

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**POSTMENOPUZAL OSTEOPOROZLU HASTALARDA VİTAMİN  
D RESEPTÖR GENİNİN TAQ1, APA1, BSM1, FOK1 ve T1P 1  
KOLLAJEN ALFA A1 ZİNCİR GENİNİN SP1 ve -1997 G/T  
POLİMORFİZİMLERİ AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI**

**Bil. Uzm. Sabriye KOCATÜRK SEL**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI  
Prof. Dr. Halil KASAP**

**Tez No: .....**

**ADANA-2012**

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**POSTMENOPOZAL OSTEOPOROZLU HASTALARDA  
VİTAMİN D RESEPTÖR GENİNİN TAQI, APAI, BSMI, FOKI ve  
TİP 1 KOLLAJEN ALFA A1 ZİNCİR GENİNİN SP1 ve -1997 G/T  
POLİMORFİZİMLERİ AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI**

Bil. Uzm. Sabriye KOCATÜRK SEL

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI  
Prof. Dr. Halil KASAP

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TF2008D1 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: .....

ADANA-2012

## Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan “Postmenopozal Osteoporozlu Hastalarda Vitamin D Reseptör Geninin TaqI, ApaI, BsmI, FokI ve Tıp 1 Kollajen Alfa A1 Zincir Geninin Sp1 ve -1997 G/T Polimorfizmleri Açısından Araştırılması” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez savunma tarihi: 26 /01 / 2012**

**Prof. Dr. Halil KASAP**  
**Çukurova Üniversitesi**  
Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD  
Öğretim Üyesi  
**Jüri Başkanı**

**Prof. Dr. Tunay SARPEL**  
Çukurova Üniversitesi  
Tıp Fak. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon ABD  
Öğretim Üyesi

**Üye**

**Prof. Dr. Mülkiye KASAP**  
Çukurova Üniversitesi  
Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD  
Öğretim Üyesi

**Üye**

**Prof. Dr. Mehmet Emin ERDAL**  
Mersin Üniversitesi  
Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD  
Öğretim Üyesi

**Üye**

**Prof. Dr. Davut ALPTEKİN**  
Çukurova Üniversitesi  
Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD  
Öğretim Üyesi

**Üye**

Yukarıdaki tez, Yönetim kurulunun ..... tarih ve .....sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

**Prof.Dr. Halil KASAP**

**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Akademik eğitimim boyunca beni destekleyen, yönlendiren, bilgi birikimini paylaşan değerli danışmanım sayın Prof.Dr. Halil KASAP'a en derin teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum. Bu tez çalışmasının yürütülmesinde değerli katkılarını esirgemeyen Doç.Dr.Ayfer PAZARBAŞI'na, Öğr. Gör. Dr. Mehmet Bertan YILMAZ'a, Doç.Dr. Ali İrfan Güzel'e, Prof.Dr. Mülkiye KASAP'a, Prof.Dr. Osman DEMİRHAN'a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Davut ALPTEKİN'e ve çalışma arkadaşlarıma tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Çalışmamızda, tez örneklerimizin sağlanmasında katkıda bulunan Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Tunay SARPEL'e ve Doç. Dr. Sibel BAŞARAN'a ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim dalı çalışanlarına teşekkür ederim. Bu çalışmada, biyokimyasal tetkiklerin gerçekleştirilmesinde güler yüzünü esirgemeyen Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı sorumlusu Uzm. Hatice ÖZÇÜRÜMEZ'e, Merkez Laboratuvarı hemşirelerine ve çalışanlarına teşekkür ederim.

İstatistiksel analizlerde desteğini esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr.Gör. Dr. Yaşar SERTDEMİR'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması TF.2008.D1 numaralı proje ile Ç.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Yürüdüğüm bu yolda beni yalnız bırakmayan sevgili eşim Burhan SEL'e, oğlum Efe SEL'e, anneme, babama ve aileme sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi iletiyorum.

# İÇİNDEKİLER

|   |     |
|---|-----|
| <b>KABUL VE ONAY</b>  | ii  |
| <b>TEŞEKKÜR</b>   | iii |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>  | iv  |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>  | vi  |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>  | vii |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>   | xi  |
| <b>ÖZET</b>   | xv  |
| <b>ABSTRACT</b>   | xvi |
| <b>1. GİRİŞ</b>   | 1   |
| <b>2. OSTEOPOROZ</b>  | 4   |
| 2.1. Osteoporozun Epidemiyolojisi   | 4   |
| 2.2. Osteoporozun Patofizyolojisi   | 5   |
| 2.2.1. Kemik Yapısı   | 5   |
| 2.2.2. Kemik Yeniden Şekillenmesi (Remodelling)                                       | 6   |
| 2.2.3. Kemik Oluşum Ve Yıkım Göstergeleri   | 8   |
| 2.2.4. Vitamin D ve Biyokimyası   | 12  |
| 2.2.5. Osteoporozun Sınıflandırılması   | 15  |
| 2.3. Osteoporozda Risk Faktörleri   | 18  |
| 2.4. Osteoporozdan Korunma  | 22  |
| 2.5. Osteoporozda Tanı Yöntemleri   | 26  |
| 2.6. Osteoporoz Genetiği  | 28  |
| 2.6.1. Vitamin D Reseptör (VDR) Proteini ve Geni                                      | 31  |
| 2.6.2. Kollajenler  | 35  |
| 2.6.3. Tip 1 Kollajen Alfa 1 Zinciri Geni (CollA1) ve Proteini                        | 36  |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>   | 40  |
| 3.1. Araç ve Gereçler   | 40  |
| 3.2. Yöntem   | 43  |
| 3.2.1. Periferik Kandan Tuzla Çöktürme Yöntemi ile DNA Eldesi                         | 43  |
| 3.2.2. Agaroz Jelin Hazırlanması, Örneklerin Agaroz Jele<br>Yüklenmesi ve Yürütülmesi | 44  |

|  |     |
|--|-----|
| 3.2.3. Nondenatüre Poliakrilamid Jelin Hazırlanması  | 45  |
| Örneklerin Jele Yüklenmesi, Yürütülmesi ve Boyanması   |     |
| 3.2.4. PCR (Polymerase Chain Reaction) ve RFLP (Restriction<br>Fragment Length Polymorphism) Yöntemlerinin Uygulanması | 46  |
| 3.2.4.1. VDR geni TaqI ve ApaI polimorfik bölgelerine ait<br>PCR reaksiyonu, PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları | 47  |
| 3.2.4.2. VDR geni BsmI polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu,<br>PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları           | 50  |
| 3.2.4.3. VDR geni FokI polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu,<br>PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları           | 51  |
| 3.2.4.4. Col1A1 geni Sp1 polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu,<br>PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları         | 53  |
| 3.2.4.5. Col1A1 geni -1997 G/T polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu,<br>PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları   | 54  |
| 3.2.4.6. İstatistiksel Analiz  | 56  |
| <b>4. BULGULAR</b>   | 57  |
| <b>5. TARTIŞMA</b>   | 92  |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>  | 114 |
| <b>7. KAYNAKLAR</b>  | 116 |
| <b>EKLER</b>   | 128 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>  | 131 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Şekil 1:</b>  | Kemik hücreleri ve yeniden oluşumu  | 7  |
| <b>Şekil 2:</b>  | Vitamin D metabolizması   | 13 |
| <b>Şekil 3:</b>  | Östrojen eksikliğinin kemik yıkımı ve kalsiyum emilimi üzerine etkisi                           | 17 |
| <b>Şekil 4:</b>  | VDR proteinin DNA'ya bağlanması ve VDR geninin regülasyonu                                      | 32 |
| <b>Şekil 5:</b>  | İnsan VDR geni ve polimorfizmleri   | 33 |
| <b>Şekil 6:</b>  | Tip I kollajen pro $\alpha$ 1(I) zinciri ve <i>COL1A1</i> geninin yapısı                        | 37 |
| <b>Şekil 7:</b>  | <i>COL1A1</i> geni -1997 G/T, -1663 in/delT ve Sp1 polimorfizmleri                              | 38 |
| <b>Şekil 8:</b>  | VDR geni BsmI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü                        | 58 |
| <b>Şekil 9:</b>  | VDR geni ApaI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü                        | 58 |
| <b>Şekil 10:</b> | VDR geni TaqI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü                        | 59 |
| <b>Şekil 11:</b> | VDR geni FokI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü                        | 59 |
| <b>Şekil 12:</b> | <i>COL1A1</i> geni Sp1 polimorfizminin PCR-RFLP %8'lik poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü | 60 |
| <b>Şekil 13:</b> | <i>COL1A1</i> geni -1997 G/T polimorfizminin PCR-RFLP NuSive agaroz jel elektroforez görüntüsü  | 60 |
| <b>Şekil 14:</b> | Hasta ve kontrol gruplarının güneşlenme sürelerinin % olarak gösterilmesi                       | 77 |
| <b>Şekil 15:</b> | Eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımının % olarak gösterimi            | 79 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <b>Çizelge 1:</b>  | Osteoporozda Risk Faktörleri  | 19 |
| <b>Çizelge 2:</b>  | NIH tarafından önerilen günlük kalsiyum alımı   | 23 |
| <b>Çizelge 3:</b>  | VDR ve Col1A1 genlerine ait polimorfik alanların primer dizileri                        | 47 |
| <b>Çizelge 4:</b>  | TaqI ve ApaI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları    | 48 |
| <b>Çizelge 5:</b>  | TaqI ve ApaI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri | 48 |
| <b>Çizelge 6:</b>  | VDR geni TaqI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu                                  | 49 |
| <b>Çizelge 7:</b>  | VDR geni ApaI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu                                  | 49 |
| <b>Çizelge 8:</b>  | BsmI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulu               | 50 |
| <b>Çizelge 9:</b>  | BsmI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri:        | 50 |
| <b>Çizelge 10:</b> | VDR geni BsmI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu koşulları                        | 51 |
| <b>Çizelge 11:</b> | FokI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları:           | 51 |
| <b>Çizelge 12:</b> | FokI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri:        | 52 |
| <b>Çizelge 13:</b> | VDR geni FokI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu                                  | 52 |
| <b>Çizelge 14:</b> | Sp1 için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları             | 53 |
| <b>Çizelge 15:</b> | Sp1 için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri          | 53 |
| <b>Çizelge 16:</b> | Col1A1 geni Sp1 polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu                                | 54 |



|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <b>Çizelge 17:</b> | -1997 G/T için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları   | 54 |
| <b>Çizelge 18:</b> | -1997 G/T için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri  | 55 |
| <b>Çizelge 19:</b> | COL1A1 geni -1997 G/T polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu  | 55 |
| <b>Çizelge 20:</b> | Hasta grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri   | 61 |
| <b>Çizelge 21:</b> | Kontrol grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri   | 65 |
| <b>Çizelge 22:</b> | VDR geni BsmI, ApaI, TaqI ve FokI polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları   | 67 |
| <b>Çizelge 23:</b> | COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları  | 69 |
| <b>Çizelge 24:</b> | VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI genotip kombinasyonlarına sahip hasta ve kontrol bireyleri  | 70 |
| <b>Çizelge 25:</b> | Meydana getirebileceği kesin olarak tahmin edilebilen Çizelge 24 deki genotip kombinasyonlarına (BBAATT, bbAaTT, BBAAtt, bbaaTT, BbAATT, BBAATt, bbAATT, bbaaTt) ait haplotiplerin, hasta ve kontrol bireylerindeki dağılımları | 71 |
| <b>Çizelge 26:</b> | COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T genotip kombinasyonlarına sahip hasta ve kontrol bireyleri   | 72 |
| <b>Çizelge 27:</b> | COL1A1 geni Sp1 ve -1997G/T genotip kombinasyonlarından "GTGT" hariç meydana gelebileceği kesin olarak tahmin edilebilen genotip kombinasyonlarına ait haplotiplerin, hasta ve kontrol bireylerindeki dağılımları               | 73 |
| <b>Çizelge 28:</b> | Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri   | 74 |
| <b>Çizelge 29:</b> | Hasta ve kontrol grupları biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri  | 75 |
| <b>Çizelge 30:</b> | Ailede osteoporoz öyküsünün hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 76 |

|                    |  |    |
|--------------------|--|----|
| <b>Çizelge 31:</b> | Süt ve süt ürünleri tüketiminin günlük porsiyonlara göre hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları                                  | 76 |
| <b>Çizelge 32:</b> | Sigara tüketiminin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 76 |
| <b>Çizelge 33:</b> | Kafein tüketiminin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 77 |
| <b>Çizelge 34:</b> | Güneş alma süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 77 |
| <b>Çizelge 35:</b> | Giyim tarzının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 78 |
| <b>Çizelge 36:</b> | Giyim tarzının güneş alma süresi ile ilişkisinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 78 |
| <b>Çizelge 37:</b> | Eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı   | 79 |
| <b>Çizelge 38:</b> | İş durumunun hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları  | 79 |
| <b>Çizelge 39:</b> | VDR geni TaqI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 80 |
| <b>Çizelge 40:</b> | VDR geni ApaI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 81 |
| <b>Çizelge 41:</b> | VDR geni BsmI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 82 |
| <b>Çizelge 42:</b> | VDR geni FokI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 83 |
| <b>Çizelge 43:</b> | COLIA1 geni SpI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri       | 84 |
| <b>Çizelge 44:</b> | COLIA1 geni -1997 G/T polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri | 85 |

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>Çizelge 45:</b> | VDR geni TaqI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 86  |
| <b>Çizelge 46:</b> | VDR geni ApaI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 87  |
| <b>Çizelge 47:</b> | VDR geni BsmI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 88  |
| <b>Çizelge 48:</b> | VDR geni FokI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri         | 89  |
| <b>Çizelge 49:</b> | COL1A1 geni Sp1 polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri       | 90  |
| <b>Çizelge 50:</b> | COL1A1 geni -1997 G/T polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri | 91  |
| <b>Çizelge 51:</b> | VDR geni BsmI polimorfizminin Türkiye de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması  | 103 |
| <b>Çizelge 52:</b> | VDR geni ApaI polimorfizminin Türkiye de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması  | 104 |
| <b>Çizelge 53:</b> | VDR geni TaqI polimorfizminin Türkiye de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması  | 105 |
| <b>Çizelge 54:</b> | VDR geni FokI polimorfizminin Türkiye’de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması  | 106 |
| <b>Çizelge 55:</b> | COL1A1 geni Sp1 polimorfizminin Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması  | 112 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|  |   |
|--|---|
| ALP  | Alkalen Fosfataz  |
| AR   | Androjen Reseptör Geni  |
| APS  | Amonyum Persülfat   |
| Apo E  | Apolipoprotein E Geni   |
| ATPaz  | Adenozin Trifosfataz  |
| Bç/bp  | Baz Çifti   |
| Beta-CTx   | Beta-Crosslaps  |
| BMU  | Basic Multicellular Units   |
| °C   | Santigrat Derece  |
| Ca   | Kalsiyum  |
| CaCO <sub>3</sub>  | Kalsiyum Karbonat   |
| CaF  | Kalsiyum Florür   |
| cm   | Santimetre  |
| Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub> | Hidroksiapatit Kristalleri  |
| COL1A1   | Tip 1 Kollajen Alfa A1 Zinciri Geni                                       |
| COL1A2   | Kollajen Tip 2 Alfa Geni  |
| del  | Delesyon  |
| DEXA   | Çift Enerji X-ışını Absorpsiyometri<br>(Dual Energy X-ray Absorptiometry) |
| dk   | Dakika  |
| DNA  | Deoksiribonükleik Asit  |
| DNaz   | Deoksiribonükleaz   |
| dNTP   | Deoksi Nükleotit Tri Fosfat   |
| DPA  | Çift Foton Absorpsiyometri (Dual Photon Absorptiometry )                  |
| D-Pyr  | Deoksipiridinolin   |
| E2   | Estradiol   |
| EDTA   | Etilen Diamin Tetra Asetik Asit   |
| ER   | Östrojen Reseptör   |
| ESR $\alpha$ /ESR1   | Östrojen Reseptör Geni  |
| EtBr   | Etidyum Bromür  |

|                    |  |
|--------------------|--|
| FSH                | Folikül stimüle edici hormon                   |
| FN                 | Femur Boyun                                    |
| FT3                | Serbest T3                                     |
| FT4                | Serbest T4                                     |
| g/cm <sup>2</sup>  | Gram/Santimetre kare                           |
| GENOMOS            | Genetic Markers for Osteoporosis               |
| GHYL               | Galaktozil Hidroksilizin                       |
| GGHYL              | Glukozil-Galaktozil-Hidroksilizin              |
| Gly                | Glisin   |
| HRT                | Hormon Replasman Tedavisi                      |
| HPLC               | Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi          |
| IL-1               | İnterlökin 1                                   |
| IL-6               | İnterlökin 6                                   |
| IL-R               | İnterlökin Reseptör Geni                       |
| INP                | İnorganik Fosfat                               |
| ins                | İnsersiyon                                     |
| IU                 | International Unit                             |
| kb                 | Kilobaz  |
| kDa                | Kilo Dalton                                    |
| KMY                | Kemik Mineral Yoğunluğu                        |
| LD                 | Linkage Disequilibrium                         |
| LDL                | Düşük Yoğunluklu Lipoprotein                   |
| LDL-LRP5           | Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Benzeri Protein 5 |
| LH                 | Lüteinize Edici Hormon                         |
| M                  | Markır   |
| M                  | Molar  |
| Min-Max            | Minumum-Maksimum                               |
| mg                 | Miligram                                       |
| mg/dl              | Miligram/Desilitre                             |
| MgCl <sub>2</sub>  | Magnezyum Klorür                               |
| Mg PO <sub>4</sub> | Magnezyum Fosfat                               |
| ml                 | Mililitre                                      |

|              |   |
|--------------|---|
| $\mu$ l      | Mikrolitre  |
| mM           | Milimolar   |
| M.Ö.         | Milattan Önce   |
| MÖP          | Maksimum Ömür Uzunluğu  |
| mRNA         | Mesajcı Ribonükleik Asit  |
| MRI          | Manyetik Rezonans (Magnetic Resonance Imaging)                              |
| n            | Birey Sayısı  |
| NaCl         | Sodyum Klorür   |
| ng           | Nanogram  |
| NIH          | National Institutes of Health   |
| NTX,CTX      | Tip I Kollajen Telopektidler  |
| OI           | Osteogenezis İmperfekta   |
| ort $\pm$ SD | Ortalama Standart Sapma   |
| OPG          | Osteoprotegerin   |
| P            | Fosfat  |
| PAGE         | Poliakrilamid Jel Elektroforezi   |
| PCR          | Polimeraz Zincir Reaksiyonu   |
| pg/ml        | Pikogram/Mililitre  |
| pmol         | Piko mol  |
| PR           | Progesteron Reseptör Geni   |
| PTH          | Paratiroid Hormon   |
| PTHr 1       | Paratiroid Hormon Reseptörü Geni  |
| QCT          | Kantitatif Bilgisayarlı Tomografi<br>(Quantitative Computed Tomography)     |
| QUS          | Kantitatif Ultrasonografi (Quantitative Ultrasonography)                    |
| RFLP         | Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi                                     |
| rpm          | Dakikadaki Devir Sayısı   |
| RXR          | Retinoik asit X reseptörü   |
| SD           | Standart Sapma  |
| SDS          | Sodyum Dodesil Sülfat   |
| SEXA         | Tek Enerji X-ışını Absorpsiyometri<br>(Single Energy X-ray Absorptiometry ) |

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| sn                            | Saniye   |
| SNP                           | Tek Nükleotid Polimorfizm                                |
| SPA                           | Tek Foton Absorpsiyometri (Single Photon Absorptiometry) |
| TBE                           | Tris Borat EDTA  |
| TE                            | Tris-EDTA  |
| TEMED                         | Tetrametilendiamin                                       |
| TGF                           | Transforming Büyüme Faktörleri                           |
| TGF $\beta$                   | Transforming Büyüme Faktörü $\beta$                      |
| TSH                           | Troid Stimüle Edici Hormon                               |
| TRT                           | Tiroid Replasmen Tedavisi                                |
| $\mu/\mu\text{l}$             | Ünit/Mikrolitre  |
| UV                            | Ultraviyole Işık   |
| UTR                           | Untranslated Region                                      |
| VDR                           | Vitamin D Reseptör Geni                                  |
| VKİ                           | Vücut Kitle İndeksi                                      |
| WHO                           | Dünya Sağlık Örgütü                                      |
| $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ | Kalsitriol   |
| $\infty$                      | Sonsuz   |

## ÖZET

### Postmenapozal Osteoporozlu Hastalarda Vitamin D Reseptör Geninin Taq1, Apa1, Bsm1, Fok1 ve Tip 1 Kollajen Alfa A1 Zincir Geninin Sp1 Ve -1997 G/T Polimorfizmleri Açısından Araştırılması

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemiğin mikro mimarisinde bozulma ve artan kırık riski ile karakterize multifaktöriyel ve poligenik bir hastalıktır. İkiz ve aile çalışmaları osteoporoz patogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Vitamin D reseptör (VDR), Tip1 kollajen  $\alpha 1$  zincir (COL1A1), östrojen reseptör  $\alpha$  (ER-  $\alpha$ ) ve interlökin-6 (IL-6) genleri gibi çeşitli aday genler kemik mineral yoğunluğu (KMY) ile ilişkilendirilmiştir.

Bu çalışmaya 84 osteoporotik postmenopozal (64,48 $\pm$ 9,61 yaş) ve 45 sağlıklı postmenopozal (58,31  $\pm$ 8,61 yaş) kadın dahil edilmiş olup VDR ve COL1A1 (BsmI, ApaI, TaqI, FokI, Sp1 and -1997 G/T) polimorfizmleri genotip ve allel frekans dağılımları, KMY ve kemik biyomarkırları arasındaki ilişki incelenmiştir. Bunlara ilaveten kemik kütlesinin korunma ve devamlılığına katkı sağlayan çok sayıda çevresel faktörlerde değerlendirilmiştir. Tüm oligular polimeraz zincir reaksiyonu-parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) uygulanarak genotiplendirilmiştir. Genotip ve allel frekansları bakımından gruplar arasında, VDR ve COL1A1 gen polimorfizmlerinde anlamlı farklılık görülmedi ayrıca bu polimorfizmlerle bel omuru ve femur boyun KMY, T ve Z skoru ve kemik yeniden düzenlenme belirteçleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Çalışılan hem hasta hem de kontrol gruplarında sıklık sırasına göre VDR'ye ait "Bb", "Aa", "Tt", "FF" genotiplerinin ve COL1A1'e ait "GT" ve "SS" genotiplerinin bulunduğunu saptadık. VDR geni için hastalarda "BA" kontrollerde ise "ba" haplotiplerinin, COL1A1 geninde ise her iki grupta da "TG" haplotipinin en sık görülen haplotipler olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, gelecekteki çalışmalarda osteoporoz ile ilişkili olabileceği düşünülen genler ile polimorfizmler daha geniş çalışma gruplarında değerlendirilmelidir.

