biol Rep.* 2010 PMID: 20200947 .
- 123-** Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH. A COL1A Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001;107:899–907.

- 124-** Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 1996;14:203–5.
- 125-** McGuigan FEA., Reid DM. β 2000 International Osteoporosis Foundation Susceptibility to osteoporotic fracture is determined by allelic variation at the Sp1 Site, Rather than Other Polymorphic Sites at the COL1A1 Locus *Osteoporos Int* 2000; 11:338–43.
- 126-** Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML, Balcells S, Langdahl BL, Lips P, Lorenc R, Obermayer-Pietsch B, Scollen S, Bustamante M, Husted LB, Carey AH, Diez-Perez A, Dunning AM, Falchetti A, Karczmarewicz E, Kruk M, van Leeuwen JP, van Meurs JB, Mangion J, McGuigan FE, Mellibovsky L, del Monte F, Pols HA, Reeve J, Reid DM, Renner W, Rivadeneira F, van Schoor NM, Sherlock RE, Ioannidis JP. Large-scale evidence for the effect of the *COL1A1* Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. 2006; *PLoS Med* 3:e90.
- 127-** Yazdanpanah N, Rivadeneira F, van Meurs JB, Zillikens MC, Arp P, Hofman A, van Duijn CM, Pols HA, Uitterlinden AG. The -1997 G/T and Sp1 polymorphisms in the collagen type I alpha 1 (*COL1A1*) gene in relation to changes in femoral neck bone mineral density and the risk of fracture in the elderly: the Rotterdam study. *Calcif Tissue Int* 2007;81:18–25.
- 128-** Husted LB, Harslof T, Gonzalez-BoWll N, Schmitz A, Carstens M, Stenkjaer L, Langdahl BL. Haplotypes of promoter and intron 1 polymorphisms in the *COL1A1* gene are associated with increased risk of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2009;84:85–96.
- 129-** Berg JP, Lehmann EH, Stakkestad JA, Haug E, Halse J. The Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I alpha 1 (*COL1A1*) gene is not associated with bone mineral density in healthy children, adolescents, and young adults. *Eur J Endocrinol* 2000;143:261–5.
- 130-** McGuigan FE, Murray L, Gallagher A, Davey-Smith G, Neville CE, Van't Hof R, Boreham C, Ralston SH. Genetic and environmental determinants of peak bone mass in young men and women. *J Bone Miner Res* 2002;17:1273–9.

- 131-** M. Lidén, B. Wilén, S. Ljunghall, H. Melhus Polymorphism at the Sp 1 binding site in the collagen type I $\alpha 1$ gene does not predict bone mineral density in Postmenopausal Women in Sweden *Calcif Tissue Int* 1998; 63:293–5.
- 132-** Garnero P, Borel O, Grant SF, Ralston SH, Delmas PD. Collagen I $\alpha 1$ Sp1 polymorphism, bone mass, and bone turnover in healthy French premenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1998;13:813–7.
- 133-** Garnero P, Borel O Grant SFA, Ralston SFH, Delmas PD. Sp1 binding site polymorphism in the collagen type 1 α gene, peak bone mass, postmenopausal bone loss and bone turnover: The Ofely study. *J Bone Miner Res* 1997;12(suppl):490.
- 134-** Lidén M, Wilén B, Ljunghall S, Melhus H. Polymorphism at the Sp1 binding site in the collagen type 1 $\alpha 1$ gene does not predict bone mineral density in postmenopausal women in Sweden. *Calcif Tissue Int.* 1998;63(4):293-5.
- 135-** Simsek M, Cetin Z, Bilgen T, Taskin O, Luleci G, Keser İ. Effects of hormone replacement therapy on bone mineral density in Turkish patients with or without COL1A1 Sp1 binding site polymorphism *J Obstet Gynaecol Res* 2008;34(1): 73–7.
- 136-** Dinçel E, Dinçel AS, Özsoy H, Sepici B, Hip fracture risk and different gene polymorphisms in Turkish population. *Clinics* 2008;63(5):645-50.

EK-1

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bu form, katılmanız önerilen araştırma ile ilgili olarak sizi bilgilendirmek amacıyla düzenlenmiş olup, araştırmaya katılıp katılmama konusunda karar vermenizin kolaylaştırılması hedeflenmiştir.