**Anahtar sözcükler:** COL1A1 Geni, Osteoporoz, Polimorfizm, Postmenopoz, VDR Geni



## ABSTRACT

### Investigation of Vitamin D Receptor; Taq1, Apa1, Bsm1, Fok1, and Type 1 Collagen Alpha 1 Chain; Sp1 and -1997 G/T Gene Polymorphisms in Postmenopausal Patients with Osteoporosis.

Osteoporosis is a multifactorial polygenic disease characterized by a reduced bone mass, which leads to micro architectural deterioration of bone tissue and increased fracture risk. Twin and family studies have shown that genetic factors play an important role along with the environmental factors in the pathogenesis of osteoporosis. Several candidate genes such as vitamin D receptor (VDR), type I collagen  $\alpha$  1 chain (COLIA1), estrogen receptor- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) genes have been associated with bone mineral density BMD.

In this study, 84 osteoporotic postmenopausal ( $64,48 \pm 9,61$  years of age) and 45 healthy postmenopausal ( $58,31 \pm 8,61$  years of age) women included to investigate the relationship between VDR and COLIA1 gene polymorphisms (BsmI, ApaI, TaqI, FokI, Sp1 and -1997 G/T), distribution of genotype and allele frequencies and BMD, as well as biochemical markers of bone remodeling. In addition to these, numerous environmental factors that contribute to the maintenance of bone mass were also taken into account. All subjects were genotyped by employing polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). There was not any significant difference in the genotype and allele frequencies of VDR and COLIA1 gene polymorphisms among groups. In addition, we did not establish a significant relationship between VDR and COLIA1 polymorphisms and lumbar spine, femur neck BMD, T score and Z score and the biochemical markers of bone remodeling. In all groups most frequently observed VDR and COLIA1 genotypes were “Bb”, “Aa”, “Tt”, “FF”, “SS” and “GT” respectively. Beside that the most frequent haplotype for VDR gene in patients was “BA $t$ ”, in controls “baT” and for COLIA1 gene in both groups it was “TG”.

In conclusion, broader sample size, and different genes and their polymorphisms that could be related to osteoporosis should also be investigated in the future studies.

**Key Words:** COLIA1 Gene, Osteoporosis, Polymorphism, Postmenopause, VDR Gene

# 1.GİRİŞ

İnsanın yeryüzünde ortaya çıkışından itibaren genetik yapısının belirlediği Maksimum Ömür Potansiyeli (MÖP) 120 yıl civarındadır. Başlangıçtan günümüze kadar bu yapının (MÖP) korunduğu sanılmaktadır. Ancak, daima olumsuz ve güç çevresel etmenlerin genetik yapıyla etkileşimi sonucu, insan ömrü hiç bir dönemde 120 yıla ulaşmamıştır. İlk insan olan *Homo habilis*'ten (2.5 milyon yıl önce), Neolitiğe kadar (8 bin yıl önce) ortalama insan ömrü 20-25 yıl civarında olmuştur. Neolitikten 20. Yüzyılın başına kadar da insanın ortalama ömrü hiçbir zaman, 45-50 yılı geçmemiştir. 21. Yüzyılın başında sanayileşmiş Batı toplumlarında ortalama ömür uzunluğu 80 yıla ulaşmıştır. Ortalama ömür uzunluğunun 80 yıla ulaşması çevresel etmenlerin ömür uzunluğuna ne denli etkili olduğunu göstermektedir. Bilimsel, teknolojik ve ekonomik gelişmişlik düzeyi arttığı sürece, yaşam standardı yükselerek insanın ortalama ömür uzunluğunun en azından 100 yılın üzerine çıkması beklenmektedir<sup>1</sup>.

Günümüzde yaşam süresinin giderek uzamasıyla, ileri yaş popülasyonu ve beraberinde getirdiği sağlık sorunları da önem kazanmaktadır. Uzayan yaşam süresi ile birlikte osteoporoz, dünyanın birçok bölgesinde önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Bu nedenle osteoporozun 2000'li yıllarda geniş halk kitlelerini ilgilendiren önemli bir sağlık sorunu olduğu dünya tıbbi tarafından kabul edilmektedir<sup>2</sup>. Osteoporoz, sadece yaşlılarda görülen bir hastalık değildir. Ancak yaşın ilerlemesine bağlı olarak, daha çok yaşlılıkta görülen fizyolojik ve hormonal bozulmayla ortaya çıkan bir olaydır<sup>1</sup>. Günümüzdeki yaşlı nüfusuna ek olarak, önümüzdeki günlerde genel nüfusun %60 oranında, 80 yaş üzeri nüfusun ise %40 oranında artacağı tahmin edilmektedir. Dolayısıyla bu durum da osteoporozun görülme sıklığını arttıracaktır<sup>2</sup>.

M.Ö. 400 yılında Hipokrat hastalığın tanrılar tarafından gönderilen bir ceza olmadığını söyleyen ilk kişidir ve günümüzdeki birçok medikal durumu ilkel metodlar kullanarak ve gözlemleyerek belirlemiştir. O zaman diliminde kadınlar ortalama 30 yıl yaşamaktaydı ve osteoporozun çok nadir olduğu sanılmaktadır. Osteoporoz ilk kez Lobstein tarafından 1829'da gözenekli kemik (porous bone) olarak tanımlanmıştır. Daha sonra 1948'de Albright 'too little bone in bone' (kemik içinde çok az kemik) tanımlamasını yapmıştır<sup>3</sup>.

Kelime anlamı olarak osteoporoz, gözenekli-delikli (porous), kemik (os) demektir. İlk yıllarda histolojik olarak normal yapısından daha fazla gözenekli hale gelmiş kemik hastalığı tanısına osteoporoz (porous bone) denilmiştir. Tıp literatürüne Fransızca'dan geçmiş olan osteoporoz, günümüzde prevalansı yaşa bağlı olarak artan, kemiğin zayıflaması ve kırık riskinin artması ile karakterize kompleks hastalıklardan birisi olup Dünya Sağlık Örgütünc (WHO) “global sağlık sorunu” olarak belirlenmiştir<sup>4,5,6</sup>.

Gerekli önlemler alınmadığında, ilerleyen yaşla birlikte kemik kırılabilirliği artmakta, günlük normal aktiviteler esnasında kemiklerde kırılmalar meydana gelmektedir. Osteoporoz sonucu, özellikle omurgayı oluşturan omurlar üzerine yapılan küçük baskılarla bile, omurlarda kırıklar meydana gelerek, büyük problemler ortaya çıkmaktadır. Kemiklerde kırıklar nedeniyle meydana gelen iş gücü kayıpları ve kırıkların tedavisinin yüksek maliyeti nedeniyle osteoporoz, önlenmesi ve tedavisi bakımından üzerinde en fazla araştırma yapılan hastalıklardan birisi haline gelmiştir<sup>1</sup>.

Osteoporoz, hormonal, çevresel, yaşam şekli (sigara içilmesi, fiziksel egzersizler gibi) ve beslenme faktörlerinin (kalsiyum alımı, alkol tüketimi) etkisi altındaki genetik faktörlerin kontrol ettiği **multifaktoriyel poligenik** bir hastalıktır<sup>6,7,8</sup>. Kemik mineral yoğunluğu (KMY) üzerine pek çok çevresel faktörün etkili olmasına karşın kemik kitlesi bakımından bireyler arasında görülen farklılıkların %50-85'i genetik nedenlere bağlıdır<sup>5,7</sup>.

Son yıllardaki çalışmalar osteoporozda ırk ve etnik köken, yaş ve pozitif aile öyküsünün rol aldığını, normal dağılım ve devamlı varyasyon gösteren bir hastalık olduğunu, bu nedenle istenmeyen koşulların belli bir eşik değerin üstünde olması halinde ortaya çıkan bir hastalık (eşik model) olduğunu göstermiştir. Genlerin kemik yoğunluğu üzerindeki etkisi iskeletin farklı yerlerinde farklı genler tarafından (yerine özgü) regüle edilebileceğini düşündürmektedir<sup>7</sup>. Şimdiye kadar osteoporozla ilişkisi olduğu düşünülen çeşitli aday genlerle ilişkili pek çok araştırma yapılmıştır.

Osteoporozla ilişkili olduğu düşünölen aday genler; Vitamin D Reseptör Geni (VDR), Tip 1 Kollajen Alfa A1 Zinciri Geni (Col1A1), Östrojen Reseptör Geni (ESR $\alpha$ ), İnterlökin Reseptör Geni (IL-R), Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) – Benzeri Protein 5 (LRP5), Androjen Reseptör Geni (AR), Progesteron Reseptör Geni (PR), Transforming Büyüme Faktörü  $\beta$  (TGF  $\beta$ ), Apolipoprotein E Geni (Apo E), Paratiroid Hormon (PTH), Paratiroid Hormon Reseptörü Geni (PTH1R) dir <sup>5,7,9,10</sup>. Son yıllarda osteoporoz genetiği ile yapılan çalışmaların çoğu özellikle **VDR**, **COL1A1** ve **ESR** genlerine ait polimorfizmler üzerinde yoğunlaşmıştır<sup>5,7</sup>.

Türk toplumunda bu aday genlerden VDR geni Bsm I, Apa I, Taq I, ve FokI ile COL1A1 geni Sp1 polimorfizmlerinin durumu araştırılmış ve Süsleyici ve ark.'nın<sup>8</sup> çalışmalarında postmenopozdaki osteoporotik kadınlarda VDR geni Taq I polimorfizmi ile KMY arasında önemli bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, bugüne değin çalışılan aday genlerden diğer toplumlarda, osteoporozla kuvvetli bağlantıları olduğu saptanan, VDR geni TaqI, ApaI, BsmI, FokI polimorfizmleri ve COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmlerinin, Çukurova bölgesindeki durumunun taranması ve haplotip dağılımlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. OSTEOPOROZ

### 2.1. Osteoporozun Epidemiyolojisi

Osteoporoz düşük kemik kütlesi ve kemiğin mikro mimari yapısında bozulma ile karakterize kronik, progressif bir hastalık olup, orta yaşlı ve yaşlı erişkinlerdeki kırıkların majör sebebidir. Kırıkların ise yaşam kalitesi üzerine olumsuz etkisi bulunmaktadır<sup>1,11,12</sup>. Osteoporoz önemli bir halk sağlığı sorunudur<sup>12</sup>. Elli yaş ve üzerindeki beyaz (Caucasian) kadınların %50'si, erkeklerin ise %20'si yaşamlarının bir döneminde klinik bir kırık ve kırıkla ilişkili morbidite ile karşılaşmaktadır<sup>12</sup>. Osteoporotik kırıklar önemli sonuçlara yol açar. Vertebra ve kalça kırıklarının prevalansı ilerleyen yaşla birlikte artar. Vertebra kırığı, en sık rastlanan osteoporotik kırık tipidir. Her üç kadından birinde kırık saptanabilir. Vertebra kırığı, beraberinde; ağrı, yatağa bağımlılık ve aktivitede kısıtlanma, boya kısalma, kamburlaşma, solunum zorluğu, hayat kalitesinde bozulma, artmış mortalite ve artmış maliyeti getirmektedir. Kalça kırıkları bu hastalarda başka önemli bir sorundur. Çoğunlukla cerrahi girişim gerektirmeleri nedeniyle önemli bir morbidite ve mortaliteye yol açarlar<sup>13</sup>.

Osteoporozun en sık görülen formu olan primer osteoporoz, genellikle 45 yaştan sonra başlar ve yaş ilerledikçe görülme insidansı artar. 50 – 60 yaş arasında kadınlarda prevalans %40-55, 60-70 yaş arasında %75, 70 yaş üzerinde ise %85-90 olarak bildirilmektedir. Osteoporozun kırıkla olan bağlantısı özellikle yaşlı populasyon için önemli bir toplum sağlığı sorunudur. Kemik mineral yoğunluğu azaldıkça kırık riski artar. İngiltere'de her yıl 60.000 kalça kırığı, 50.000 radius kırığı ve 40.000 klinik olarak tanı konmuş vertebra kırığı görülmektedir. Bu rakamlar ABD için sırasıyla 300.000, 500.000, 200.000'dir. Bunlara ek olarak, özellikle osteoporozla bağlı pelvis ve humerus kırığı gibi yaşlılarda önemli bir morbidite sebebi olan kırıkların toplamı İngiltere'de 250.000, ABD'de ise 1.500.000 dolayındadır<sup>3</sup>. Osteoporozla bağlı kırık insidansında populasyonlar ve bölgeler arasındaki farklılıklar önemli rol oynar. İskandinavya ve Kuzey Amerika toplumlarında kalça kırığı riski, Güney Avrupa populasyonlarına göre yaklaşık 7 kat daha fazladır<sup>12</sup>.

Özetle Asyalı ve beyaz ırk (Caucasians) kadınlarda osteoporoz yaygın iken, Afrika kökenli Amerikalı siyah kadınlarda nadir olarak izlenmektedir<sup>3</sup>.

Türkiye’de osteoporozun görülme sıklığına bakıldığında; sağlıklı 849 kadını kapsayan bir çalışmada, 20-39 yaş grubunda kemik-mineral yoğunluğu (KMY) değerleri normal bulunurken, 40-59 yaş grubunda tüm lokalizasyonlarda belirgin olarak kemik mineral yoğunluğunda azalma olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda, Türk kadınının kemik mineral yoğunluğunun, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa referanslarına göre %5 oranında daha düşük olduğu belirlenmiştir<sup>2</sup>.

## **2.2. Osteoporozun Patofizyolojisi**

### **2.2.1. Kemik Yapısı**

Kemik vücut için destek oluşturmasının yanında, iskelet sistemi, kalsiyum, fosfat ve mineral deposu olarak görev yapar. Kemik doku, hücreler ve ara maddeden (matriks) yapılmıştır. Kemik dokunun esas hücreleri olan osteoblast ve osteoklastlar mineralize olmuş kemik matriksteki lakünaların içinde bulunurlar. Diğer hücreler ise osteositler, makrofajlar, kemik dokunun öncül hücreleri ve hematopoetik serinin esas hücreleridir<sup>1,3</sup>.

**Osteoblastlar:** Kemik formasyonunu (oluşumu) sağlayan, kemik matriksi sentezleyen ve mineralizasyonu düzenleyen hücrelerdir. Daha önceden osteoklastlar tarafından rezorbe edilen kemik yüzeylerinde yeni kemik oluştururlar. Osteoblast kaynaklı kalsiyum ve fosfat birikimi kemik yapımında çok önemli olan kollajen mineralizasyonunda rol oynamaktadır.

**Osteoklastlar:** Kemik rezorpsiyonundan (yıkımından) sorumlu çok çekirdekli dev hücrelerdir. Monosit yolu ile hematopoetik kök hücrelerinden köken alır<sup>1</sup>. Matriks çözücü, kalsiyum ve fosfat serbestleştirici etkileri vardır. PTH ve 1,25 vit D<sub>3</sub> osteoklastik aktiviteyi stimüle ederken, kalsitonin inhibe eder. Artmış osteoklastik aktivitenin belirleyicisi idrar hidroksiprolin ve pridinolin miktarlarıdır. Her ikisinde kollajen yıkım ürünleridir<sup>3</sup>.

**Osteositler:** Osteositler en basit tanımları ile kendilerini, kendi sentezledikleri kemik matriks içine hapsetmiş olan osteoblastlardır. Her bir osteosit, kemik lamellar yapısı arasına yerleşmiş olan laküna adı verilen boşluklarda yer alır<sup>14</sup>.

Kemik ara maddesi, organik ve inorganik maddelerden oluşur. Organik matriksin % 90'ı protein kökenli kollajen ipliklerden meydana gelmiştir. Organik matriksin geri kalanını proteoglikanlar, alkalen fosfataz, osteonektin gibi glikoproteinler ile osteokalsin gibi gamma karboksi glutamik asit içeren proteinler meydana getirir. Bunlar kemik matriksinin esnekliğini sağlar ve hepsine birden **Osein** de denir. İnorganik matrikste en çok Ca olmak üzere P, Mg, F gibi mineraller vardır<sup>14</sup>. Vücudumuzdaki kalsiyumun %98'i, fosforun % 75'i kemiklerde depo edilir. Matriksteki mineraller madensel tuzlar halinde bulunur. Madensel tuzlardan hidroksiapatit kristalleri  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  (en fazla) % 80-85,  $CaCO_3$  %10,  $Mg PO_4$ , CaF ve diğerleri % 5 oranında bulunur<sup>1,14</sup>.

### 2.2.2. Kemik Yeniden Şekillenmesi (Remodelling)

Kemik doku canlı ve dinamik bir dokudur; bir taraftan emilime (**rezorpsiyon**) uğrarken, diğer taraftan emilime uğrayan kemik dokunun yerine yenisi oluşturularak, sürekli yenilenir. Bu işleme kemiğin yeniden yapılanması (**remodelling**) veya kemik dönüşümü (**turnover**) adı verilir ve 30-40 yaşlarında bir bireyin bir yılda sünger (trabeküler) kemik dokusunun % 25'i, sert (kortikal) kemik dokusunun % 3'ü yenilenmektedir. <sup>3,4,15,16</sup>.

Kemik yeniden oluşumu (remodelling) beş aşamada gerçekleşir.

**1. Aktivasyon:** Bu fazda remodelling oluşturulacak olan alandaki üniteler aktive edilirler. İlk olarak faaliyet gösteren hücreler osteoklastlardır. Osteoklastlar önceden miktarı belirlenmiş olan miktardaki kemik hacmini rezorbe etmek üzere bu alana yönelmişlerdir.

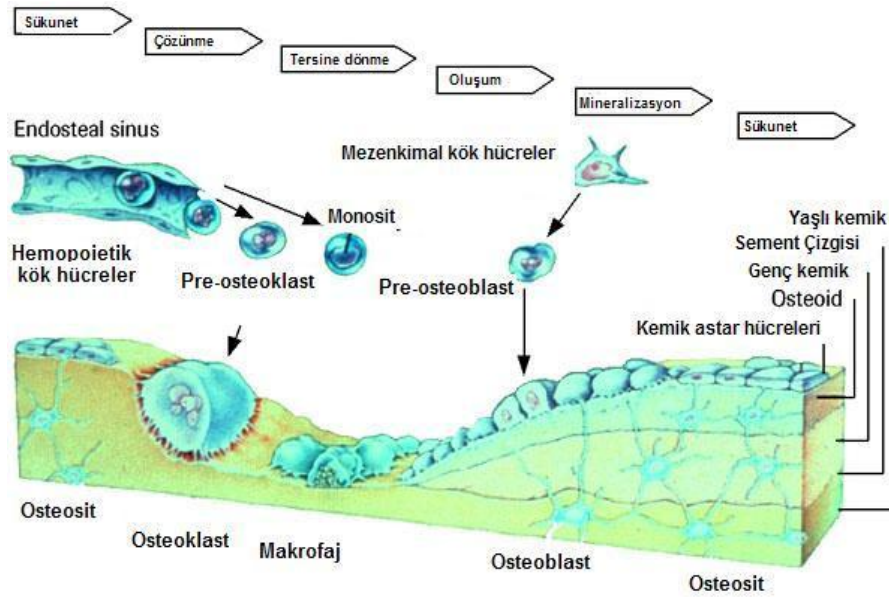
**2. Rezorpsiyon:** Aktive edilmiş olan osteoklastların kemik yıkımını gerçekleştirdiği aşamadır. Osteoklastlar, yapıları içinde yer alan, organelleri aracılığı ile kemik bölgesine tutunur ve salgıladıkları proteolitik enzimler ile kemik yıkımını gerçekleştirirler.

**3. Geri dönüşüm:** Osteoblastların rezorpsiyon alanına yönlendirilmesine başlanır. Dönüşüm fazında osteoklastların aktivite gösterdiği alanda, bazı mononükleer-makrofaj benzeri hücrelerin aktivasyonu ile bir sement hattı oluşturulur. Oluşturulan bu hat

rezorpsiyon alanının sınırlarını belirlemesi itibariyle önemlidir. Bu oluşumun ayrıca rezorpsiyonu sonlandıran sinyaller ürettiği de sanılmaktadır. Sonuçta oluşan yeni kemik doku ile eski doku birbirlerinden ayrı tutulurlar.

**4. Formasyon:** Bu aşamanın etkin hücreleri osteoblastlardır. Bunlar preosteoblastların uyarılarak evrimi sonucunda oluşurlar, kemik matrisi sentezini gerçekleştirirler. Sonra bunların bir kısmı osteosit yapısını alırlar. Formasyon aşamasındaki osteoblast aktivitesi ortalama 2-3 ay kadar sürmektedir. Bu aşamada oluşan osteoid dokunun mineralizasyonu gerçekleşir. Mineralizasyon süreci de yaklaşık 10 gün kadar sürmektedir.

**5. Sukûnet:** Bu aşamada remodelling alanında oluşan kemik doku yeni bir remodelling siklusuna kadar sukûnet içerisinde kalmaya devam eder. Çocuklarda kemik döngüsünün hızı yıllık %20'lere ulaşabilmekte iken erişkinlerde bu hız yıllık olarak %3-5 gibi oranlara düşmektedir. Erişkin bir insanda kemik döngüsü 3-12 ay (ortalama 6 ay) sürmektedir. Her bir BMU (basic multicellular units) içerisinde gerçekleşen olayların diğer ünitelerden bağımsız olduğu, ve bunun temelinde de bazı lokal kontrol mekanizmalarının yattığı öne sürülmektedir (**Şekil 1**).



**Şekil 1:** Kemik hücreleri ve yeniden oluşumu<sup>17</sup>

Kemik remodellingi, esas itibariyle kemiğin endosteal yüzeyinde gerçekleşmektedir. Trabeküler kemik, kortikal kemiğe oranla remodelling açısından daha aktif olan kemik yapıdır. Kemik döngüsü kapsamında yer alan kemik yapımı ve



yıkımı birbirleri ile eşleştirilmiş olan iki fenomendir. İdeal denge pozisyonu, yapım ve yıkımının birbirine eşitlendiği durumdur<sup>14</sup>.

Kemik yıkımı ve yapımı farklı yaşlarda, farklı hızlarda gerçekleşerek yaşam boyu devam eder<sup>1</sup>. İnsanda kemik kitlesi [kemik mineral yoğunluğu, (KMY)] doğumdan itibaren artmaya başlayarak hayatın 3. veya 4. dekatlarında maksimuma ulaşır (doruk kemik kitlesi) ve izleyen yıllarda azalır<sup>1,14,15</sup>. Sünger kemik doku yapımı 10-20 yaşları arasında en üst seviyeye çıkarken, kadınlarda menopoz döneminden sonra kemik kaybı hızlanır. Yaklaşık 30 yaşında kemik yıkımı ve yapımı dengededir. 40-50'li yaşlarda kemik kaybı başlar ve bu kayıp yaşam boyu devam eder. Maksimum kemik kitlesine ulaşma ve bunun korunması büyük oranda genetik faktörler ile daha az oranda bireyin beslenme durumu ve fiziksel aktivitesiyle ilişkilidir<sup>1</sup>.

### **2.2.3. Kemik Oluşum Ve Yıkım Göstergeleri**

Kemik mineral yoğunluğunun (KMY) ölçülmesinin yanında, kemik döngüsünün biyokimyasal göstergeleri de dolaylı yoldan kemik kaybının hızı hakkında fikir vermekte ve böylece risk tayininde, tedavi seçiminde, kemik kaybının ve tedavinin etkinliğinin takibinde faydalı olmaktadır. Bu amaca yönelik olarak kemik kökenli moleküllerin serum veya idrardaki miktarlarının tespiti çalışmaları yoğun olarak kullanılmaktadır. Bunlardan özellikle osteokalsin, alkalin fosfataz (ALP), tartarata dirençli asit fosfataz (TRAP) ve tip I kollajen telopeptidler (NTX, CTX) sıklıkla çalışılan moleküllerdir<sup>15</sup>.

Osteoblastlar tarafından yeni kemik yapımı, osteoklastlar tarafından ise eski kemiğin yıkılması “kemik dönüşümünü” (turnover) belirler. Bu iki aktivite yeniden yapılanma ünitesi içinde birbiri ile sıkı sıkıya bağlantılıdır. Yeniden yapılanma üniteleri içinde; yıkım ve yapım arasındaki denge ve belirli bir kemik yüzeyinde belirli bir zaman dilimi içinde aktive olan “yeniden yapılanma ünite” sayısı (aktivasyon frekansı) kemik kütlesini etkileyen en önemli iki faktördür.

Kemik matriksinin oluşum ve yıkım oranı, hem kemiğin oluşumuna hem de yıkımına yol açan hücrelerin alkalin ve asid fosfatazlar gibi enzimatik aktivitelerinin ölçümüyle değerlendirilebilir. Kemik yapım ve yıkımı enzimatik aktiviteler yanında,

kemik oluşumu ve yıkımı sırasında dolaşıma salınan kemik matriks komponentlerinin ölçümleri ile de değerlendirilebilir.

Bu göstergeler farklı duyarlılık ve özgüllüğe sahiptirler ve bunlardan bazıları henüz tam olarak incelenmemiştir. Bu göstergelerden hiçbiri hastalığa spesifik değildir, fakat bu göstergelerden biri, metabolik bir kemik hastalığındaki kemik döngüsünü değerlendirmede diğerinden daha değerli olabilir. Mesela, serum osteokalsini osteoporozda kemik oluşumlarındaki değişiklikleri değerlendirmede serum alkalin fosfatazdan daha değerli olabilir. Aksine, Paget hastalığında bunun tersi doğrudur. İdrarda piridinolin atılımının artması son zamanlarda kemik yıkımının önemli bir göstergesi olarak kullanılmakta olup özellikle metabolik kemik hastalıklarının klinik araştırılmasında yararlı olmaktadır.

Biyokimyasal belirleyiciler yapım ve yıkım belirleyicileri olarak ikiye ayrılır. Yapım ve yıkım arasındaki dengenin korunduğu hastalıklarda iki grup da kemik dönüşüm hızını yansıtır<sup>18</sup>.

### **Kemik Oluşumunun Biyokimyasal Göstergeleri**

**Total Alkalin Fosfataz ve Kemiğe Spesifik ALP:** ALP'ın kemik (osteoblast), karaciğer, böbrek ve plasenta kaynaklı izoenzimleri vardır. Karaciğer fonksiyonları normal olan sağlıklı kişilerde total ALP'ın yaklaşık %50'si kemik kökenlidir. Kemiğe spesifik ALP, osteoblastların membranında lokalizedir ve osteoblast fonksiyonu, kemik yapımı ve mineralizasyonu gösterir. Postmenopozal dönemde kemik döngüsündeki artışa bağlı olarak serum ALP normalin 2 katına kadar yükselebilir. Osteomalazi, Paget hastalığı, primer hiperparatiroidi ve kemik metastazlarında ALP artmaktadır<sup>16,18</sup>.

**Osteokalsin :** Osteokalsin, kemik Gla-protein olarak ta bilinen kemik ve dentin için özgün kollajen olmayan bir proteindir. Bununla beraber tam fonksiyonu bilinmemektedir. Osteokalsin büyük oranda osteoblastlar tarafından sentez edilir ve kemiğin hücre dışı matriksine dahil olur. Ancak, osteokalsinin yeniden sentezlenen bir fraksiyonu dolaşıma salınır ve RIA ile ölçülebilir.

**Prokollajen I Ekstansiyon Peptidleri:** Tip I kollajenin hücre dışı oluşumu süresince, fibril yapısı oluşturmadan önce, aminoterminal (PINP) ve karboksiterminal (PICP) ekstansiyon peptidleri molekülden ayrılır. Bu peptidler kanda dolaştıklarından kemik oluşumu için yararlı bir gösterge olarak kullanılırlar. Çünkü kollajen, kemik matriksinde en fazla bulunan organik bileşendir.

## **Kemik Yıkım Göstergeleri**

**Açlık İdrar Kalsiyumu, Hidroksiprolin:** Sabah örneklerinde ve kreatin ekskresyonu ile düzeltilmiş açlık idrar kalsiyum ölçümleri en ucuz kemik yıkım ölçümüdür. Böyle bir ölçüm kemik yıkımındaki çok belirli değişimleri göstermede yararlı olabilirse de duyarlılığı yetersizdir. Açlık idrar kalsiyum düzeyi hem kemik yıkımı sırasında açığa çıkan kalsiyum miktarını hem de östrojen ve kalsiyumu düzenleyen hormonların etkisi ile renal kalsiyum metabolizmasındaki değişiklikleri yansıtır.

Biyolojik sıvılarda bulunan endojen hidroksiprolinin çoğu kollajenin çeşitli şekillerinin yıkımından kaynaklanır. İnsan kemik dokusunda kollajen turnoveri yumuşak dokudan daha fazla olup idrardaki hidroksiprolin atımının yarısını oluşturur ve kemik yıkımının bir göstergesi olarak kabul edilir. Gerçekte idrar hidroksiprolin atımının kollajen metabolizması ile ilişkisi karmaşıktır

**Piridinolin ve Deoksipiridinolin:** Piridinolin (Pyr) ve deoksipiridinolin (D-Pyr) olgun kollajende bulunan iki çapraz bağıdır. Bu bağlar hücre dışı matriks içinde kollajen zincirlerini stabilize ederler. Piridinolin kemik ve kartilaj matrikste ve de az miktarda bazı bağ dokularında bulunur. Deoksipiridinolin önemli miktarda sadece kemik kollejeninde bulunur.

**Hidroksilizin:** Hidroksilizin kollajen ve kollajene benzer kısımlar içeren proteinlere özgü bir amino asittir. Hidroksiprolin gibi kollajen yapımında yeniden kullanılmaz. Hidroksilizin kısmen galaktozil hidroksilizin (GHYL) kısmen de glukozil-galaktozil-hidroksilizin (GGHYL) olarak bulunur. Bu iki formun toplam miktarı ve oranları kemikte 1:7, deride 1.6:1'dir. Hidroksiproline göre daha duyarlı bir yıkım parametresidir.

**Tartrat Dirençli Asit Fosfataz (TRAP):** Kemik yıkımının diğer bir göstergesidir. Asit fosfataz kemik, prostat, trombosit, eritrosit ve dalakta bulunan bir lizozomal enzimdir. Bu izoenzimler duyarlı ve özgül olmayarak elektroforezle ayrılabilir. Kemik asit fosfatazı L(+)-tartarata dirençlidir. Normal plazmada TRAP plazma izoenzim 5'e uyar ve kısmen kemikten kaynaklanır . Osteoklastlar dolaşıma salınan TRAP içerirler. Plazma TRAP'ı artmış kemik döngüsü olan çeşitli metabolik kemik hastalıklarında ve oofektomiden sonra artar. Yine de üriner hidroksiprolinden daha duyarlı bir gösterge olup olmadığı belirsizdir. TRAP'ın kemik izoenzimine karşı spesifik olarak yönelmiş

monoklonal antikorlar kullanılarak yeni immunoassayler osteoporoz vakalarında osteoklast aktivitesinin değerlendirilmesinde yararlı olabilir<sup>18</sup>.

**Beta-Crosslaps (Beta-CTx):** Beta-Crosslaps (Beta-CTx), Tip I kollajenle ilgili fragmanlardan biridir. C terminal telopeptidlerde bulunan alfa-aspartik asit kemiğin yaşlanması ile beta form aspartik asite dönüşür. Bu izomerize telopeptitler (Beta-CTx) kemikteki Tip I kollajen yıkımı için spesifiktir. Serum Beta-CTx düzeyleri güçlü bir sirkadiyen değişim gösterir. Serum CTx düzeyleri; kemik kayıp hızının belirlenmesi, kalça kırık riskinin hesaplanması, hızlı kemik kaybeden bireylerin belirlenmesi ve tedavilerinin planlanması, hormon replasman ve bifosfonat tedavilerinin takibi ile tedavi etkinliğinin izlenmesi, metabolik kemik hastalıkları tedavilerinin takibi, tedavide kullanılan ilaç dozlarının ayarlanması, en uygun tedavi biçiminin seçilmesi, Kemik metastazlarının ve Paget's hastalığının tedavisinin takibinde kullanılır. Çeşitli çalışmalarda kemik rezorpsiyonunun arttığı hastalarda serumda Beta-CTx'in arttığı ve rezorpsiyon-inhibisyon tedavisi sonrasında da normale döndüğü gösterilmiştir<sup>19</sup>.

**Kemik yapımı ve yıkımını düzenleyen birçok etmen vardır.**

1- Vücuttaki kalsiyumu düzenleyen hormonlar.

PTH (Parathormon), 1.25 - dihidroksivitD, Kalsitonin.

2- Sistemik hormonlar

İnsülin, Büyüme Hormon (Growth hormonu), Glukokortikoidler.

3- Lokal etmenler

Cinsiyet hormonları, Tiroksin hormonları, Somatomedinler, kemik, deri ve büyüme faktörleri, Prostaglandin E2, Transforming büyüme faktörleri (TGF), Lenfokinler, kemik yapısını oluşturan proteinler.

4- İyonlar

Kalsiyum, Fosfat, Flor, Magnezyum

5- Yaş, genetik yapı, cinsiyet ve vücut yapısı (ince, narin yapılı olma)

6- Alınan ilaçlar ve bazı hastalıklar

7- Sigara, alkol, beslenme alışkanlığı, yaşam biçimi ve egzersiz.

Kemik remodelling üzerine etkili olan sistemik faktörler lokal faktörlerin sentezini, aktivasyonunu, etkinliğini ve bunların bağlayıcı proteinlerinin sentezini modüle ederler. Lokal faktörler ise, hücre metabolizmasına doğrudan etki ederler. Osteoblastik ve osteoklastik hücrelerin lokal faktörler tarafından daha güçlü olarak modüle edildiği bilinmektedir. Hormonların muhtemel etkileri arasında lokal faktörlere doku spesifitesi kazandırmak belki de en önemlisidir<sup>14</sup>.

Kemik yapım ve yıkımını düzenleyen etmenlerden birinde meydana gelen değişme ve düzensizlikler, daha erken yaşlarda ve daha fazla kemik yıkımına neden olarak osteoporoz riskini artırır<sup>3,4</sup>.

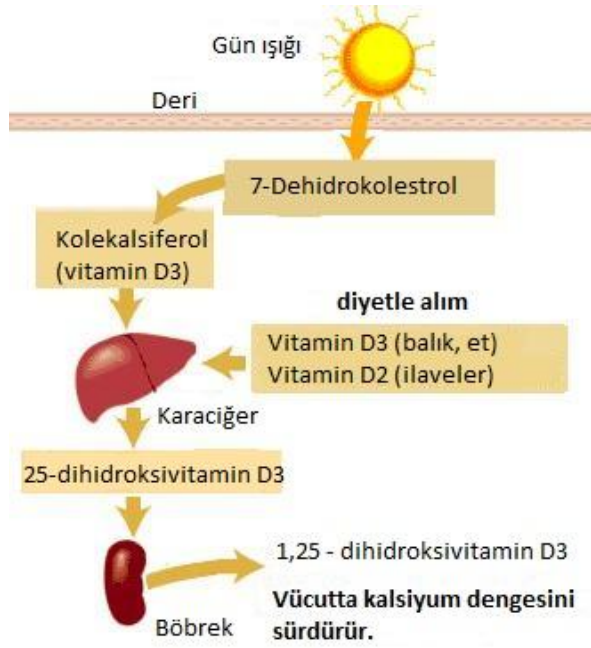
Vücuttaki kalsiyumu düzenleyen hormonlardan biri olan D vitamin'inin eksikliği osteoporoz gelişiminde önemli bir parametre olup D vitaminin biyosentezi çeşitli basamaklardan oluşmaktadır.

#### 2.2.4. Vitamin D ve Biyokimyası

D vitamini, hormon benzeri fonksiyonları olan bir grup steroldür<sup>20</sup>. D vitamini steroid yapıda bir prohormon (ön hormon) olarak kabul edilebilir<sup>21</sup>. Yağda eriyen vitaminler arasında bulunmaktadır<sup>20</sup>. Vücuttaki metabolik işlemlerden sonra aktif hale gelen D vitaminin en belirgin biyolojik eylemi barsaklardan kalsiyumun emilmesini sağlamak olmakla birlikte hemopoietik hücreler, epidermal hücreler, pankreas adacık hücreleri, kas hücreleri, nöronlar gibi pek çok değişik doku ve sistemin hücrelerinde reseptörlerinin olması bu vitamin-hormonun kalsiyum homeostazı dışında da önemli işlevleri olduğunu telkin etmektedir<sup>21</sup>.

D vitamininin en önemli etkisi kalsiyum homeostazı ve kemik sağlığı üzerinedir.

Vitamin D, mayada ve mantarlarda ergosterolden (provitamin D<sub>2</sub>) UV ışık etkisiyle türemiş **ergokalsiferol (Vitamin D<sub>2</sub>)** ile hayvanlarda deri altındaki yağ dokuda 7-dehidrokolesterolden (provitamin D<sub>3</sub>) UV ışık etkisiyle türemiş **kolekalsiferolün (Vitamin D<sub>3</sub>)** ortak adıdır (**Şekil 2**)<sup>21,22,23</sup>.



Şekil 2: Vitamin D metabolizması<sup>24</sup>

İnsanlarda ve yüksek hayvanlarda deri altı yağ dokusunda 7-dehidrokolesterolün fotolizi ve diyetle ağız yoluyla alım olmak üzere başlıca iki vitamin D kaynağı vardır. Vitamin D<sub>2</sub>, mantar ve mayada fazla miktarda bulunur; vitamin D<sub>3</sub> en çok balıkların karaciğer yağlarında, az miktarda yumurta sarısı, süt ve tereyağında bulunur. Vitamin D ısıya dayanıklıdır ve pişirilmekle parçalanmaz<sup>22,23</sup>.

Diyetle alınan vitamin D<sub>2</sub> ve vitamin D<sub>3</sub>, ince bağırsakta misellere katılırlar ve proksimal ince bağırsaktan emilirler. Emilen vitamin D<sub>2</sub> ve vitamin D<sub>3</sub>, spesifik bir globuline bağlı olarak kanla karaciğere taşınır.

Vitamin D<sub>3</sub>, karaciğer hücresi mikrozomlarında spesifik bir vitamin D<sub>3</sub>-25-hidroksilaz tarafından 25 nolu pozisyonda hidroksillenir; 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub> oluşur: 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>, vitamin D'nin kanda bulunan depo şeklidir; fizyolojik konsantrasyonda hedef dokular üzerine direkt etkisi yoktur. 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>'ün önemli bir kısmı enterohepatik dolanıma girer ki enterohepatik dolanımda bir bozukluk, vitamin D eksikliğine yol açabilir.

25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>, böbrek tubuluslarında, kemikte ve plasentada bulunan spesifik bir mitokondrial enzim (25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hidroksilaz) etkisiyle 1 nolu pozisyonda hidroksilasyona uğrar ve en güçlü vitamin D metaboliti olan 1 $\alpha$ ,25-

dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> (**aktif vitamin D<sub>3</sub>, kalsitriol**)'e dönüştürülür. 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>, bir başka mitokondrial enzim etkisiyle 24 nolu pozisyonda hidroksile olabilir ve 24,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>'e dönüşebilir:

1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>'ün oluşması, parathormon, serum fosfat düzeyi ve kendi düzeyi tarafından düzenlenir. Serum Ca<sup>2+</sup> düzeyinin normal olduğu durumlarda 1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> düzeyi ile 24,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> düzeyleri yaklaşık olarak birbirine eşittir. Hipokalsemi durumunda paratiroidlerden parathormon salıverilişi artar; parathormon, böbreklerde 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hidroksilaz aktivitesini ve dolayısıyla 1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> oluşumunu artırır; sonuçta 24,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> düzeyi oransal olarak azalır. Hipofosfatemi durumu, böbreklerde 1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> oluşumunu direkt olarak uyararak aynı sonuca neden olur. Hiperfosfatemi ve üremi durumlarında böbreklerde 1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> oluşumu inhibe olur.

Vitamin D'nin genel etkisi, kalsiyum ve fosforun organizmaya alınışını ve organizmada tutulmasını artırmak, onların kullanılması ile kemik mineralizasyonunu sağlamaktır<sup>21,22</sup>.

1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> (aktif vitamin D<sub>3</sub>), kalsiyumun ince bağırsaktan emilimi için gerekli olan ince bağırsak kalsiyum bağlayıcı proteininin sentezini ve kalsiyuma bağımlı ATPaz aktivitesini artırarak kalsiyumun ince bağırsaktan emilimini artırır; belirlenemeyen mekanizmalarla bağırsaktan fosfat emilimini artırır. 1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> (aktif vitamin D<sub>3</sub>), kemik kollajeninin çapraz bağlarının oluşmasını etkiler, kemiğin kalsiyum bağlayıcı proteini olan osteokalsini artırır ve böylece kemik dokuların mineralizasyonunu sağlar. 1 $\alpha$ ,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> (aktif vitamin D<sub>3</sub>), böbrekte kalsiyum ve fosfat geri emilimini artırır, fakat böbrekte fosfat geri emilimini artırıcı etkisi mutlak olarak parathormon tarafından maskelenir. Bu etkiler sonucunda serum kalsiyum düzeyi normalleşir, parathormon ve dolayısıyla 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hidroksilaz aktivitesi azalır.

24,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>'ün de ince bağırsaktan kalsiyum emilimini arttırıcı etkisi vardır; fakat bu madde normal kemik mineralizasyonunu ve mineralize olmuş

kemikte ve kırıkta bulunan başlıca kalsiyum şekli olan hidroksiapatit sentezini artırarak serum kalsiyum ve fosfat düzeyini düşürür.

Hiperfosfatemide ve üremide durumlarında böbreklerde  $1\alpha,25$ -dihidroksi vitamin  $D_3$  oluşumunun inhibe olmasına bağlı olarak ince bağırsaktan kalsiyum emilimi minimal olur; ince bağırsakta fosfat şelatlayıcıların verilmesi suretiyle serum fosfat düzeyi düşürülünce  $1\alpha,25$ -dihidroksi vitamin  $D_3$  sentezi ve dolayısıyla kalsiyum emilimi artırılabilir.

Vitamin D eksikliği biyokimyasal olarak hipokalsemi ve hipofosfatemide neden olurken klinik olarak iskeletin gelişmesi döneminde raşitizm; iskelet gelişimi tamamlandıktan sonra osteomalazi ile sonuçlanır. Vitamin D ayrıca yetişkinlerde iskelet bütünlüğünün korunması ve devamlılığı açısından da önemlidir <sup>6,21,22</sup>.

### **2.2.5. Osteoporozun Sınıflandırılması**

Patogenetik nedenlere göre osteoporoz iki gruba ayrılır.

**1-** Primer osteoporoz; kendi arasında üçe ayrılarak incelenir.

a- Menopoz sonrası osteoporoz (Tip I)

b- Senil (yaşlılığa bağlı) osteoporoz (Tip II)

c- İdiyopatik (nedeni bilinmeyen) juvenil ve yetişkin tip osteoporoz

**2-** Sekonder osteoporoz.

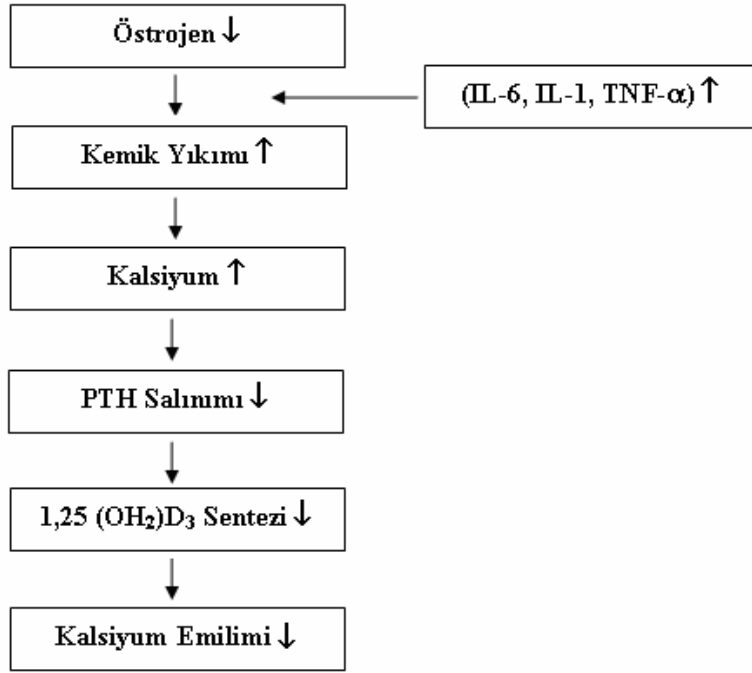
Osteoporoz yapan ilaçlar, malign tümör, endokrin (iç salgı bezi), kollajen, gastrointestinal, romatolojik, böbrek ve karaciğer hastalıkları ile hareketsizlik gibi nedenlere bağlı ortaya çıkan osteoporoz bu grup altında toplanır<sup>4,7</sup>.

Osteoporoz, birçok genetik ve çevresel etmenlerin etkileşimi sonucunda ortaya çıkmaktadır ve bu yüzden hastalığın genetik yönünün (patogenez) anlaşılması zorlaşmaktadır<sup>4,8</sup>. Ayrıca, osteoporozda tüm iskeleti oluşturan kemiklerde aynı düzeyde değişiklik meydana gelmez. Örneğin; omurlarda ve kalça kemiklerinde kemik kitlesi kaybı çok olurken, üyelerdeki kemiklerde az olabilmektedir. Osteoporik kırıklar yaşla artmaktadır ve kafatası hariç iskeletin her yerinde görülebilmektedir<sup>7</sup>.