Araştırmanın Adı:

Postmenopozal kadınlarda osteoporoz ve kırık riskinin belirlenmesinde COL1A1 gen polimorfizminin rolü.

Araştırmanın Amacı: Canlıların DNA'sında tekrar dizilerin bulunduğu özel bölgeler vardır. Bu bölgelerde meydana gelen değişiklikler genellikle soylar boyunca aktarılır. Nesiller boyunca oluşan farklılıkların birikimi sonucu insanlar arasında genetik farklılıklar (çeşitlilikler) ortaya çıkar. Bu çalışmada COL1A1 gen farklılıklarının kemiklerde meydana gelen kırıklarla ilişkisine bakılacak ve kemik erimesi hastalığında görülen kırıklar ile ilişkisine bakılacaktır. Böyle bir ilişkinin tespit edilmesi halinde gelecekte kemik erimesi hastalığı tanı ve takibinde faydalı bir yöntem olabileceği düşünülebilir.

Çalışma Düzeni: Araştırmaya katılmak isteyen hastaların kol damarlarından sadece 1 defa 1 tatlı kaşığı (4 ml) kan alınacak ve çalışma bu kandan elde edilecek DNA ile yapılacaktır. Araştırmaya katılacak kişilerin isimleri gizli tutulacaktır.

Bu çalışmaya katılan kişilere ve kurumlara COL1A1 gen polimorfizminin tespit edilmesi mali bir yük getirmeyecektir ve bu kişilerden herhangi bir ad altında, herhangi bir şekilde para istenmeyecektir.

Araştırmaya osteoporozu (kemik erimesi) tespit edilen 100 kadın hasta ve sağlıklı 100 kadın dahil edilecektir.

Araştırmacılar tarafından uygun olmayan koşullar tespit edildiğinde hasta gerekli görüldüğü hallerde çalışma dışında bırakılabileceklerdir.

Araştırmaya gönüllü olarak katılmaktasınız. Katılmama ve her aşamasında ayrılma hakkınız bulunmaktadır. Bu durum daha önce düzenlenmiş olan tedavinizi etkilemeyecektir.

Hastalar Dr. İlknur Saban'a 05334533145 numaralı telefondan ulaşabileceklerdir.

Araştırmaya katılan kişilerin DNA'ları üç yıl boyunca Tıbbi biyoloji laboratuvarında korunacak, uluslararası ilkelere uygun olarak başka araştırmalarda isimsiz olarak kullanılabilir.

İzin Veriyorum

İzin Vermiyorum

Ben ‘’ Postmenopozal kadınlarda osteoporoz ve kırık riskinin belirlenmesinde COL1A1 gen polimorfizminin rolü.’’ başlıklı çalışma bana sözlü olarak da açıklandı. Araştırma ile ilgili sorularımı Dr. İlknur Saban’a sorarak açık ve doyurucu yanıtlar aldım. Bu bilgiler ışığında çalışmaya kendi isteğimle katılıyorum.

KATILIMCININ

ADRESİ:

TEL:

TARİH.../.../.....

İMZA:

TANIK

ADI SOYADI:

İMZA

EK-2
HASTA KAYIT FORMU

TARİH:

KAYIT NO:

AD SOYAD:

YAŞ:

BOY:

KİLO:

BMI:

MENOPOZ YAŞI (yıl):

MENOPOZ SÜRESİ (ay):

FİZİKSEL AKTİVİTE DÜZEYİ:

GÜNLÜK KALSİYUM ALIMI:

< 500 MG 500-1000 MG > 1000 MG

SİGARA KULLANIMI:
paket/yıl

SÜRE: yıl

SIKLIK:

KULLANDIĞI İLAÇLAR:

KEMİK DENSİTOMETRİSİ (DXA):

LOMBER T-skoru (L1-L4):

Lomber KMY (L1-L4) :

gr/cm²

Femur boynu T-skoru:

Femur boynu KMY :

gr/cm²

Osteoporotik kırık öyküsü (bölge, tarih):

TORAKOLOMBER GRAFİ:

Kırık yeri:

Kırık Tipi:

Kama (wedge)

Bikonkav

Ezilme (crush)

Grade :

Grade 1 (hafif)

Grade 2 (orta)

Grade 3 (ağır)

COL1A1 GENOTİPİ : SS

Ss

ss