**Menopoz sonrası osteoporozun (Tip I) özellikleri;** 50-65 yaşlarında görülür. Sünger kemik dokusunda kayıp fazladır. Kemik kaybı hızlıdır ve kemik emiliminde artış vardır. Paratiroid bezinin fonksiyonu azalmıştır. En çok kemik kırığı omurlarda ve ön kol kemiğinin distal bölgesindedir. Kadın erkek oranı 6:1'dir. Kadınlarda bu kadar fazla görülmesinin nedeni menopozdur<sup>3,4</sup>. Kadınlarda postmenopozal osteoporoz, menopozdan sonra 15-20 yıl içinde görülmektedir. Menopozdan sonra kadınlar östrojen eksikliğine bağlı olarak hızlı bir şekilde trabeküler kemik kaybına uğrarlar<sup>25</sup>. Menopozdan sonraki ilk 5 yılda bu kayıp, erkeklere oranla kadınlarda 6 kat daha fazladır. Kemik kaybı ilk 5 yılda %11, sonraki 20 yılda %5 olarak gerçekleşir<sup>26</sup>. Postmenopozal kadınlarda menopozu girmemiş yaşlarına göre 3 kat daha hızlı trabeküler kemik kaybı görülmektedir, buna karşılık kortikal kemik kaybı hafifçe artmıştır. En önemli klinik bulgular omurga, kalça ve distal ön kol kırıklarıdır. Ayrıca perialveolar kemik kaybının artmasına bağlı diş kaybı da oldukça sık görülür. Kemik kaybının hızı menopoz dönemindeki pik kemik yoğunluğu ve risk faktörlerine göre değişmektedir. Östrojenin kemik yıkımına neden olan sitokinleri inhibe ettiği, diğer taraftan da kemik yapımında rolleri olan sitokinleri arttırdığı düşünülmektedir. Postmenopozal osteoporozda östrojen hormonunun azalmasına bağlı olarak, kemik yıkımını uyarıcı interlökin-1, interlökin-6 ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  seviyesi yükselir. Böylece kemik yıkımı artar ve kanda kalsiyum seviyesi hızla yükselerek idrarla fazla miktarda kalsiyum kaybedilmeye başlar. Kanda artan kalsiyum, paratiroid hormon (PTH) sekresyonunun azalmasına, PTH sekresyonunun azalması da 1,25-(OH) $2D_3$  yapımının azalmasına neden olur. Azalmış 1,25-(OH) $2D_3$  nedeniyle kalsiyum emilimi bozulur ve bu durum kemik kaybının artmasına neden olur (Şekil 3)<sup>25</sup>.

Tedavi yöntemi olarak östrojen verilen kadınlarda, kırık görülme sıklığının azaldığını gösteren çok sayıda çalışma vardır. Son bilgilerde, uzun süreli hormon replasman tedavisi (HRT) alanlarda, sünger kemiklerde belirgin ve devamlı bir artış olduğu ifade edilmektedir. Piko Eiken ve ark.'nın<sup>27</sup> 10 yıllık takibi kapsayan çalışmalarında, östrojen tedavisi alan kadınlarda kontrol grubuna göre lomber bölgede %13,1 daha fazla kemik kütlesi olduğu saptanmıştır. Ayrıca progesteronun da kemik yapımını uyarıcı etkisi vardır ve östrojenin varlığı ile bu etki daha da güçlüdür<sup>2</sup>.



Şekil 3: Östrojen eksikliğinin kemik yıkımı ve kalsiyum emilimi üzerine etkisi<sup>25</sup>

**Dünya Sağlık Örgütü osteoporoz ile ilgili 4 tanı kriteri kabul etmiştir.**

**1- Normal kemik yoğunluğu:** Kemik mineral yoğunluğu veya kemik mineral içeriği genç erişkin ortalama değerlerine göre **1 standart sapmadan (SD) daha az** sapma gösterenler.

**2- Düşük kemik kitlesi (Osteopeni):** Kemik mineral yoğunluğunun genç erişkin ortalama değerlerine göre **- 1SD ile - 2.5 SD** arasında olduğu değerler.

**3-Osteoporoz:** Kemik mineral yoğunluğunun genç erişkinlerin ortalama değerlerine göre **-2.5 SD ve daha düşük** olduğu değerler.

**4-Yerleşmiş osteoporoz:** Kemik mineral yoğunluğu genç erişkin ortalama değerlerine göre **-2.5 SD veya daha fazla düşük** olduğu değerler ve beraberinde bir veya daha çok kırığın eşlik etmesi<sup>3,28</sup>.

**Senil (yaşlılığa bağlı) osteoporozun özellikleri;** 75 yaşından sonra görülür. Sert kemik dokuda kayıp fazla olmak üzere, her ikisinde de kemik kitle kaybı vardır. Kemik kaybı yavaş olurken, kemik yapımında azalma gözlenir. Paratiroid bezi fonksiyonunda

hafif artış görülür. Kırık daha çok kalça bölgesindeki kemiklerde meydana gelir. Kadın ve erkekte görülme oranı 2 : 1'dir. Nedeni yaşlılıktır<sup>4</sup>.

Yaşlılığa bağlı osteoporozda kemik yıkımı, kemik yapımını karşılayamaz hale gelmektedir. Bunun, Ca ve Vitamin D metabolizmasında meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kadınlarda menopoza öncesinde östrojen hormonunun azalması nedeniyle, kemik kaybı daha hızlı olmaktadır.

Yaşlılığa bağlı osteoporozda sünger ve sert kemik kitlesinde azalma daha uyumlu bir ilişki gösterirken, menopoza sonrası osteoporozda sünger dokuda kemik kitlesinde kayıp çok fazladır.

Genetik yapı ve cinsiyetin pik kemik kitlesi üzerinde etkisi önemlidir. Menopoza sonrası osteoporoz olan bir kadının, menopoza öncesi dönemde olan kızlarında kemik kaybı aynı yaştaki normal kızlardan daha fazla olması, osteoporozun genetik yapı ile ilişkisini gösterir. Beyaz ırk kadınlarında kemik kitlesi miktarı siyah ırk kadınlarından daha azdır. Ayrıca, yaşam standardı iyi olanlarda kemik kitlesi daha fazla bulunmuştur<sup>4</sup>.

### **2.3. Osteoporozda Risk Faktörleri**

Osteoporozda risk faktörlerinin erken tanımlanması ve önleme programlarının geliştirilmesi; hastalığın artışını durdurmak, kırıkları önlemek ve sağlık bakım giderlerini azaltmak için gereklidir. Çünkü osteoporoz ve osteoporotik kırıklar için risk faktörlerinin tanımlanması ile risk altındaki hastalar belirlenebilmekte, kırık başta olmak üzere oluşacak diğer komplikasyonlar önlenebilmektedir. Osteoporozun patogenezinde katkıda bulunan risk faktörleri Çizelge 1'de özetlenmiştir. Risk faktörleri kemik mineral yoğunluğunda azalmaya neden olarak veya düşme olasılığını arttırarak kırık oluşumuna zemin hazırlar.

Osteoporozdaki en önemli risk faktörleri; yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, menopoza hormonal nedenler, genetik ve irksal nedenler, beslenme, yaşam tarzı, sigara ve alkol kullanımı, immobilizasyon, çeşitli ilaçlar ve hastalıklar şeklinde belirtilmektedir<sup>2,29,30</sup>.

**Çizelge 1:** Osteoporozda risk faktörleri<sup>2</sup>

|  |   |
|--|---|
| <b>1. Yaşlılık</b><br>İntestinal kalsiyum emiliminde azalma<br>Paratiroid hormonda yükselme<br>Kalsitoninde azalma<br>Kemik multisellüler ünitenin yaşlanması  | <b>2. Genetik ve ırk</b><br>Ailede osteoporotik kırık hikayesi<br>Düşük doruk kemik kütlesi<br>Beyaz ırk<br>Sarışın, ince ve solgun derili olma<br>Düşük vücut ağırlığı (< 58 kg)<br>Monozigot ikizlerde anne ve kızlarında uyumluluk |
| <b>3. Hormonal</b><br>Kadın cinsiyet<br>Erken menopoz<br>Geç menarş<br>Nulliparite<br>Egzersize bağlı amenore  | <b>4. Beslenme</b><br>Düşük kalsiyum ve D vitamini alımı<br>Proteinden zengin diyet<br>Yüksek sodyumlu gıda tüketimi  |
| <b>5. Yaşam stili</b><br>Sedanter yaşam<br>Sigara, alkol kullanımı<br>Fazla kahve tüketimi<br>Güneş ışığına az maruz kalma   | <b>6. İmmobilizasyon</b><br>Herhangi bir inaktivite   |
| <b>7. İlaçlar ve Hastalıklar</b><br>Glikokortikoid kullanımı<br>Tritoksikoz<br>Hiperparatiroidizm<br>Diabetes Mellitus<br>Malign hastalıklar<br>Diğer (KOA, Bağırsak hastalıkları, organ transplantasyonu) | Heparin<br>Antikonvülsanlar<br>Metotreksat<br>Romatizmal hastalıklar  |

**Yaş:** İlerleyen yaşla birlikte bağırsaklardan kalsiyum ve D vitamini emilimi, böbreklerden aktif D vitamini oluşumu azalır. Kalsiyum seviyesinin azalması parathormon seviyesini artırır, böylece kemik rezorpsiyonu artar. Dolayısıyla osteoporozla yatkınlık oluşur. Vitamin D eksikliği yaşlılarda sık görülür. Yetersiz beslenme, ciltteki vitamin D sentezinde azalma ve güneş ışığından yararlanmada azalma, yaşlılardaki vitamin D eksikliğinin en önemli sebeplerindedir. Yaşlılar,

vücutlarının büyük bir kısmını güneşlendirirlerse diyetle vitamin D alınımına ihtiyaç duymazlar. Ancak diyetle yeterli vitamin D'yi alamayan ve vücudunun sadece belli bir kısmını (el-yüz) güneşlendiren yaşlılar vitamin D yetersizliği ve osteomalazi açısından risk altındadır. Özellikle eve bağımlı olan yaşlıların güneşlenme şansları, daha da azalmıştır, ki bu da nutrisyonel D vitamini desteğinin önemini açığa çıkarır. Bütün bunlar osteoporoz gelişimi açısından oldukça önemlidir<sup>31</sup>.

**Menopoz:** Kadınlarda menopoz dönemindeki hormon yetersizliği nedeni ile kemik kaybının hızlandığı bilinmektedir. Kemik kitle kaybı menopoza kadar her iki cinsiyette de aynı olurken, kadında menopoz ve menopoz sonrası dönemde hızlı bir artış olur.

**Vücut Ağırlığı:** Vücut ağırlığının kemik kaybı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. 70 kg'dan daha zayıf olan kadınların ve vücut ağırlığının %5'inden fazlasını kaybedenlerin, daha hızlı kemik kaybı gösterdikleri belirtilmektedir.

**Vücut kitle indeksi (VKİ),** vücut ağırlığının (kg), boy uzunluğunun metre cinsinden karesine bölünmesiyle hesaplanır. İdeal ağırlık ise ulaşılmak istenen VKİ'nin, boy uzunluğunun karesi ile çarpılmasıyla elde edilir.

Vücut Kitle İndeksi (VKİ) = Vücut Ağırlığı (kg) / (Boy Uzunluğunun Karesi)<sup>32,33</sup>

#### **VKİ kategorileri:**

Düşük kilolu : <18.5      Normal kilolu: 18.5-24.9

Kilolu: 25-29.9      Obez (aşırı kilolu) : >30

**Genetik faktörler:** Osteoporozun oluşumunda genetik faktörlerin varlığı bir süreden beri kabul edilmekle birlikte bu konuda hala bir takım kuşku da bulunmaktadır. Özellikle ailesinde osteoporoz öyküsü olanlarda ve beyaz tenli kişilerde osteoporoz riski yüksektir. Monozigotik ve dizigotik ikizlerde yapılan araştırmalarda, kemik yoğunluğundaki patolojik değişimlerde benzerlikler olduğu saptanmış ve bu durumun genetik etkilerle ortaya çıktığı düşünülmüştür<sup>2,6,7,35,36,37</sup>.

**Beslenme:** Beslenme osteoporozun patogenezinde, önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynar. Kalsiyum, potasyum, magnezyum, fosfor, D vitamini ve proteinden zengin beslenme çocukluk ve büyüme çağlarında doruk kemik kütlelerine ulaşmada büyük önem taşır. Kalsiyum ve D vitaminin yaşlılarda kemik kütlelerini koruduğu ve kırık riskini azalttığı gösterilmiştir. Kalsiyum, D vitamini ve protein verilmesinin, kalça kırığı sonrasında iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğini bildiren çalışmalar mevcuttur. 50 yaş üzerindeki kadın ve erkeklerin yeterli kalsiyum alması sağlanmalı, gerekirse destek tedaviler verilerek açık giderilmelidir. D vitamini günde 400-800 IU alınacak şekilde düzenlenmelidir. Bunun yanında demir, bakır, çinko, magnezyum ve K vitamini de alınmalıdır. Sigara, kahve, alkol ve fazla tuz tüketiminden kaçınmaları önerilmelidir. Sonuçta kişinin yaşamı boyunca kemik sağlığını koruyabilmesi için modifiye edilebilir risk faktörlerinin, özellikle beslenmenin düzenlenmesi oldukça önemlidir.

**Alkol alımı:** Alkol, mineral metabolizmasında değişikliklere neden olarak kemik kütlelerinde kayıplara neden olur. Karaciğer hastalığı olmasa bile D vitamini düzeyi, kalsiyum emilimi azalır ve atılımı artar. Bunlar kemik dansitesini azaltarak, kırık riskini de arttırabilir.

**Sigara kullanımı:** Östrojen yapımını ve kullanımını azaltarak erken menopoza, dolayısıyla osteoporozu neden olmaktadır. Sigara tüketiminin genel olarak osteoporoz ve fraktür oluşumunda önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Sigara içimi ile osteoporoz arasındaki ilişki, nikotinin çeşitli etkilerine de bağlıdır.

**İmmobilizasyon:** Kemik kaybının önemli bir nedenidir. Sedanter yaşam tarzının artmış fraktür riski ile birlikte olduğu belirlenmiştir. Türkiye çapında 1281 post menopozal osteoporozlu birey üzerinde yapılan çok merkezli bir çalışmada, azalmış fiziksel aktivitenin osteoporoz için önemli bir risk faktörü olduğu saptanmıştır. Yüksek düzeylerde fiziksel aktivite kemiğe aşırı miktarda mekanik güç bindirir. Bu güç, kemiğin dayanıklılığını arttırır. Fiziksel aktivite yokluğunda veya azlığında kemik kaybının ve kalsiyum atılımının artışı ve osteoporozun ortaya çıkışı kaçınılmazdır.

**İlaçlar:** Uzun süreli furosamide, antikonvülsan ve kortikosteroid grubu ilaçların kullanımı yaygın kemik kaybına yol açarak fraktür gelişimine neden olabilir. Ayrıca kemik yapımını baskılayarak, bağırsaklardan kalsiyum emilimini azaltarak, kemik yıkımı ve böbreklerden kalsiyum atılımını da arttırarak osteoporoz gelişimine neden olurlar<sup>2</sup>.

## 2.4. Osteoporozdan Korunma

20. yüzyılın sonlarına doğru hem toplum, hem de siyasi örgütler sağlık bakım politikalarını sağlığı koruma ve geliştirme üzerine odaklamışlardır. 1979'daki "2000 yılında herkese sağlık" hedeflerinin önemli bir kısmına ulaşamaması nedeniyle halk sağlığı programları primer olarak sağlığı geliştirme ve bireylerin kendi sağlık sorumluluklarını üstlenmeleri konularına odaklanmak zorunda kalmışlardır. Sağlığı geliştirme; doğrudan birey, aile, toplum ve toplum gruplarının sağlık potansiyelinin gelişmesi ve iyilik düzeyinin artmasına yönelik aktiviteleri ifade etmektedir. Bireyin var olan sağlığını kendi davranışlarıyla en üst düzeye çıkarmasıdır. Osteoporozdan korunma ve sağlığı geliştirmenin amacı ise; bireylerin osteoporozla neden olabilecek risk faktörlerini bilmesi ve korunmak için kendi sağlık sorumluluğunu almasıdır. Çünkü osteoporoz, büyük bir sağlık problemi olarak giderek güncelleşmekte, morbidite ve ekonomik kayıplara yol açmakta, iş gücü kaybına neden olmakta, hastane yataklarını işgal etmekte, tedavisi için çok uzun süreli ve pahalı ilaçların kullanılmasını gerektirmekte ve bütün bunların sonucunda da ortaya koyduğu ekonomik boyutla kronik hastalıklar içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle korunma, erken tanı ve tedavi yaklaşımları ön plana çıkmaktadır. Çünkü korunma, osteoporoz insidansını ve maliyetini azaltan en ucuz yoldur. En önemli ve en etkili yaklaşım ise, kemik kütle kaybını önlemektir. Bunun için öncelikle kemik kütle maksimum düzeye çıkartmak, daha sonra da kemik kaybını önleyecek girişimlerde bulunmak gerekmektedir. İskeletin büyüme ve gelişmesinin intrauterin hayatta başlayıp, hemen hemen 20 yıl boyunca devam ettiği bilinmektedir. O halde bu süreçlerde ulaşılan kemik yoğunluğu ne kadar fazla ise, daha sonra olabilecek kayıplardan etkilenme de o kadar az olacaktır. Bunun için 20'li yaşlara kadar kemik gelişimi için yapılacakların osteoporozu önleme açısından son derece önemli olduğu unutulmamalıdır. Genel anlamda osteoporozdan korunma çeşitli stratejiler gerektirir.

Bunlardan ilki, belirgin risk altında olanların tanımlanmasıdır. Bunun için, risk faktörlerinin iyi ayırt edilmesi gerekmektedir. Bir diğer strateji ise, toplum bazında risk faktörlerinin ortadan kaldırılmasıdır.

Bunlar;

1. Yeterli kalsiyum ve D vitamini alınması: Özellikle 65 yaş üstü her birey günlük 10 ng (400 IU) D vitamini almalıdır. D vitamini eksikliği veya olasılığı varsa önerilen doz 20 mikrogram (800 IU) D vitamini desteğidir.

Kalsiyum ihtiyacı yaş ve cinse göre değişir. NIH (National Institutes of Health) tarafından yaş ve cinse göre optimal kalsiyum alımı önerileri Çizelge 2 de gösterilmiştir.

**Çizelge 2:** NIH tarafından önerilen günlük kalsiyum alımı<sup>38</sup>

| <b>Birey</b>            | <b>Optimal Alım (mg/gün)</b> |
|-------------------------|------------------------------|
| <b>Erkek</b>            |                              |
| 25-65 yaş               | 1000                         |
| 65 yaş üzeri            | 1500                         |
| <b>Kadın</b>            |                              |
| 25-50 yaş               | 1000                         |
| <i>Postmenopozal</i>    |                              |
| <i>Östrojen alan</i>    | 1000                         |
| <i>Östrojen almayan</i> | 1500                         |
| 65 yaş üzeri            | 1500                         |

2. Her gün en az bir saat güneş ışınlarından yararlanılması: Güneş ışığından yeterince yararlanamayan kadınlar, özellikle premenopozal ve postmenopozal dönemde dışardan D vitamini verilerek desteklenmelidir.

3. Yaşam biçiminin düzenlenmesi: Kafein alımını azaltılmalı, alkol ve sigara alışkanlıkları önlenmelidir.

4. Çok ve sık doğumların önlenmesi: Kadınların aşırı zayıflıktan kaçınması: Yaşa göre olması gereken kiloya sahip olmak, hem kemikler üzerindeki istenilen baskıyı artırır, hem de östrojen yapımını sağlar.

5. Gençlerin ve premenopoz dönemdeki kadınların kemik kütlelerini arttırmaya ve osteoporozu önlemeye yönelik davranış geliştirmeleri desteklenmelidir.

6. Egzersizin doruk kemik kütlelerinin sağlanması, kemik kütlelerinin korunması, kondüsyon, fleksibilite ve güç artışı sağlanarak düşmelerin engellenmesi ve kırıkların önlenmesi açısından son derece önemli olduğu unutulmamalıdır.



Fiziksel aktivitenin, kemiğin dış yapısı ve trabeküler yapının oluşmasını etkilediği ifade edilmektedir. Bu da güçlü bir iskelet yapısının oluşmasında önemli rol oynar. Üst düzeyde fiziksel aktivitede bulunan çocukların kemik dansitelerinin, kendilerinden %25 daha az aktif olan çocuklarına göre %8-12 oranında daha fazla olduğu ve zaman içinde bu bireylerin daha fazla kemik kütlelerine ulaştıkları belirlenmiştir. Ayrıca kemik üzerine uygulanan dinamik streslere verilen biyolojik cevabın en belirgin olarak genç yaşta düzenli spor yapan kadınlarda olduğu görülmüştür. Bu kişilerin menopoza yaşına geldiklerinde toplam kemik kütleleri, sedanter yaşam sürenlere kıyasla %40 daha fazla bulunmuştur. Özellikle yürümenin, bisiklete binmek ya da yüzmekten daha fazla kemik yoğunluğuna pozitif etkisi olduğu bulunmuştur. Çeşitli çalışmalar; merdiven inip çıkma ve step yapma gibi egzersizlerin kemik yoğunluğunu arttırdığını göstermiştir. Düzenli kas güçlendirme egzersizleri, kas gücü ve dengeyi düzelterek kırık riskini azaltır, özellikle postmenopozal osteoporozlu kadınların kemik kütlelerini korur. Yapılan çalışmalar, düşük yoğunluklu yük binme egzersizleri ile kombine egzersiz programının ve yüksek yoğunluklu güçlendirme egzersizinin erkeklerde ve postmenopozal kadınlarda kemik mineral yoğunluğunu arttırdığını göstermiştir.

Ağırlık kaldırma ve aerobik türü egzersizlerin, yıllık %1-2 oranında kemik kaybını önlediği, ancak erken postmenopozal dönemde veya steroid kullanımına sekonder olarak gelişen hızlı kemik kaybı üzerine etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca egzersizler, fraktür ile ilgili risk faktörlerini de modifiye ederek, kas kütlelerini ve gücünü arttırmakta, böylece denge ve koordinasyonu geliştirmektedir. Bu durum düşme eğilimini azaltmaktadır. Ancak bütün bu aktiviteleri yaparken; kardiyak, görme veya eklem problemleri olanların daha dikkatli davranmaları gerekmektedir.

Egzersiz programı ve sportif aktivitelerin süresi, sıklığı ve ağırlığı kırık riski ve yaş gibi faktörler dikkate alınarak her hastanın durumuna göre düzenlenmelidir. Değişik ağırlıktaki egzersiz düzeyleri her hastaya göre ayrı planlanmalıdır. Birçok çalışmada haftada 3 gün yapılan egzersizin yeterli olduğu bulunmuştur.

***Özetle osteoporozun önlenmesi için;*** hareketsiz yaşamdan kaçınılmalı, düzenli egzersiz yapılmalı, güneş ışığından yeterli şekilde yararlanılmalı, kalsiyumdan zengin gıdalar tüketilmeli, aşırı zayıflıktan, sigara, alkol ve kafein tüketiminden kaçınılmalı,

premenopozal ve postmenopozal dönemde düzenli olarak kemik dansitesi ölçtürülmeli, menopozda hormon replasman tedavisinin önemi ve kontrendike olduğu durumlarda alternatif tedavi seçenekleri konusunda bilgi alınmalı ve bu bilgiler davranışa dönüştürülmelidir. Sonuç olarak, her geçen gün osteoporoz oranı artmakta, en ciddi komplikasyonu olan kırıkların sayısı da bu duruma paralel olarak artış göstermektedir. Bu nedenle osteoporozda risk faktörleri ve korunma temel alınarak sıklığı azaltılmaya çalışılmalı, daha da önemlisi osteoporozlu kişilerde kırık oluşması engellenmelidir. Sadece kırık riski taşıyanların önceden belirlenmesi ve hemen gerekli koruyucu tedbirlerin alınması ile kalça kırıklarında %20, omurga kırıklarında %12 ve diğer vücut bölgelerindeki kırıklarda %25 oranında azalma sağlanmaktadır. Bu nedenle osteoporozun önlenmesinde sağlık ekibi üyeleri, hastanelerde doğum ve kadın hastalıkları servislerinde, menopoz polikliniklerinde ve ana çocuk sağlığı merkezlerinde osteoporozun önlenmesinde önemli görevlerinin olduğunu unutmamalıdır. Bu görevlerin yeterli biçimde yerine getirilebilmesi için, öncelikle bu konunun öneminin ve kemik sağlığının geliştirilmesi konusunda yapılabileceklerin bilinmesi gerekir. Bu düşünceler doğrultusunda özellikle kadın sağlığı alanında çalışan ve aynı sorunlarla kendilerinin de karşılaşması olası olan sağlık ekibi üyelerine, hastalarının ve kendi kemik sağlıklarının korunmasında, geliştirilmesinde aktif olarak rol almalarının son derece önemli olduğunu söyleyebiliriz. O halde osteoporoz bir kader olmamalı, tüm yönleri ile ele alınmalı, hastalara gerekli tanı ve tedavi doğru zamanda/erken yapılmalı ve ülke bütçesine önemli yükler getirecek bu hastalığın morbiditesini azaltmak için ulusal ve uluslar arası gerekli koruyucu önlemler alınmalıdır<sup>2</sup>.

## 2.5. Osteoporozda Tanı Yöntemleri

Osteoporoz birçok vakada sessiz bir hastalık olarak kalır. Hafif bir ağırlık kaldırma gibi günlük aktiviteler sırasında vertebra kırığı oluşunca veya düşme sonucu kalça kırığı gelişene kadar osteoporoz tanısı konulmayabilir.

Osteoporozlu hastaların tanısı, tedavisi ve takibinde öykü ve fizik muayenenin yanında kullanılan tanı yöntemleri şunlardır:

### A-Görüntüleme yöntemleri

**a. Radyografik incelemeler:** Konvansiyonel radyografiler sık kullanılan ucuz yöntemlerdir. Torakal ve lumbosakral bölgelerin ön-arka ve yan, pelvisin ise ön-arka grafilerinin alınması gerekir. Radyografilerde osteoporoz tanısı için kullanılan kriterler; radyolusens (ışık geçirgenliği) artışı, trabeküler yapıdaki değişiklikler, kemik korteksinin incilmesi, vertebra korpusu, radius distali ve femur boynu kırıklarıdır.

**b. Kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçüm yöntemleri:** KMY ölçümleri, osteoporoz teşhisi, tedavisi, izlenmesi ve kırık riskinin hesaplanmasında kullanılan yöntemlerdir. Günümüzde doğruluk payı yüksek tekniklerle ölçülebilmektedir. Bu tekniklerin hepsi osteoporoz tanı ve izlenmesinde geleneksel radyografilerden üstündür. Bu güne kadar olan bilgilerimiz, düşük KMY ile kemik kırıkları arasında, kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir. KMY kemik dokunun temel kuvvetliliğinin %75-85'inden sorumludur, yani kemik kuvveti ile yüksek korelasyon gösterir.

Osteoporozun, toplum sağlığındaki önemi, neden olduğu harcamaların yüksekliği anlaşılınca, KMY'nin ölçümü ile ilgili yeni invazive olmayan tetkiklerin geliştirilmesine hız verilmiştir. Çoğunlukla vertebra ve kalçadan yapılan KMY ölçümleri, osteoporoz tanısının en önemli kısmını oluşturmaktadır. KMY'nin ölçümünde son zamanların en önemli gelişmesi DEXA yöntemidir. İdeal dansitometrik ölçüm; hızlı, tekrarlanabilir ve güvenilir olmalı, alınan radyasyon dozu ve hata payı az olmalı, kırık riski konusunda fikir vermeli, trabeküler ve kortikal kemiği ayrı ayrı değerlendirebilmeli ve tedavinin takibinde güvenle kullanılabilirdir. Düşük hata payı, düşük radyasyon dozu ve kalibrasyonundaki kolaylıklar nedeniyle, DEXA osteoporozun hem tanısında hem de tedavi yönteminin seçilmesinde uygun bir yöntemdir<sup>39</sup>.

### **KMY Ölçümünde Kullanılan Yöntemler:**

Tek Foton Absorpsiyometri (SPA) (Single Photon Absorptiometry)

Çift Foton Absorpsiyometri (DPA) (Dual Photon Absorptiometry )

Tek Enerji X-ışını Absorpsiyometri (SEXA) (Single Energy X-ray Absorptiometry )

\*Çift Enerji X-ışını Absorpsiyometri (DEXA) (Dual Energy X-ray Absorptiometry)

Kantitatif Bilgisayarlı Tomografi (QCT) (Quantitative Computed Tomography)

Kantitatif Ultrasonografi (QUS) (Quantitative Ultrasonography)

Manyetik Rezonans (MRI) (Magnetic Resonance Imaging)

**c. Kemik sintigrafisi:** Özellikle osteoporozun, kemik metastazları, osteomalazi gibi hastalıklardan ayırt edilmesinde kullanılır. Önceden oluşmuş kırıkların gösterilmesinde de yeri vardır. Osteoporoz tanısında fazla spesifitesi olmayan bir yöntemdir.

### **B- Laboratuvar testleri:**

Osteoporoz tanısı, tedavisi ve takibinde biyokimyasal testlerin önemli bir yeri vardır. Primer osteoporoz tanısını kesinleştirip sekonder osteoporoz olasılığını ekarte etmek için yapılması gereken laboratuvar testleri aşağıdadır:

#### ***Rutin olarak yapılanlar:***

- Tam kan sayımı
- Eritrosit sedimentasyon hızı
- Serum kalsiyum , fosfor..
- Total alkalen fosfataz
- Karaciğer fonksiyon testleri
- Tam idrar tetkiki
- Serum albumin, total protein

### ***Gerekli görüldüğünde yapılanlar:***

- 24 saatlik idrarda kalsiyum ve sodyum düzeyi
- Serum ve/veya idrar elektroforezi
- TSH, FT3, FT4
- Plazma testosteron ve östradiol düzeyi
- Bence-Jones proteini
- Kemik döngüsünün biyokimyasal belirteçleri (çeşitli kemik yapım göstergeleri ve kemik yıkımı göstergeleri)
- PTH, 1,25(OH) D vitamini
- LH, FSH, Prolaktin
- Serum kortizol düzeyi

**C- Kemik biyopsisi:** Kemik biyopsisi metabolik kemik hastalıklarının tanısı ve araştırılması için önemli bir yöntemdir. Doku veya hücre düzeyinde incelemeye imkan tanıyan tek yöntemdir. Kemik biyopsisi ve histometrisinin klinik kullanımı şüpheli osteomalazi, sistemik mast hücresi hastalığı (mastositoz), renal osteodistrofi, tanısı koyulamamış osteoporoz, östrojen yetersizliği olmayan kadınlarda osteoporoz, klasik tedaviye yanıtı olmayan osteoporoz ve tanısı konulamamış çocukluk çağı kemik hastalıkları ile sınırlıdır<sup>3</sup>.

## **2.6. OSTEOPOROZ GENETİĞİ**

Osteoporoz, kemik kırılabilirliğinde ve kırık riskinde artışa yol açacak ölçüde düşük kemik kütlesi ve kemik dokunun mikromimarisinde bozulma ile karakterize olan hormonal, çevresel, yaşam şekli (sigara içilmesi, fiziksel egzersizler gibi) ve beslenme faktörlerinin (kalsiyum alımı, alkol tüketimi) etkisi altındaki genetik faktörlerin kontrol ettiği multifaktöriyel ve poligenik bir iskelet hastalığıdır<sup>5,6,7,9,40,41,42</sup>. Multifaktöriyel olmasının yanında yapılan çalışmalarda genetik faktörlerin kemik fenotipindeki değişikliklerin %50-85'ninden sorumlu olduğu gösterilmiştir.<sup>5,9,43,44</sup>

Hastalığın genetik temeli üzerine yapılan çalışmalar osteoporozla ilişkili çok sayıda aday gen olduğunu göstermiştir. Osteoporozla katkıda bulunan genetik varyasyonlara ait bilgilerin çoğu aday genlerle kemik mineral yoğunluğu

çalışmalarından gelmektedir. Bu çalışmaları değerlendiren meta analizlere göre vitamin D reseptör geni (**VDR**), östrojen reseptör alfa geni (**ESR1**), tip 1 kollajen alfa A1 zinciri geni (**Col1A1**) ve İnterlökin 6 (**IL-6**) geninin allelik varyasyonları ile BMD ve/veya kırıklar arasında önemli ilişkilerin olduğu saptanmıştır. VDR, ESR1, Col1A1 ve interlökin-6 (IL-6) genlerinden başka ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) – benzeri protein 5 (**LRP5**) genlerinin polimorfizmlerinin de osteoporozla ilişkisi çalışılmaktadır<sup>6,45</sup>. Col1A1 hariç diğer dört gen pleiotropik etkili (master gen) olup bazı çalışmalarda osteoporozdan başka yaşlanmaya bağlı bazı hastalıklar, kolorektal ve göğüs kanseri ile de ilişkili olduğu belirtilmiştir<sup>5,6,46</sup>.

Osteoporoz gibi poligenik hastalıkların patogenezinde rol alan genleri belirlemek için çok nesilli geniş ailelerde linkage analizi, ikiz çalışmaları, kardeşler arasında (sib-pair) allel paylaşım yöntemi, akraba olmayan kontrol ve hastalarda asosiyasyon çalışmaları ve hayvanlarda çaprazlama deneyleri gibi birkaç farklı yaklaşım vardır. Bu yöntemlerin çoğu pratikte hastalığın belli bir fenotipik özelliği ile polimorfik markerler arasında ilişki kurma yaklaşımına dayanmaktadır<sup>7,44</sup>.

Polimorfizm, gen fonksiyonunda değişime neden olmaksızın gerçekleşen aynı genin DNA dizisindeki değişikliklerdir. Bir genin, toplumda % 1 veya daha fazla sıklıkla rastlanan varyasyonlarını tanımlamak için kullanılır. Bu orandan daha az sıklıkla rastlanan varyasyonlar ise mutasyon olarak adlandırılır. Polimorfizmler bir veya daha fazla bazın diziyeye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) gibi birçok yolla oluşabilir. Farklı habitatlarda adaptasyon avantajı sağlayan alellere yönelik baskıdan kaynaklandığı düşünülmektedir. İnsan genomunda en çok görülen polimorfizmler tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleridir (SNP). SNP'ler genomda yaklaşık her 100-200 bazda bir tane olacak sıklıkla bulunur. Baz değişimi ile oluşan yeni kodon eskisi ile aynı aminosidi kodluyorsa, bir değişimin etkisini diğer bir değişim ortadan kaldırıyorsa, daha önceden oluşan bir değişiklik yeni bir değişiklikle normale döndürülmüşse, değişiklik kodlanmayan dizilerde ise ve değişiklik sonucu proteine yanlış olarak giren amino asit, proteinin aktif bölgesinde değilse ve proteinin üç boyutlu yapısını, fonksiyonunu etkileyecek şekilde değiştirmiyorsa, bu tür değişimler polimorfizm oluşmasına neden olur. Bu DNA bölgeleri bireyler arası farklılık gösterir

ancak tüm kalıtım kurallarına uyarlar. Bu tip genetik değişimler fenotipik bir değişikliğe neden olmaz<sup>47</sup>.

Polimorfizmler populasyonda düşük sıklıkta olmasına karşın bazı durumlarda çok önemlidirler. Polimorfizmlerin yaklaşık %90'nını oluşturan ve insan genomunun yüksek çeşitliliğinin doğal etkeni olan tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) belirli hastalıklara yatkınlığı arttırabilir ya da azaltabilir. Bu etkilerini de, ilaç yanıtını değiştirmelerinde olduğu gibi, fizyolojik fonksiyonları düzenleyerek veya bozarak yaparlar<sup>25</sup>.

Polimorfizmin etkisi, o polimorfizmin yerleşimine bağlıdır. Genin kodlanan bölgesinde yani ekzonunda meydana gelen farklılıklar protein dizisini etkileyebileceğinden proteinin yapısı ve fonksiyonu değişebilir. Ayrıca proteini kodlayan bölgelerin dışında, genin sonundaki düzenleyici bölgede veya intronik dizilerde de nükleotid değişiklikleri görülebilir<sup>47</sup>. Eğer bu değişiklikler (özellikle tek baz değişikliğinden oluşanlar) bir restriksiyon enziminin kesme bölgesinin yok olmasına ya da yeniden oluşmasına sebep olursa kolaylıkla saptanabilir. DNA sarmalı özgül restriksiyon endonükleaz ile kesildiği zaman farklı uzunluklarda fragmentler oluşur ve jel elektroforezinde gözlenir. Bu fragmentler RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) olarak adlandırılır. RFLP'ler bir çok hastalıkta kalıtsal marker olarak kullanılır<sup>48</sup>.

Polimorfizm ve hastalık ilişkisini araştıran çalışmalarda kullanılan hasta ve kontrol grubunun etnik kökeni önemlidir. Çünkü genetik çeşitlilik, farklı etnik gruplarda farklı allel sıklıklarının ve farklı hastalık risklerinin ortaya çıkmasına sebep olur. Dolayısıyla oluşan polimorfizmlerin hastalık üzerindeki etkileri de çalışma grubunun etnik kökenine bağlı olarak değişebilir<sup>47</sup>. Son yıllardaki çalışmalar osteoporozda ırk ve etnik köken, yaş ve pozitif aile öyküsünün rol aldığını göstermiştir<sup>7</sup>.

Kemik oldukça dinamik bir doku olup metabolik kontrolü sitokin, büyüme faktörleri, nitrik oksit, hücre sinyal yolları gibi lokal faktörlerle ve sistemik yollarla kontrol edilir. Hormonların sistemik yolla endokrin regülasyonu, ya hücre zarındaki reseptörler yolu ile ya da steroid/tiroid reseptör süper ailesinde olduğu gibi transkripsiyon faktörü olarak nükleus seviyesinde gerçekleşir. Kemik hücresi

fonksiyonlarının önemli regülatörleri olan vitamin D ve cinsiyet hormonları nükleus seviyesinde görev yapmaktadır<sup>7</sup>.

Steroid hormon reseptör genlerinden östrojen reseptör geni (ESR) (14 polimorfizm), androjen reseptör geni (AR), progesteron reseptör geni (PR) ve Vit D Reseptör (VDR) genine ait polimorfizmlerle osteoporozun ilişkisi çalışılmış ve son yıllarda osteoporoz genetiği ile yapılan çalışmaların çoğu özellikle **VDR**, **COL1A1** ve **ESR** üzerinde yoğunlaşmıştır<sup>5,7,25</sup>.

Osteoporozu etki eden kalıtsal faktörlerin ve bu faktörlerle çevresel faktörlerin etkileşimlerinin daha iyi anlaşılması ile tedavi ve korunmada daha etkili olunabilir<sup>43</sup>.

### 2.6.1. Vitamin D Reseptör (VDR) Proteini ve Geni

Bireysel farklılıklardan %75 oranında genetik faktörler sorumludur. Kemik yoğunluğu, büyüklüğü, yapım ve yıkım döngüsü genetik kontrol altında olup, bazı genlerdeki polimorfizmler bireysel kemik yoğunluğunu belirlemektedir. VDR osteoporoz aday genlerinden kemik kitlesi üzerinde etkisi olduğu belirlenen ilk genidir<sup>49,50</sup>.

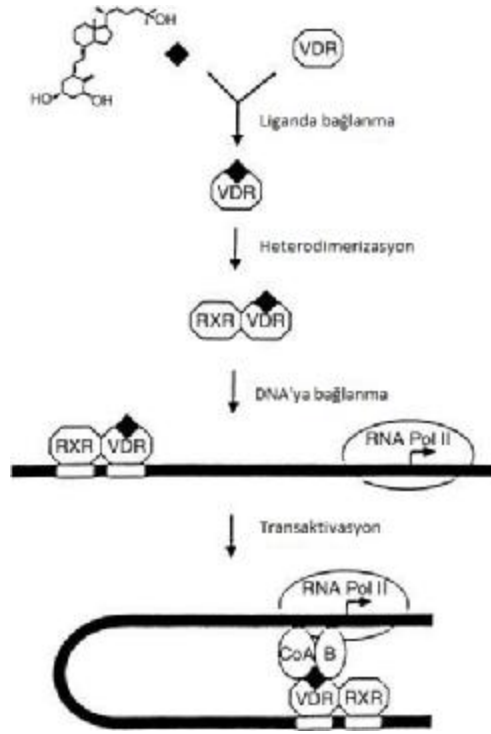
VDR proteini nükleer hormon reseptör ailesinin üyesidir ve gerçek steroid hormon olmamakla birlikte, steroid hormonlar gibi nükleer reseptörler aracılığı ile görev yapmaktadır<sup>7,49,51,52,53</sup>. Kalsitriol [ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ], VDR'ye bağlanarak kalsiyumun barsaktan emilmesini, böbrekten kalsiyum ve fosfatın geri emilimini ve paratiroid hormon düzeyini ayarlamaktadır<sup>21,46,50</sup>.

VDR proteini, kalsiyum ve kemik metabolizmasını kontrol eden Vitamin D hormonunun (1,25-dihidroksivitamin D3) etkisini düzenlemektedir. Bu düzenlemeyi farklı genlerin transkripsiyonunu kontrol ederek yapar<sup>49</sup>.

VDR proteini, 427 amino asitlik 48.3 kD ağırlığında moleküler kütleyle sahip bir protein olup ligand bağlayıcı ve DNA bağlayıcı bölgeler içerir<sup>49,52</sup>. Bu alanlar steroid hormonlar, tiroid hormonu ve vitamin A için homologtur<sup>23</sup>. Ligand bağlayıcı bölgesi ile hedef gende bulunan vitamin D cevap elemanına (vitamin D response element) bağlanır. Bu bağlanmanın gerçekleşebilmesi için VDR proteininin öncelikle transkripsiyon başlangıç faktörlerinin bir araya toplanmasını sağlayan retinoik asit X



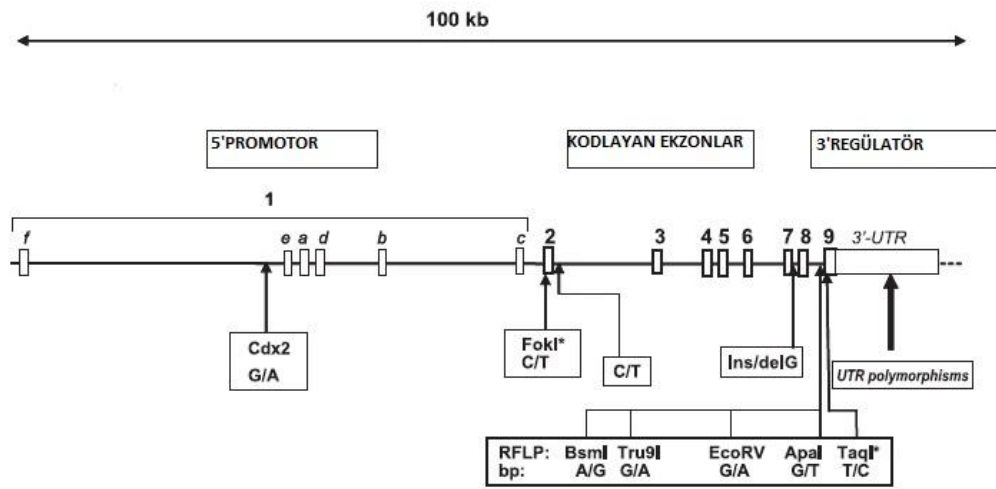
reseptörü (RXR) ile kompleks oluşturması gereklidir. Birçok ko-aktivatör ve ko-represör moleküller bu reseptör kompleksine bağlanır ve transkripsiyonu regüle eder (Şekil 4)<sup>21,23,49,53,54</sup>. VDR proteinin paratiroid hücrelerde, pankreas adacık hücrelerinde hematopietik hücrelerde, keratinositlerde, üreme organları ve immün sistem üzerinde etkileri olduğu gösterilmiştir<sup>49</sup>.



Şekil 4: VDR proteinin DNA'ya bağlanması ve VDR geninin regülasyonu<sup>55</sup>

VDR geni 12q12-14'de haritalanmıştır ve 100 kb uzunluğundadır. 11 ekzondan oluşan genin 1A, 1B,1C ekzonları 5'UTR bölgesini kodlar. 1B ve 1C ekzonlarının farklı splayzı sonucunda 3 farklı mRNA izoformu oluşur. Exon 1A, GC bazları açısından zengindir. Diğer 8 ekzon (2-9) yapısal gen ürünü olan proteini kodlamaktadır<sup>49,51,52</sup>. Ekzon 2 ve 3 DNA bağlanma domainini, ekzon 4 ve 9 ligand bağlanma bölgesini kodlar. Nükleer reseptörlerin birçoğunda tipik promotor bölgesi olmasına rağmen TATA kutusunun olmaması ve birçok transkripsiyon başlangıç bölgesine sahip olması yaygın görülen bir özelliktir. VDR geninin ekspresyonu birçok dokuya özgü promotor tarafından kontrol edilmektedir<sup>51,52,56</sup>.

İnsan VDR geninde önemli sayıda RFLP polimorfizmi saptanmıştır (Şekil 5). Genin 3' ucunda *Taq I*, *Apa I* ve *Bsm I* enzimlerinin, 2. ekzonda transkripsiyon başlangıç noktasında *Fok I* enziminin kesim yaptığı polimorfik bölgeler bulunmaktadır. Her bir endonükleaz için restriksiyon alanının bulunması geleneksel olarak enzimin ilk harfinin küçüğü ile (*t*, *a*, *b*, *f*), restriksiyon bölgesinin olmaması da büyük harfler (*T*, *A*, *B* veya *F*) ile gösterilmektedir<sup>57</sup>. Kesim durumuna göre bireylerin genotipi homozigotlar için *tt*, *aa*, *bb*, *ff* veya *TT*, *AA*, *BB*, *FF* ve heterozigotlar için *Tt*, *Aa*, *Bb* ve *Ff* olarak gösterilir<sup>5,7,52</sup>.



Şekil 5: İnsan VDR geni ve polimorfizmleri<sup>58</sup>

Ekzon 2 de bulunan *FokI* polimorfizmi (**rs17881966**) fonksiyonel olup kesimin olduğu allelede (f) transkripsiyon ilk ATG dizisinden başladığından normal, kesim yoksa (F alleli) transkripsiyon bir sonraki ATG dizisinden başladığından transkrip daha kısa (fakat yine fonksiyonel) olur. Yapılan çalışmalarda *FokI* allelik varyantlarının BMD üzerine etkisi ırk, yaş, menopoz durumu ve iskelet bölgesine göre değişmekte, ayrıca kalsiyum alımı gibi çevresel faktörlerden de etkilenmektedir<sup>7</sup>. Başlangıç kodonu olan ATG'de bulunan T→C değişimi sonucunda **ATG**, **ACG**'ye dönüşür ve translasyon ikinci ATG'den başlar. Bunun sonucunda 424 aminoasit uzunluğunda VDR proteini sentezlenir. T→C değişimi olmadığı durumda ise translasyon ilk ATG'den başlar ve 3 aminoasit daha uzun olan (427 aminoasit, f alleli) VDR proteini sentezlenir. Bu polimorfizmi belirlemek için FokI restriksiyon enzimi kullanılmaktadır<sup>49,51,56,58,59,60</sup>.

İkinci polimorfizm 8.intronun 5'ucundan 1280 baz çifti ilerde olan *ApaI* (**rs17879735**) polimorfizmidir. Bu polimorfizmi belirlemek için *ApaI* restriksiyon enzimi kullanılmaktadır. Üçüncü polimorfizm ise 9. ekzonda bulunan *TaqI* (**rs17880019**) polimorfizmidir ve T→C değişimi sonucunda ATT kodonu ATC'ye dönüşür. Hem ATT, hem de değişim sonucunda oluşan ATC kodonu (352. kodon) izolösini kodlamaktadır. Bu polimorfizmi belirlemek için *TaqI* restriksiyon enzimi kullanılır<sup>49,56</sup>.

Diğer bir polimorfizm olan *BsmI* (**rs1544410**), *ApaI* gibi intron 8 ile ekzon 9 arasında bulunmaktadır ve kodlanan proteinde amino asit dizisini değiştirmeyen sessiz bir tek nükleotid polimorfizmidir (SNP). Ancak *BsmI* polimorfizmi, mRNA stabilitesini düzenleyerek gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir<sup>60</sup>. VDR geninin 3'UTR bölgesindeki *TaqI*, *ApaI* ve *BsmI* polimorfizmlerine ait alleller birbirlerine çok yakın olduklarından dolayı aralarında kuvvetli bir Linkage Disequilibrium (LD) vardır. Fakat *FokI* polimorfizmi ile diğer polimorfizmler arasında ise LD yoktur<sup>56</sup>. VDR genotipleri populasyon spesifitesi göstermektedir<sup>49</sup>. Asya populasyonlarında *b* alleli, Avrupa kökenli populasyonlarda ise *B* alleli daha egemendir ve Japonlarda *Bb* genotiplerinin *bb*'ye göre, vit D bileşiklerine daha fazla cevap verdiği bulunmuştur. Genelde Asyalı'lar vit D metabolitlerine Avrupa'lılardan daha fazla yanıt vermektedir (b alleli yaygın). Ancak VDR genotipleri ile BMD ilişkisi kalsiyum alımına orantılı olarak değişmektedir. Kalsiyum ve vit D alan yaşlılar arasında BB genotiplerinde olanların lomber omurlardaki kemik kaybı *Bb* ve *bb* genotiplerinden daha fazla bulunmuştur Ancak farklı sonuçlar bulanlar da vardır<sup>5,7,61</sup>.

VDR varyantları ile kemik kalsiyum homeostazı ve kemik kitlesi arasındaki ilişkinin moleküler mekanizması fonksiyonel in vitro çalışmalara rağmen henüz tam anlaşılammıştır, bunun bir nedeni de polimorfizmlerden sadece bir tanesinin ekzonda olmasındandır<sup>7</sup>.

## 2.6.2. Kollajenler

Omurgalılarda en yüksek oranda görülen ve tüm proteinlerin %25 kadarını oluşturan bir protein olan kollajen tüm çok hücreli hayvanlarda bulunur. Çözünmeyen güçlü kollajen lifleri kemik, diş, kıkırdak, tendon, deri ve kan damarlarının bağ dokularının destek proteinidir. Fibriler proteinlerin değişik yapı-fonksiyon ilişkilerini çarpıcı biçimde kollajenler sergilemektedir.

Tendonlarda bulunan ve yüksek gerilme kuvveti olan kollajen, asimetric yapılar oluşturmaktadır. Gevşek dokunmuş deri kollajeni, esnek lifler meydana getirmektedir. Diş ve kemiklerin sert bölgelerini oluşturan kollajen, kalsiyum fosfat polimeri olan hidroksiapatit içermektedir. Korneada yer alan kollajen geçirgen bir yapı oluşturmak üzere düzenlenmiştir<sup>62</sup>.

Kollajenler, en az 19 farklı üyesi bulunan büyük bir protein ailesidir. Üç polipeptid zincirinin, halata benzer bir yapı oluşturmak üzere birbirlerine sıkıca dolandığı üçlü sarmal yapılarıyla karakterizedir. Kollajenlerin üçlü sarmal bölgelerinde Gly-X-Y amino asit dizisi tekrarları bulunur. Polipeptid zincirlerinin, kollajen üçlü sarmalı oluşturmak üzere, yeterince yakın paketlenmesi için her üç aminoasitte bir glisin (sadece hidrojenden ibaret bir yan dalı bulunan, en küçük aminoasit ) bulunması gerekir. X pozisyonunda sıklıkla prolin ve Y pozisyonunda da hidroksiprolin yer alır; halka yapıları nedeniyle bu amino asitler polipeptid zincirlerinin sarmal düzenini sağlamlaştırırlar.

Ender görülen hidroksiprolin amino asiti, önceden kollajen polipeptid zincirinin yapısına girmiş olan prolinlerin endoplazmik retikulumda modifikasyonu ile oluşturulur. Kollajende bulunan lizin amino asitleri de genellikle hidroksilize çevrilir. Bu değiştirilmiş amino asitlerin hidroksil gruplarının, polipeptid zincirleri arasında hidroksil grupları oluşturarak, üçlü sarmalın dayanıklılığını arttırdıkları düşünülmektedir. Hidroksiprolinin bitki duvarındaki bazı glikoproteinlerin yapısında da sıklıkla görülmesine karşın, bu amino asitler diğer proteinlerde nadiren bulunur.

En bol bulunan kollajen tipi (tip I kollajen) bağ dokularının temel yapısal bileşeni olan fibril oluşturan kollajenlerden biridir. Bu kollajenlerin polipeptid zincirleri, yaklaşık olarak bin amino asit yada 330 Gly-X-Y tekrarı kapsar. Bu kollajenler, hücreden salgılandıktan sonra, üçlü sarmal moleküllerin, düzenli aralıklı diziler halinde bir araya geldiği, kollajen fibrillerini oluştururlar. Hücre içerisinde bu fibriller oluşmaz

çünkü, fibril oluşturacak olan kollajenler, polipeptid zincirinin her iki ucunda sarmal yapmayan kısımları bulunan, çözümler öncü moleküller (prokollajen) halinde sentezlenirler. Prokollajen salgılandıktan sonra kollajen oluşturmak üzere kesilir, bu nedenle, kollajenin fibriller halinde birleşmesi sadece hücre dışında gerçekleşir. Kollajen moleküllerinin oluşturduğu fibriller, lizin ve hidroksilizin moleküllerinin yan zincirleri arasında kovalent çarpaz bağlantıların oluşmasıyla daha da güçlenir. Sıklıkla fibriller bir araya gelerek, çapları birkaç mikrometreye ulaşabilen kollajen lifleri oluştururlar<sup>63</sup>.

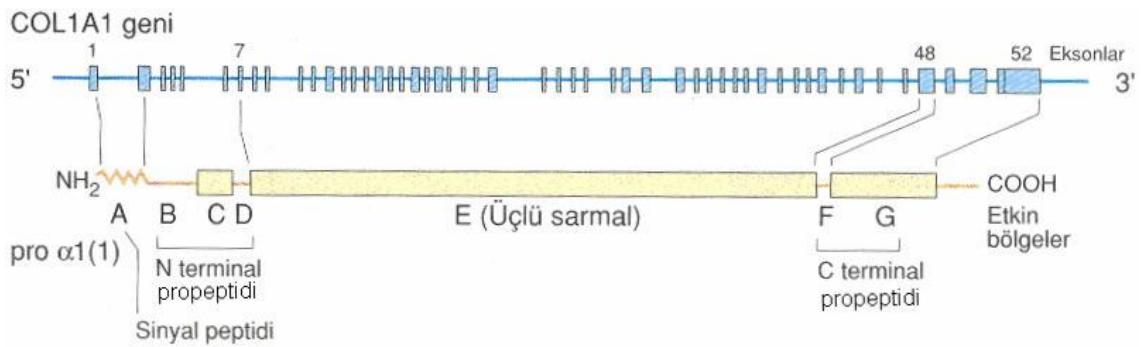
Tip I,II ve III kollajenler, fibriler kollajenlerin önemli bileşenleridir ve vücuttaki kollajenlerin %70'ni oluştururlar<sup>64</sup>. Tip I kollajen, vücutta çok miktarda bulunan yapısal protein olup, deri, kemik, lif, bağ doku, kan damarları, sklera ve korneanın temel proteindir<sup>25,64,65,66,67,68,69,70,71</sup>.

Tip II kollajen ise eklemlerdeki kıkırdaklarda bulunur. Tip III kollajen ise tip I ile ilişkilidir ve deri, damar, uterus ve barsakların temel proteindir<sup>64</sup>.

### **2.6.3. Tip 1 Kollajen Alfa 1 Zinciri Geni (Col1A1) ve Proteini**

Tip 1 kollajen üreten genler (Col1A1 ve Col1A2) osteoporoz patogenezi açısından önemli aday genlerdendir. En sık görülen kollajenlerden biri olan ve 285 kDa molekül ağırlığındaki tip I kollajende 2 tane  $\alpha 1(I)$  ve 1 tane  $\alpha 2(I)$  zinciri bulunmaktadır<sup>62</sup>. Tip I kollajen, heterotrimer yapıda olup, pro  $\alpha 1(I)$  zinciri kollajen tip I alfa 1 (*COL1A1*) geni tarafından, pro  $\alpha 2(I)$  zincirleri ise kollajen tip I alfa 2 (*COL1A2*) geni tarafından kodlanır<sup>72,73,74,75,76</sup>. Bu zincirlerden pro  $\alpha 1(I)$  zincirini kodlayan kollajen tip I alfa 1 (*COL1A1*) geni kromozom 17q21.3-22'de lokalize olup, 18 kb uzunluğunda ve 52 ekzon, 51 intron içermektedir<sup>25,76,77</sup>. Pro  $\alpha 2(I)$  zincirlerini kodlayan kollajen tip I alfa 2 (*COL1A2*) geni ise kromozom 7q21.3-q22.1'de lokalize, 38 kb uzunluğunda, 52 ekzon, 51 introndan oluşmaktadır<sup>25,75,76,77</sup>. Her iki genin yapıları birbirlerine oldukça benzer olup aralarındaki büyüklük farklılıkları intronlarının büyüklüklerinin farklı olmasından ileri gelmektedir ve bu genlerin ekzon büyüklükleri 45-283 bp arasında değişmektedir. Bu genlerin en temel özelliği kollajen zincirlerinin üçlü heliksi kodlayan ekzonlarının çoğunlukla 54 bp uzunluğunda olmasıdır<sup>25,72</sup>.

Tip I kollajenin pro  $\alpha 1(I)$  zinciri 1464 amino asitten oluşan 140 kDa (102) ağırlığında bir protein olup yapısında sinyal peptidi (A bölgesi), N terminal propeptidi (B,C,D bölgesi), üçlü heliks sarmal domaini (E bölgesi) ve C terminal propeptidi (F,G bölgesi) yer almaktadır. Pro  $\alpha 1(I)$  zincirini kodlayan COL1A1 geninin 1. ekzonu sinyal peptidi, 2–6. ekzonları N terminal propeptidi, 7–48. ekzonları ve 49. ekzonun bir kısmı üçlü heliks domainini ve 49–52. ekzonlar C terminal propeptidi kodlamaktadır (Şekil 6)<sup>25,76,78</sup>.



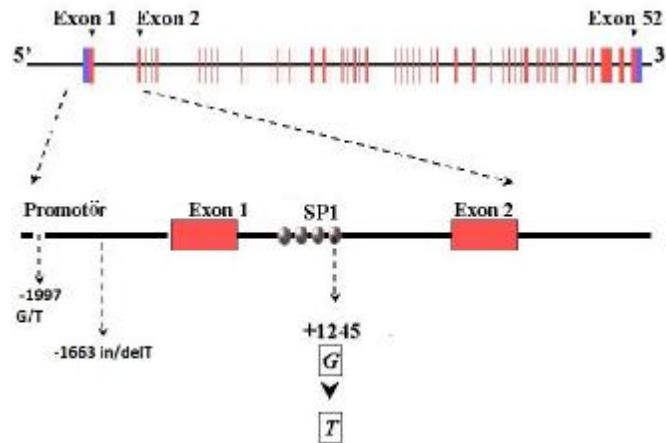
Şekil 6: Tip I kollajen pro  $\alpha 1(I)$  zinciri ve COL1A1 geninin yapısı<sup>78</sup>.

Genetik çalışmalar, tip I kollajen genlerini (COL1A1, COL1A2) kodlayan dizilerdeki mutasyonların osteogenezis imperfektaya (OI) neden olduğunu göstermiştir<sup>65,67,69,76,79,80,81</sup>. Nitekim osteoporoz ve OI arasındaki fenotip benzerliği nedeniyle bu genlerin osteoporozda da rol oynayabileceğini düşündürmektedir<sup>25</sup>. OI, erken osteoporoz ve kemik kırılabilirliğiyle karakterize kalıtsal bir hastalıktır<sup>77,81</sup>. Bu hastalığa sahip probandlarla yapılan çalışmalarda, COL1A1 ve COL1A2 genlerinde kodlayan bölgelerde olmak üzere yaklaşık olarak 200 mutasyon tanımlanmıştır<sup>77</sup>. Tip I kollajen genlerindeki polimorfizmler ise kodlayan dizilerde oldukça nadir görülür ve bu genlerde osteoporozla ilişkili değildir. Fakat COL1A1 regülatör bölgesindeki polimorfizmlerin kemik kütlesiyle ve olası osteoporotik kırıklarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Şekil 7)<sup>44,82</sup>.

Kollajen gen transkripsiyonu kontrolünün, proksimal promotör ve 5' regülatör bölgelerinde cis-acting elemanlarını tanıyan, DNA bağlanma proteinleriyle kompleks bir ilişki içinde olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada fare, sıçan ve insan COL1A1

geni promotör fonksiyonu, hem *in vitro* da hem de transgenik sıçanlar kullanılarak çalışılmıştır. COL1A1 geni transkripsiyon başlangıç bölgesinin 220 bç ilerisindeki bölge içinde kısa bir promotör dizisinin bazal ve dokuya özgü transkripsiyon için yeterli olduğu bildirilmiştir<sup>73</sup>.

İlk defa 1996'da COL1A1 geninin transkripsiyonunu düzenlediği düşünülen ve bir transkripsiyon faktörü olan Sp1'in bağlanma bölgesinde (1.intron da +1245.pozisyonda) oluşan bir polimorfizmin (G/T) osteoporotik kırıklarla ilişkili olduğu belirtilmiştir<sup>9,10,73,76,83</sup>. Sp1 polimorfizmi (**rs1800012**), Sp1'in bağlanmasını arttırarak transkripsiyonun güçlenmesine dolayısıyla da anormal oranda yüksek mRNA ve protein ürününün oluşmasına sebep olur. Sonuçta COL1A1 ve COL1A2 zincirleri arasında dengesizlik olur. Bunun da Sp1 polimorfizmi ("s" veya "T" alleleline sahip olmak) taşıyan kişilerde kemik kitlesi ve gücünde azalmaya yol açacağını düşündürmektedir<sup>76,84,85,86,87</sup>. Birçok araştırmacı Sp1 polimorfizmi ile osteoporoz arasında önemli bir ilişkinin olduğunu gösterse de bazı çalışmalarda aynı sonuçlar bulunamamıştır<sup>88</sup>. Bunun nedeni ise COL1A1 polimorfizmi ile osteoporotik kırıkların oranı arasında etnik farklılıkların bulunmasıdır. Bu polimorfizm Kafkas popülasyonunda oldukça yaygın olmasına rağmen Afrikalılarda ve Asyalılarda nadiren görülmektedir<sup>89</sup>.



Şekil 7: COL1A1 geni -1997 G/T, -1663 in/delT ve Sp1 polimorfizmleri<sup>82</sup>.

COL1A1 geni promoter bölgesinde, Garcia-Giralt et al.<sup>65</sup> tarafından 2002'de, 2 polimorfizm (-1663 indelT ve -1997 G/T) daha tanımlanmış olup bu polimorfizmlerin hem Sp1 ile hem de birbirleriyle kuvvetli olarak linkage disequilibrium (LD)

gösterdikleri bulunmuştur<sup>65,84,86</sup>. Bu çalışmada, postmenopozal İspanyol kadınlarda -1997 G/T polimorfizmi (**rs1107946**) ile bel omuru KMY'si arasında önemli derecede bir ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu ilişki daha sonra İngiliz kadınlarda da gösterilmiştir<sup>73</sup>.

COL1A1 geni -1997 G/T polimorfizmi, COL1A1 geni promotörünün proksimal bölgesinde, -1997. pozisyonunda tanımlanmıştır. Promotör polimorfizmlerinin, fonksiyonel olduğunu ve DNA bağlanması ve gen transkripsiyonu üzerine regüle edici etkisi olduğunu, gösteren birçok kanıt vardır. Fakat bu polimorfizmlerin, kemik biyomekanik özellikleriyle veya olası kırık öyküleri ile ne kadar ilişkili olduğu henüz netlik kazanmamıştır<sup>86</sup>.



### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Araç ve Gereçler**

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, cihazlar ve teknik malzemeler temin edildikleri firmalarla birlikte aşağıda belirtilmiştir.

#### **Kimyasal Malzemeler**

1. PCR tamponu (Vivantis, Fermentas)
2. Magnezyum klorür (MgCl<sub>2</sub>) (Vivantis, Fermentas)
3. Primerler (TIB Molbiol, Biomers)
4. dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) (Roche, Vivantis)
5. Taq DNA polimeraz enzimi (Vivantis, Fermentas), Hot Start Taq DNA polimeraz enzimi (Fermentas)
6. Restriksiyon enzimleri ApaI, TaqI, BsmI, FokI, MscI, Eco31I (Roche, NEB, Fermentas)
7. FastRuler Low Range DNA Ladder 50 bp (Fermentas) ve VC 100 bp Plus DNA Ladder (Vivantis), N3236S 50 bp DNA Ladder (New England BioLabs)
8. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma)
9. Tris-base (Sigma)
10. Borik asit (Sigma)
11. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma)
14. Sodyum klorür (NaCl) (Merck)
15. TritonX100 (Sigma)
16. Sükroz (Merck)
17. Proteinaz-K (Sigma)
18. Sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma)
19. Bromfenol mavisi (Merck)
20. Etil alkol (Merck)
21. Distile ve bidistile su
22. Agaroz (Sigma)
23. Basica LE Agarose (Prona)

## **Cihazlar ve Teknik Malzemeler**

1. PCR cihazı (Thermal cyclers Eppendorf Mastercycler)
2. Elektroforez güç kaynağı (EC3000-90)
3. Yatay ve dikey elektroforez sistemi (Biogen)
4. Otomatik pipetler (Gilson, Biohit, Socorex, Eppendorf)
5. UV jel görüntüleme sistemi (UVItec)
6. Derin dondurucu (Siemens, Bosch)
7. Buzdolabı (Arçelik)
8. Soğutmalı santrifüj (Universal 16R)
9. Mikrosantrifüj (Techne force 16)
10. Su banyoları (Grant)
11. Vorteks (Nüve NM 110)
12. Etüv (Dedeoğlu )
13. Hassas terazi (Sartorius)
14. Terazi (Shimadzu 321-33557)
15. pH metre (İnolab)
16. Otoklav (Trans)
17. Manyetik karıştırıcı (Nüve MK390)

## **Kan Örneklerinin Sağlanması**

**Hasta grubu:** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Osteoporoz polikliniğinde takip edilen menopoza girmiş osteoporoz hastalarından aşağıda belirtilen kriterlere göre çalışma grubu oluşturuldu.

- T-skor değeri **-2.5** ve daha az olan osteoporozlu postmenopozal kadınlar çalışmaya dahil edildi.
- Kalsiyum ve fosfor metabolizma hastalıkları olanlar, endokrinolojik hastalıkları (hipertiroidizm, vs.) olanlar, kronik karaciğer ve böbrek hastalıkları olanlar, iskelet hastalıkları (paget, romatoid artrit vs.) olanlar, kemik yoğunluğu ve metabolizmasını etkileyecek ilaç alanlar (kortikosteroid, antikonvülzan, kalsitropik ilaçlar vs.), HRT (hormone replacement therapy), TRT (tiroid replacement therapy) ve ER (estrogen receptor) modülatör ilaçları alanlar çalışmaya dahil edilmedi.

- Hastaların yaşı, boyu, kilosu, menarş yaşı, menopoz yaşı, osteoporoz aile öyküsü, gebelik sayısı (canlı doğum sayısı), önceki osteoporoz tedavileri ve süreleri (HRT dahil), osteoporozla eşlik eden hastalıklar ve medikasyonları, fiziksel aktivite düzeyleri, diyetle süt ve süt ürünlerinin tüketimi, kafeinli gıda tüketimi, alkol ve sigara kullanımları, güneşe maruz kalma süreleri ve giyim tarzları anket formuna doldurularak sorgulandı.
- Lomber (L1-L4) ve femur neck DEXA (Hologic/Lunar) ölçümleriyle KMY, T skor, Z skor değerleri, serum Ca, P, ALP, osteokalsin, 25(OH)D<sub>3</sub>, PTH, ve β croslaps (CTX) bulguları değerlendirildi.

**Kontrol Grubu:** Postmenopozal olan fakat osteoporozu olmayan aşağıdaki dışlama kriterlerini sağlayan kadınlar çalışmaya dahil edildi.

- Kalsiyum ve fosfor metabolizma hastalıkları olanlar, endokrinolojik hastalıkları (hipertiroidizm, vs.) olanlar, kronik karaciğer ve böbrek hastalıkları olanlar, iskelet hastalıkları (paget, romatoid arthrit vs.) olanlar, kemik yoğunluğu ve metabolizmasını etkileyecek ilaç alanlar (kortikosteroid, antikonvülzan, kalsitropik ilaçlar vs.), HRT (hormone replacement therapy), TRT (tiroid replacement therapy) ve ER (estrogen receptor) modülatör ilaçları alanlar çalışmaya dahil edilmedi.
- Hastaların yaşı, boyu, kilosu, menarş yaşı, menopoz yaşı, osteoporoz aile öyküsü, gebelik sayısı (canlı doğum sayısı), önceki osteoporoz tedavileri ve süreleri (HRT dahil), osteoporozla eşlik eden hastalıklar ve medikasyonları, fiziksel aktivite düzeyleri, diyetle süt ve süt ürünlerinin tüketimi, kafeinli gıda tüketimi, alkol ve sigara kullanımları, güneşe maruz kalma süreleri ve giyim tarzları anket formuna doldurularak sorgulandı.
- Lomber (L1-L4) ve femur neck DEXA (Hologic/Lunar) ölçümleriyle KMY, T skor, Z skor değerleri, serum Ca, P, ALP, osteokalsin, 25(OH)D<sub>3</sub>, PTH, ve β croslaps (CTX) bulguları değerlendirildi.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından bu çalışmanın uygunluğu onanmıştır. Çalışmada yer alan tüm hastalar ve kontrol bireyleri, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulları Araştırma Projesi Bilgi ve Taahhüt Formunda

belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmış Katılımcı Bilgilendirme ve Rıza Formunu doldurarak çalışmaya katılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Periferik Kandan Tuzla Çöktürme Yöntemi ile DNA Eldesi**

Periferik kandan DNA eldesi için Miller ve arkadaşlarının geliştirdiği<sup>90</sup> tuzla çöktürme (salting out) yöntemi modifiye edilerek uygulandı.

1. 1,5 ml lik ependorf tüpü içerisine iyice alt üst edilmiş kan örneğinden 700 µl, eritrosit lizis (Ek-1.1) solüsyonundan da 700 µl konulup dikkatlice alt üst edilerek 3-5 dk. oda ısısında bekletildi. 4000 rpm.de 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atıldı.
2. Elde edilen pellet üzerine 700 µl eritrosit lizis solüsyonu eklendi. Tüp kuvvetlice çalkalanarak pellet çözündürüldü. 4000 rpm.de 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atıldı.
3. Pellet üzerine 1000 µl (1 ml) fizyolojik tampon (Ek-1.2) eklenip pellet çözündürüldü. 4000 rpm.de 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atıldı.
4. 300 µl TE-9 (Ek-1.3) tamponu ilave edilip pellet çözündürüldü. Bunun üzerine 100 µl SDS (Ek-1.4) ile 20 µl Proteinaz-K (Ek-1.5) ilave edildi. Vorteks üzerinde tüp içeriği iyice karıştırıldı. 65 °C de 1-2 saat benmaride tutuldu. 20 dk. da bir tüp alt üst edildi.
5. İnkübasyon sonunda tüp içeriğine 200 µl 6M NaCl (Ek-1.6) ilave edildi. Oluşan beyaz görünümlü yapıyı dağıtmak için tüp kuvvetlice çalkalanıp 13500 rpm. de 10 dk. santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonunda süpernatant başka bir tüpe alınıp pellet atıldı. Tekrar 13500 rpm. de 5 dk. santrifüj edildi.
7. Yine süpernatant başka bir tüpe alınıp pellet atıldı. Tuzdan arınmış olan süpernatantın üzerine 900 µl %99 etil alkolden eklendi. Tüp iyice karıştırıldı. Bu aşamada DNA ipliksi formunda görülebilmektedir.
8. 13500 rpm. de 5 dk. santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.

9. Tüpün dibine yapışan DNA yı kaldırmak için %70 lik etil alkolden (Ek-1.7) 1000 µl eklendi. 13500 rpm. de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bu işlem bir kez daha tekrar edildi.
10. Süpernatant dökülüp tüp ters çevrilip DNA nın tüpe yapışması için 15 dk. beklendi.
11. DNA nın büyüklüğüne göre 50-100 µl TE (Tris-EDTA) (Ek-1.8) konuldu.
12. DNaz aktivitesini ortadan kaldırmak için 70-80 °C benmaride 10-15 dk. inkübasyona bırakıldı.
13. DNA örnekleri +4 °C de kullanılmaya kadar muhafaza edildi. Uzun süreli muhafazalar için ise -20 °C ye alındı.

### **3.2.2. Agaroz Jelin Hazırlanması, Örneklerin Agaroz Jele Yüklenmesi ve Yürütülmesi**

PCR ve kesim reaksiyonu sonrasında elde edilen ürünleri görüntülemek için agaroz jellerden yararlanıldı. Genellikle %2-3 oranında agaroz jel hazırlandı.

- Çalışmaya başlamadan önce jel kabı iyice temizlenip kurutulup jel dökme kalıbına yerleştirildi. Bu kalıp, düzgün bir yüzeye yerleştirildi. Kuyucuk oluşturmak için kullanılan taraklar düzgünce yerlerine yerleştirildi.
- Jel dökme kabının boyutları (boyutları 7 X 7,5cm ve 8 X 20,5 cm) ile jelin kalınlığı (0,5cm) dikkate alınarak yapılan hesaplamayla gereken miktardaki agaroz tartıldı. Erlenmayer içindeki elektroforez tamponuna (1 X TBE) (Ek-2.1) %2-3 konsantrasyonda olacak şekilde toz agaroz eklendi. Mikrodalga fırında agaroz iyice eriyene kadar ısıtıldı.
- Jelin içine son konsantrasyon 0,5 µg/ml olacak şekilde stok EtBr (Etidiyum bromür) (Ek-2.2) solüsyonundan ilave edildi. Etidiyum bromür kuvvetli bir mutajen ve oldukça da toksik olduğundan bu boyayı içeren çözeltilerle çalışırken her zaman eldiven giyildi.
- Agaroz çözeltisinin sıcaklığı 45-50 °C ye (el yakmayacak sıcaklığa) gelinceye kadar soğutuldu.
- Ilık agaroz çözeltisi hava kabarcığı oluşturulmadan jel dökme kabına döküldü. Jel, oda sıcaklığında yaklaşık 30-45 dakikada polimerize oldu. Jel, elektroforez

tankına alındı, üzerini örtecek kadar 1 X TBE tamponu (Ek-2.1) ilave edildi. Taraklar dikkatlice çekilerek yükleme yapmak için jel hazır hale getirildi.

Görüntülenmek istenen DNA örnekleri jel yükleme tamponu (DNA yükleme/ Loading dye) (Ek-2.3) ile birlikte yükledi. Jelin sağındaki veya solundaki ilk kuyuya moleküler ağırlığı bilinen marker DNA dan 5 µl yüklendi. Mikropipet ile 5µl PCR ürünü ile 1 µl yükleme tamponu karıştırılıp toplam 6 µl kuyucuklara yüklendi. 120 voltta elektrik akımına maruz bırakılarak yürütüldü. Jel UVIdoc cihazında ultraviyole ışık altında görüntülendi ve jel görüntüleri diskete kaydedildi<sup>48</sup>.

### **3.2.3. Nondenatüre Poliakrilamid Jelin Hazırlanması, Örneklerin Jele Yüklenmesi, Yürütülmesi ve Boyanması**

Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) 1 kb'nın altındaki DNA parçalarının ayırımında kullanılabilir. Agaroz jeldeki büyük deliklerin aksine poliakrilamid jelde küçük delikler oluşmaktadır. Ayrıca agaroz jel elektroforezine göre çalışması daha zahmetlidir.

1. Ticari kaynaktan sağlanan dikey elektroforez tankına uygun boyuttaki camlar iyice yıkanıp önce distile su ile daha sonrada %99 etanol ile iyice silindi. İki cam arasına 1 mm kalınlığındaki spacerler (aralık yapıcı) aynı hizada olacak şekilde yerleştirildi. Üst üste kapatılan camlar dikkatlice jel dökme çerçevesine yerleştirildi.
2. 8 ml, %8 lik poliakrilamid jel hazırlamak için aşağıda belirtilen miktarlarda kimyasal kullanıldı.

|   |        |
|---|--------|
| Akrilamid / bisakrilamid Stok solüsyonu %40 (29:1) (Ek-2.4) | 1,6 ml |
| Bidistile su  | 5,6 ml |
| 10 X TBE tamponu (Ek-2.5)                                   | 0,8 ml |
| %25 APS (Amonyum persülfat) (Ek-2.6)                        | 50 µl  |
| TEMED   | 4-6 µl |

TEMED eklenmeden önce hazırlanan karışımın havası alındı. Daha sonra polimerizasyonu başlatan TEMED ilave edildi. Jel solüsyonu hızlıca, hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek iki cam arasına döküldü. Tarak

dikkatlice yerleştirilip, jel polimerleşmeye bırakıldı. Polimerizasyon için yaklaşık 30-45 dakika yeterli oldu.

3. Polimerizasyondan sonra taraklar dikkatlice çıkarıldı. Kuyularda akrilamid kalıntısı kalabileceği için enjektör yardımıyla kuyular tamponla yıkanıp yükleme yapmak için hazır hale getirildi.
4. Elektroforez işlemi başlatmak için aparat tankın içine yerleştirildi. Jelin alt ve üst sınırlarına temas edecek şekilde tanka 1 X TBE tamponu eklendi.

Jelin sağındaki veya solundaki ilk kuyuya moleküler ağırlığı bilinen marker DNA dan 5 µl yüklendi. Mikropipet ile 5 µl PCR ürünü ile 1 µl yükleme tamponu karıştırılıp toplam 5µl kuyucuklara yüklendi. 120 voltta elektrik akımına maruz bırakılarak yürütüldü.

Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra iki camın arası açılarak jel dikkatlice EtBr boyama solüsyonuna (Ek-2.2) alındı. Yaklaşık 2-5 dakika boyandıktan sonra boyanın fazlalığından arındırmak için saf su içinde yıkandı. Daha sonra jel UVIdoc cihazında ultraviyole ışık altında görüntülendi. Jel görüntüleri diskete kaydedildi<sup>48</sup>.

### **3.2.4. PCR (Polymerase Chain Reaction) ve RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Yöntemlerinin Uygulanması**

Elde edilen DNA örneklerinden Vitamin D Reseptör Geni (VDR) ApaI, TaqI, BsmI, FokI polimorfik bölgeleri ve Kollajen 1 Alfa 1 (Colla1) geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfik bölgelerinin tespiti için PCR-RFLP yöntemleri uygulandı. ApaI ve TaqI için Süsleyici ve ark.'nın<sup>8</sup> çalışmalarında kullandıkları primerler seçilmiş olup BsmI için Morrison et al.<sup>50</sup> ve FokI bölgesi için Lucotte et al.<sup>91</sup> çalışmalarında kullandıkları primerlerle çalışma yapıldı. BsmI ve FokI bölgeleri Gene Runner programında (3.05 versiyonu) bu bölgelere ait baz dizileri ile karşılaştırılıp bir takım modifikasyonlarla primer dizileri oluşturuldu. Kollajen 1 Alfa 1 (Colla1) geni Sp1 bölgesi için Grant et al.<sup>83</sup>, -1997 G/T polimorfik bölgesi için Zhang et al.<sup>67</sup> referans alındı. Bu primerler HPLC pürifikasyonu ile ticari firmalara hazırlanmıştır. Primerlerin tümü 100 pmol olacak şekilde sulandırılıp her birinden 10 pmol kullanıldı. Kullanılan primer çiftlerinin dizileri aşağıda gösterilmiştir (Çizelge 3)<sup>8,50,67,83,91</sup>.

**Çizelge 3:** VDR ve Col1A1 genlerine ait polimorfik alanların primer dizileri

|               |  |
|---------------|--|
| Apa I ve TaqI | İNT 8 F: 5' - CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG- 3'               |
|               | EK 9 R: 5'-GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCTCA-3'                |
| BsmI          | Primer 1: 5' -CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA-3'        |
|               | Primer 2: 5' -AACCAGCG*GAAGAGGTCAAGGG-3'               |
| FokI          | Primer 1: 5' -AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGG* CTCT -3'       |
|               | Primer 2: 5' -ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'           |
| SpI           | Forward 5' -TAA CTT CTG GAC TAT TTG CGG ACT TTT TGG-3' |
|               | Reverse 5' -GTC CAG CCC TCA TCC TGG CC-3'              |
| -1997 G/T     | Forward 5' - CAC CCT GCC CTA GAC CAC -3'               |
|               | Reverse 5' - GAA AAT ATA GAG TTT CCA GAG-3'            |

**Not:** BsmI ve FokI için literatürde belirtilen primer dizileri modifiye edildi. Modifiye baz bölgeleri \* ile işaretlenmiştir. BsmI Primer 2'de 9.pozisyonda bulunan G nükleotidi çıkartıldı. FokI Primer 1'de ise 24.pozisyona G nükleotidi eklendi.

Örneklerimizin uygun amplifikasyon koşullarını saptamak için çeşitli denemeler yapıldı. Primerlerin, Taq DNA polimerazın ve magnezyum klorürün (MgCl<sub>2</sub>) farklı konsantrasyonları ile PCR programında farklı ısı döngüleri ve annealing (yapışma) ısıları denendi; her denemede sadece bir değişken dışındakiler sabit tutuldu. Optimal amplifikasyonun gerçekleştiği koşullar, bütün PCR reaksiyonları için kullanıldı. Bu reaksiyonlar tüm bölgeler için ayrı ayrı uygulandı.

#### **3.2.4.1. VDR geni TaqI ve ApaI polimorfik bölgelerine ait PCR reaksiyonu, PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları**

TaqI ve ApaI polimorfik bölgeleri için tek bir primer çifti kullanılıp 2 ayrı enzimle (ApaI ve TaqI enzimleri) kesim reaksiyonu gerçekleştirildi.

TaqI ve ApaI'e ait PCR reaksiyon koşulu ve ısı döngüleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 4,5).



**Çizelge 4:** TaqI ve ApaI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları:

| <u>PCR Bileşenleri</u>                  | <u>Miktar</u> |
|---|---------------|
| 10X PCR Tampon (MgCl <sub>2</sub> 'süz) | 2,5 µl        |
| MgCl <sub>2</sub> ( 25 mM)              | 1,5 µl        |
| Taq Polimeraz (5u/µl)                   | 0,5 µl        |
| Primer 1 (10 pmol)                      | 1µl           |
| Primer 2 (10 pmol)                      | 1µl           |
| dNTP (2 mM)                             | 0,25 µl       |
| DNA (~100 ng)                           | 2 µl          |
| Su                                      | 16,25µl       |
| Toplam Hacim                            | 25 µl         |

**Çizelge 5:** TaqI ve ApaI için optimal amplifikasyonlarının gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri :<sup>92</sup>

| <u>Sıcaklık</u> | <u>Süre</u> |            |
|-----------------|-------------|------------|
| 1. 94 °C        | 'de – 5 dk  |            |
| 2. 94 °C        | 'de – 20 sn | } 10 Döngü |
| 3. 65 °C        | 'de – 40 sn |            |
| 4. 72 °C        | 'de – 1 dk  |            |
| 5. 94 °C        | 'de – 20 sn |            |
| 6. 63 °C        | 'de – 40 sn |            |
| 7. 72 °C        | 'de – 1 dk  |            |
| 8. 72 °C        | 'de – 6 dk  |            |
| 9. 4 °C         | - ∞         |            |

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde Ultraviyole (UV) ışık altında kontrol edildi. TaqI ve ApaI'e ait PCR ürün büyüklüğü 740 bç.'dir.

Aşağıda TaqI'e ait RFLP reaksiyon koşulları verilmiştir (Çizelge 6) .

**Çizelge 6:** VDR geni TaqI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu

| <u>Reaksiyon Bileşenleri</u> | <u>Miktar</u>                  |
|------------------------------|--------------------------------|
| Tampon                       | 1 µl                           |
| Restriksiyon Enzimi (TaqI)   | 0,25 µl                        |
| PCR ürünü                    | 5 µl                           |
| Steril Bidistile Su          | 3,75 µl                        |
| Toplam hacim                 | 10 µl                          |
| Reaksiyon ısısı              | 65 °C                          |
| Reaksiyon süresi             | ~3 saat                        |
| TaqI enzimi kesim noktası    | 5' T^C G A 3'<br>3' A G C^T 5' |

Reaksiyon ürünleri %3'lük agaroz jele yüklenerek 120 voltta elektroforeze tabi tutuldu, EtBr ile boyanarak UVIdoc jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi ve değerlendirildi. Kesim reaksiyonu sonunda 493 bç, 291 bç, 247 bç ve 202 bç büyüklüklerinde kesim ürünleri elde edilmiştir.

Aşağıda ApaI'e ait RFLP reaksiyon koşulları verilmiştir (Çizelge 7).

**Çizelge 7:** VDR geni ApaI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu

| <u>Reaksiyon Bileşenleri</u> | <u>Miktar</u>                          |
|------------------------------|--|
| Tampon                       | 1 µl                                   |
| Restriksiyon Enzimi (ApaI)   | 0,25 µl                                |
| PCR ürünü                    | 5 µl                                   |
| Steril Bidistile Su          | 3,75 µl                                |
| Toplam hacim                 | 10 µl                                  |
| Reaksiyon ısısı              | 37 °C                                  |
| Reaksiyon süresi             | ~3 saat                                |
| ApaI enzimi kesim noktası    | 5' G G G C C^C 3'<br>3' C^C C G G G 5' |

Kesim reaksiyonu sonunda 740 bç kesilmeyen PCR ürünü ile 529 bç ve 211 bç büyüklüklerinde kesim ürünleri elde edilmiştir.

### 3.2.4.2. VDR geni BsmI polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu, PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları

BsmI'e ait PCR reaksiyon koşulu ve ısı döngüleri aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 8,9).

**Çizelge 8:** BsmI için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulu

| <u>PCR Bileşeni</u>                     | <u>Miktar</u> |
|---|---------------|
| 10X PCR Tampon (MgCl <sub>2</sub> 'süz) | 2,5 µl        |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM)               | 1,5 µl        |
| Taq Polimeraz (5u/ µl)                  | 0,5 µl        |
| Primer 1 (10 pmol)                      | 1µl           |
| Primer 2 (10 pmol)                      | 1µl           |
| dNTP (2 mM)                             | 0,25 µl       |
| DNA (~100 ng)                           | 2 µl          |
| Su                                      | 16,25µl       |
| Toplam Hacim                            | 25 µl         |

**Çizelge 9:** BsmI için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri:

| <u>Sıcaklık</u> | <u>Süre</u> |            |
|-----------------|-------------|------------|
| 1. 94 °C        | 'de – 5 dk  |            |
| 2. 94 °C        | 'de – 45 sn | } 32 Döngü |
| 3. 64 °C        | 'de – 40 sn |            |
| 4. 72 °C        | 'de – 1 dk  |            |
| 5. 72 °C        | 'de – 7 dk  |            |
| 6. 4 °C         | - ∞         |            |

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde UV ışık altında kontrol edildi. BsmI'e ait PCR ürün büyüklüğü 825 bç.'dir.

Aşağıda BsmI'e ait RFLP reaksiyon koşulları verilmiştir (Çizelge 10) .

**Çizelge 10:** VDR geni BsmI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu koşulları

| <u>Reaksiyon Bileşenleri</u> | <u>Miktar</u>                                  |
|------------------------------|--|
| Tampon                       | 1 µl   |
| Restriksiyon Enzimi (BsmI)   | 0,25 µl  |
| PCR ürünü                    | 5 µl   |
| Steril Bidistile Su          | 3,75 µl  |
| Toplam hacim                 | 10 µl  |
| Reaksiyon ısısı              | 37 °C  |
| Reaksiyon süresi             | ~3 saat  |
| BsmI enzimi tanıma noktası   | 5' G A A T G C N^N 3'<br>3' C T T A C^G N N 5' |

Reaksiyon ürünleri %3'lük agaroz jele yüklenerek 120 voltta elektroforeze tabi tutuldu, EtBr ile boyanarak UVIdoc jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi ve değerlendirildi. Kesim reaksiyonu sonunda 825 bç kesilmeyen PCR ürünü ile 650 bç ve 175 bç büyüklüklerinde kesim ürünleri elde edilmiştir.

### 3.2.4.3. VDR geni FokI polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu, PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları

FokI'e ait PCR reaksiyon koşulu ve ısı döngüleri optimum koşulları sağlamak için bazı küçük modifikasyonlarla aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 11,12) <sup>91</sup>.

**Çizelge 11:** FokI için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları:

| <u>PCR Bileşeni</u>                     | <u>Miktar</u> |
|---|---------------|
| 10X PCR Tampon (MgCl <sub>2</sub> 'süz) | 2,5 µl        |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM)               | 1,5 µl        |
| Taq Polimeraz (5u/ µl)                  | 1 µl          |
| Primer 1 (10 pmol)                      | 1 µl          |
| Primer 2 (10 pmol)                      | 1 µl          |
| dNTP (2 mM)                             | 0,25 µl       |
| DNA (~100 ng)                           | 2 µl          |
| Su                                      | 15,75µl       |
| Toplam Hacim                            | 25 µl         |

**Çizelge 12:** FokI için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri:

| <u>Sıcaklık</u> | <u>Süre</u> |            |
|-----------------|-------------|------------|
| 1. 94 °C        | 'de – 5 dk  |            |
| 2. 94 °C        | 'de – 30 sn | } 30 Döngü |
| 3. 60 °C        | 'de – 1 dk  |            |
| 4. 72 °C        | 'de – 30 sn |            |
| 5. 72 °C        | 'de – 7 dk  |            |
| 6. 4 °C         | - ∞         |            |

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde UV ışık altında kontrol edildi. FokI'e ait PCR ürün büyüklüğü 265 bç'dir.

Aşağıda FokI'e ait RFLP reaksiyon koşulları verilmiştir (Çizelge 13) .

**Çizelge 13:** VDR geni FokI polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu

| <u>Reaksiyon Bileşenleri</u> | <u>Miktar</u>   |
|------------------------------|---|
| Tampon                       | 1 µl  |
| Restriksiyon Enzimi (FokI)   | 0,25 µl   |
| PCR ürünü                    | 5 µl  |
| Steril Bidistile Su          | 3,75 µl   |
| Toplam hacim                 | 10 µl   |
| Reaksiyon ısısı              | 37 °C   |
| Reaksiyon süresi             | ~3 saat   |
| FokI enzimi tanıma noktası   | 5'...G G A T G (N) <sub>9</sub> ^...3'<br>3'...C C T A C (N) <sub>13</sub> ^...5' |

Reaksiyon ürünleri %3'lük agaroz jele yüklenerek 120 voltta elektroforeze tabi tutuldu, EtBr ile boyanarak UVIdoc jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi ve değerlendirildi. Kesim reaksiyonu sonunda 265 bç kesilmeyen PCR ürünü ile 196 bç ve 69 bç büyüklüklerinde kesim ürünleri elde edilmiştir.

### 3.2.4.4. Col1A1 geni Sp1 polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu, PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları

Sp1'e ait PCR reaksiyon koşulu ve ısı döngüleri optimum koşulları sağlamak için bazı küçük modifikasyonlarla aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 14,15).

**Çizelge 14:** Sp1 için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları:

| <u>PCR Bileşeni</u>                    | <u>Miktar</u> |
|--|---------------|
| 10X PCR Tampon (MgCl <sub>2</sub> 'lü) | 2,5 µl        |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM)              | 2 µl          |
| Hot Start Taq Polimeraz (5u/ µl)       | 0,2 µl        |
| Primer 1 (10 pmol)                     | 0,5 µl        |
| Primer 2 (10 pmol)                     | 0,5 µl        |
| dNTP (2 mM)                            | 0,3 µl        |
| DNA (~100 ng)                          | 2 µl          |
| Su                                     | 17µl          |
| Toplam Hacim                           | 25 µl         |

**Çizelge 15:** Sp1 için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri:

| <u>Sıcaklık</u> | <u>Süre</u> |            |
|-----------------|-------------|------------|
| 1. 95 °C        | 'de – 10 dk |            |
| 2. 94 °C        | 'de – 1 dk  | } 35 Döngü |
| 3. 60 °C        | 'de – 1 dk  |            |
| 4. 72 °C        | 'de – 1 dk  |            |
| 5. 72 °C        | 'de – 5 dk  |            |
| 6. 4 °C         | - ∞         |            |

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelinde UV ışık altında kontrol edildi. Sp1'e ait PCR ürün büyüklüğü ~265 bp'dir.

Aşağıda Sp1'e ait RFLP reaksiyon koşulları verilmiştir (Çizelge 16).

**Çizelge 16:** Col1A1 geni Sp1 polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu

| <u>Reaksiyon Bileşenleri</u>      | <u>Miktar</u>  |
|-----------------------------------|--|
| Tampon                            | 1 µl   |
| Restriksiyon Enzimi(MscI 5u/µl)   | 0,5 µl   |
| PCR ürünü                         | 5 µl   |
| Steril Bidistile Su               | 3,5 µl   |
| Toplam hacim                      | 10 µl  |
| Reaksiyon ısısı                   | 37 °C  |
| Reaksiyon süresi                  | 1 gece   |
| MscI (MlsI) enzimi tanıma noktası | 5'...T G G <sup>^</sup> C C A...3'<br>3'...A C C <sup>^</sup> G G T...5' |

Reaksiyon ürünleri %8'lik poliakrilamid jele yüklenerek 120 voltta elektroforeze tabi tutuldu, EtBr ile boyanarak UVIdoc jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi ve değerlendirildi. Kesim reaksiyonu sonunda 265 bç kesilmeyen PCR ürünü ile 247 bç ve 18 bç büyüklüklerinde kesim ürünleri elde edilmiştir.

### **3.2.4.5. Col1A1 geni -1997 G/T polimorfik bölgesine ait PCR reaksiyonu, PCR döngüsü ve RFLP reaksiyonu, koşulları**

-1997 G/T'ye ait PCR reaksiyon koşulu ve ısı döngüleri optimum koşulları sağlamak için bazı küçük modifikasyonlarla aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 17,18)<sup>67</sup>.

**Çizelge 17:** -1997 G/T için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR reaksiyon koşulları:

| <u>PCR Bileşeni</u>                    | <u>Miktar</u> |
|--|---------------|
| 10X PCR Tampon (MgCl <sub>2</sub> 'lü) | 2,5 µl        |
| Taq Polimeraz (5u/ µl)                 | 0,5 µl        |
| Primer 1 (10 pmol)                     | 0,5 µl        |
| Primer 2 (10 pmol)                     | 0,5 µl        |
| dNTP (2 mM)                            | 0,5 µl        |
| DNA (~100 ng)                          | 2 µl          |
| Su                                     | 18,5µl        |
| Toplam Hacim                           | 25 µl         |

**Çizelge 18:** -1997 G/T için optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR programı ısı döngüleri:

| <u>Sıcaklık</u> | <u>Süre</u> |            |
|-----------------|-------------|------------|
| 1. 94 °C        | 'de – 3 dk  |            |
| 2. 94 °C        | 'de – 40 sn | } 35 Döngü |
| 3. 57 °C        | 'de – 45 sn |            |
| 4. 72 °C        | 'de – 30 sn |            |
| 5. 72 °C        | 'de – 7 dk  |            |
| 6. 4 °C         | - ∞         |            |

Elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelinde UV ışık altında kontrol edildi.  
-1997 G/T'ye ait PCR ürün büyüklüğü 293 bç'dir.

Aşağıda -1997 G/T'ye ait RFLP reaksiyon koşulları verilmiştir (Çizelge 19).

**Çizelge 19:** Col1A1 geni -1997 G/T polimorfik bölgesine ait RFLP reaksiyonu

| <u>Reaksiyon Bileşenleri</u>        | <u>Miktar</u>  |
|-------------------------------------|--|
| Tampon                              | 1 µl   |
| Restriksiyon Enzimi (Eco3II 10u/µl) | 0,5 µl   |
| PCR ürünü                           | 5 µl   |
| Steril Bidistile Su                 | 3,5 µl   |
| Toplam hacim                        | 10 µl  |
| Reaksiyon ısısı                     | 37 °C  |
| Reaksiyon süresi                    | 1 gece   |
| Eco3II (BsaI) enzimi tanıma noktası | 5'...G G T C T C (N) <sub>1</sub> ^...3'<br>3'...C C A G A G (N) <sub>5</sub> ^...5' |

Reaksiyon ürünleri ayırım gücü yüksek olan %3'lük Basica LE (Promega) agaroz jelle yüklenerek 120 voltta elektroforeze tabi tutuldu, EtBr ile boyanarak UVIdoc jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi ve değerlendirildi. Kesim reaksiyonu sonunda, 293 bç kesilmeyen PCR ürünü ile 212 bç ve 81 bç büyüklüklerinde kesim ürünleri elde edilmiştir.



### **3.2.4.6.İstatistiksel Analiz**

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma, ortanca ve minimum-maksimum olarak özetlendi. Genotipler gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare ve Fisher Exact test istatistiği kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümlerin iki grup arasında karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümleri ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi  $p=0.05$  olarak alındı.

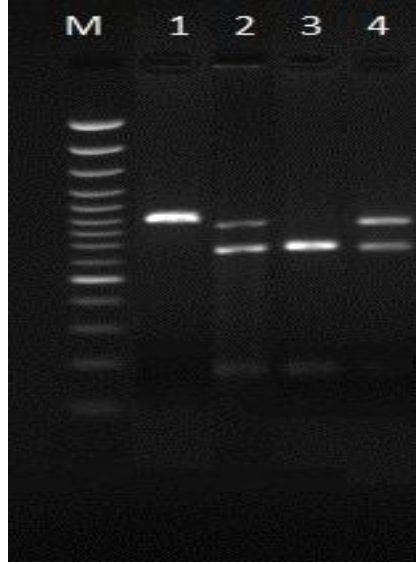
## 4. BULGULAR

Bu çalışmada postmenopozal osteoporozlu hastalarda (n=84) ve sağlıklı kadınlarda (n=45) Vitamin D Reseptör Geni Taq1, Apa1, Bsm1, Fok1 ve Tip 1 Kollajen Alfa A1 Zincir Geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları, osteoporozla ilişkili biyokimyasal değişkenler, lomber omuru ve femur boynu KMY, T ve Z skoru taranmıştır. Olgulara ait, VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI genotip kombinasyonları, BBAATT, bbAaTT, BBAAtt, bbaaTT, BbAATT, BBAATt, bbAATT, bbaaTt, genotip kombinasyonlarına sahip hasta ve kontrol bireylerine ait haplotipler, COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T genotip kombinasyonları, “GTGT” hariç meydana gelebileceği kesin olarak tahmin edilebilen genotip kombinasyonlarına ait haplotiplerin dağılımları, demografik özellikler, biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri, ailede osteoporoz öyküsünün hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, süt ve süt ürünleri tüketiminin günlük porsiyonlara göre hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, sigara tüketiminin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, kafein tüketiminin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, haftalık fiziksel aktivite sürelerinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, güneş alma süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, giyim tarzının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, giyim tarzının güneş alma süresi ile ilişkisinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı, iş durumunun hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları, VDR geni Taq1, Apa1, Bsm1, Fok1, COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmlerinin genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri, VDR geni TaqI, ApaI, BsmI, FokI, COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmlerinin genotip dağılımına göre KMY değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri değerlendirilmiştir.

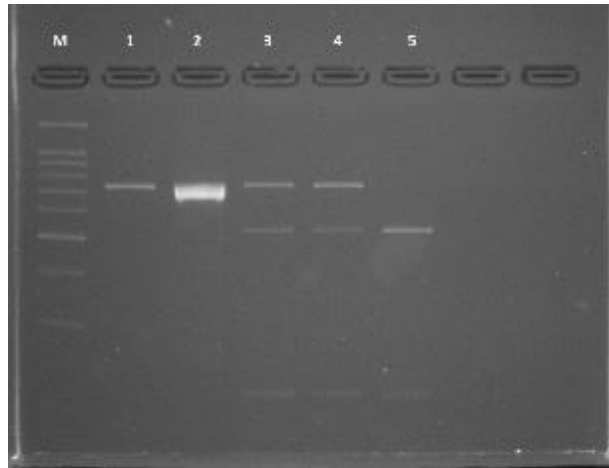
Hasta ve kontrol gruplarından alınan venöz kan örneklerinden genomik DNA elde edilmiştir ve bu örneklerin her bir polimorfizme uygun PCR-RFLP yöntemi ile genotiplendirilmesi yapılmıştır. VDR geni BsmI, ApaI, TaqI ve FokI, COL1A1 geni -1997 G/T ve Sp1 polimorfizmlerinin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüleri

sırası ile şekil 8, 9, 10, 11, 12 ve 13’de gösterilmektedir. Her bir polimorfizme ait jel görüntüsü analizlerine göre genotip verileri çizelge 20, 21’de verilmiştir.

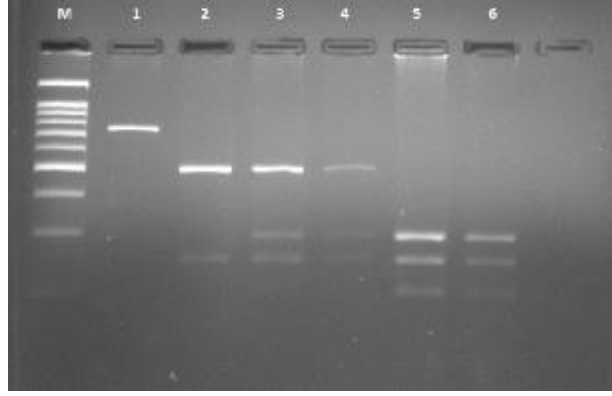
### VDR ve COL1A1 GENLERİ POLİMORFİZİMLERİNE AİT JEL GÖRÜNTÜLERİ



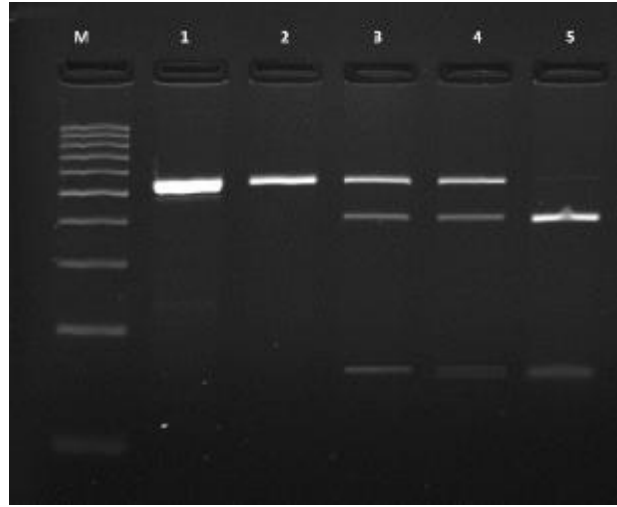
**Şekil 8:** VDR geni BsmI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü **M:** Markır (100 bç- 1100 bç) **1:**Kesim bölgesi taşımayan “BB” genotipi (825 bç) **2-4:** Heterozigot genotip “Bb” (825 bç + 650 bç + 175 bç) **3:** Kesim bölgesi taşıyan “bb” genotipi (650 bç + 175 bç)



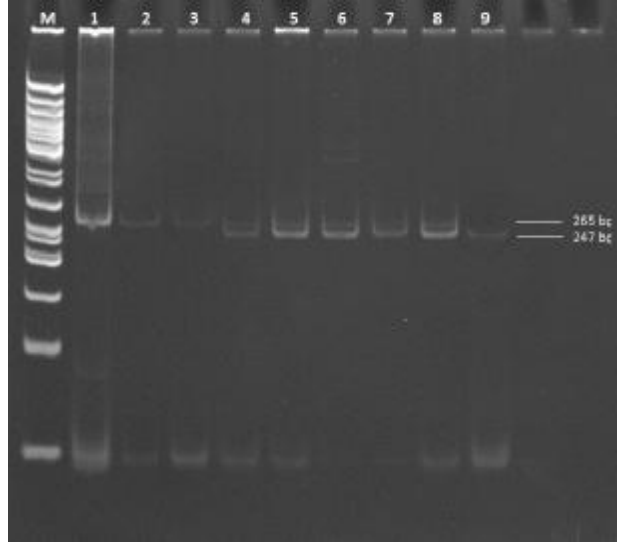
**Şekil 9:** VDR geni ApaI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü **M:** Markır (100 bç- 1100 bç) **1,2:** Kesim bölgesi taşımayan “AA” genotipi (740 bç) **3-4:** Heterozigot genotip “Aa” (740 bç + 529 bç + 211 bç) **5:** Kesim bölgesi taşıyan “aa” genotipi (529 bç + 211 bç)



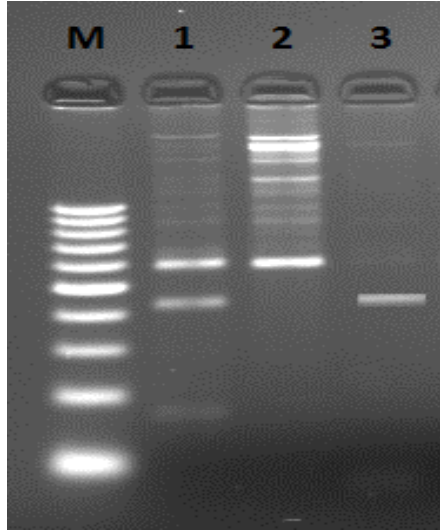
**Şekil 10:** VDR geni TaqI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü **M:** Markır (100 bç- 1100 bç) **1:** PCR ürünü (740 bç) **2:** Kesim bölgesi taşımayan “TT” genotipi (493 bç + 247 bç) **3,4:** Heterozigot genotip “Tt” (493 bç +291 bç + 247 bç + 202 bç ) **5,6:** Kesim bölgesi taşıyan “tt” genotipi (291 bç + 247 bç + 202 bç )



**Şekil 11:** VDR geni FokI polimorfizminin PCR-RFLP agaroz jel elektroforez görüntüsü **M:** Markır (50 bç- 500 bç) **1,2:** Kesim bölgesi taşımayan “FF” genotipi (265 bç) **3,4:** Heterozigot genotip “Ff” (265 bç + 196 bç + 69 bç) **5:** Kesim bölgesi taşıyan “ff” genotipi (196 bç + 69 bç)



**Şekil 12:** COL1A1 geni Sp1 polimorfizminin PCR-RFLP %8'lik poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü  
**M:** Markır (50 bç- 1350 bç) **1,2,3:** Kesim bölgesi taşımayan "SS" genotipi (265 bç)  
**4,5,6,8:** Heterozigot genotip "Ss" (265 bç + 247 bç + 18 bç) **7,9:** Kesim bölgesi taşıyan "ss" genotipi (247 bç + 18 bç)



**Şekil 13:** COL1A1 geni -1997 G/T polimorfizminin PCR-RFLP NuSive agaroz jel elektroforez görüntüsü  
**M:** Markır (50 bç- 500 bç) **1:**Heterozigot genotip "GT" (293bç + 212 bç + 81 bç) **2:** Kesim bölgesi taşımayan "TT" genotipi (293 bç) **3:** Kesim bölgesi taşıyan "GG" genotipi (212bç + 81 bç)

**Çizelge 20:** Hasta grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri

| Hasta Sayısı | Hasta No  | BsmI | ApaI | TaqI | FokI | Sp1 | -1997 G/T |
|--------------|-----------|------|------|------|------|-----|-----------|
| 1            | 1.Ü. T    | Bb   | AA   | Tt   | Ff   | SS  | TT        |
| 2            | 2.N.Ç.    | Bb   | Aa   | Tt   | ff   | SS  | GT        |
| 3            | 3.Z.M.    | bb   | Aa   | TT   | FF   | SS  | -         |
| 4            | 4.G.L.    | Bb   | Aa   | Tt   | FF   | SS  | TT        |
| 5            | 5.S.S.    | BB   | AA   | tt   | Ff   | SS  | GT        |
| 6            | 6.N.Ç.    | -    | -    | -    | Ff   | Ss  | -         |
| 7            | 13.N.M.   | bb   | aa   | TT   | ff   | SS  | GT        |
| 8            | 14.M.S.S. | Bb   | Aa   | Tt   | FF   | Ss  | TT        |
| 9            | 15.N.Ş.   | bb   | aa   | TT   | Ff   | Ss  | TT        |
| 10           | 16.A.I.Ö. | Bb   | -    | Tt   | FF   | Ss  | TT        |
| 11           | 17.A.Ç.   | Bb   | Aa   | Tt   | FF   | Ss  | TT        |
| 12           | 18.G.Y.   | Bb   | -    | Tt   | FF   | SS  | -         |
| 13           | 20.F.M.   | BB   | AA   | tt   | Ff   | Ss  | GT        |
| 14           | 21.N.F.   | Bb   | -    | -    | FF   | Ss  | GT        |
| 15           | 22.G.B.   | BB   | -    | -    | Ff   | SS  | GT        |
| 16           | 23.H.D.   | BB   | AA   | tt   | FF   | ss  | TT        |
| 17           | 24.N.E.   | BB   | AA   | tt   | Ff   | Ss  | GT        |
| 18           | 25.F.G.   | bb   | aa   | TT   | Ff   | SS  | TT        |
| 19           | 27.S.B.   | Bb   | AA   | Tt   | Ff   | SS  | GT        |
| 20           | 29.S.K.   | Bb   | AA   | Tt   | FF   | SS  | -         |
| 21           | 30.H.K.   | bb   | AA   | TT   | FF   | SS  | TT        |
| 22           | 31.M.Ç.   | Bb   | Aa   | Tt   | FF   | SS  | GG        |
| 23           | 32.Ç.İ.   | BB   | AA   | Tt   | FF   | SS  | GT        |
| 24           | 33.N.B.   | Bb   | Aa   | Tt   | ff   | SS  | GT        |

**Çizelge 20:** Hasta grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri (Devamı)

|    |         |    |    |    |    |    |    |
|----|---------|----|----|----|----|----|----|
| 25 | 34.G.A. | BB | AA | Tt | FF | SS | GG |
| 26 | 35.B.S. | BB | AA | tt | ff | SS | TT |
| 27 | 36.Ö.K. | Bb | Aa | Tt | ff | SS | -  |
| 28 | 37.G.Y. | BB | AA | Tt | FF | Ss | GT |
| 29 | 38.N.G. | bb | Aa | TT | FF | Ss | GT |
| 30 | 39.H.H. | Bb | AA | Tt | FF | Ss | TT |
| 31 | 40.Ş.E. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GT |
| 32 | 43.Ü.Ö. | BB | AA | tt | FF | SS | GT |
| 33 | 44.Z.Ö. | Bb | AA | TT | FF | Ss | GT |
| 34 | 45.T.G. | bb | Aa | TT | FF | SS | GT |
| 35 | 46.M.A. | Bb | Aa | Tt | Ff | SS | GT |
| 36 | 47.H.Ö. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GG |
| 37 | 48.N.Z. | BB | AA | tt | FF | ss | GG |
| 38 | 49.N.S. | bb | Aa | TT | Ff | ss | GG |
| 39 | 50.M.Ç. | Bb | Aa | Tt | ff | Ss | TT |
| 40 | 51.E.Ö. | Bb | Aa | Tt | Ff | Ss | GT |
| 41 | 52.S.Y. | bb | aa | TT | Ff | SS | GT |
| 42 | 53.C.A. | BB | AA | Tt | FF | SS | TT |
| 43 | 54.R.N. | bb | aa | TT | FF | SS | TT |
| 44 | 55.E.G. | bb | AA | TT | ff | SS | GT |
| 45 | 57.H.S. | bb | AA | TT | FF | SS | TT |
| 46 | 58.H.Ü. | bb | AA | TT | Ff | Ss | GT |
| 47 | 59.P.İ. | BB | AA | tt | FF | Ss | GT |
| 48 | 60.H.B. | BB | AA | tt | Ff | SS | GT |
| 49 | 61.G.A. | Bb | Aa | TT | Ff | -  | GT |
| 50 | 62.Ş.C. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GT |

**Çizelge 20:** Hasta grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri (Devamı)

|    |           |    |    |    |    |    |    |
|----|-----------|----|----|----|----|----|----|
| 51 | 63.D.G.   | bb | Aa | TT | ff | Ss | GT |
| 52 | 64.S.C.   | Bb | AA | Tt | Ff | SS | TT |
| 53 | 65.H.G.   | Bb | Aa | Tt | Ff | Ss | GT |
| 54 | 66.N.T.   | Bb | Aa | Tt | Ff | Ss | GT |
| 55 | 67.G.D.   | bb | Aa | TT | FF | Ss | GT |
| 56 | 68.E.K.   | Bb | Aa | Tt | Ff | SS | GT |
| 57 | 69.A.K.   | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GT |
| 58 | 70.S.A.   | bb | aa | TT | Ff | SS | GT |
| 59 | 71.Ü.T.   | BB | AA | tt | FF | Ss | GT |
| 60 | 72.N.C.   | -  | Aa | TT | Ff | Ss | GT |
| 61 | 73.S.D.   | Bb | Aa | Tt | FF | Ss | GT |
| 62 | 74.Z.M.   | bb | aa | Tt | FF | SS | GT |
| 63 | 75.N.U.   | bb | aa | TT | Ff | SS | TT |
| 64 | 76.F.K.   | bb | AA | TT | Ff | Ss | GT |
| 65 | 77.F.Ö.   | Bb | Aa | Tt | FF | ss | TT |
| 66 | 78.Z.G.   | bb | Aa | TT | FF | SS | GT |
| 67 | 80.E.G.   | BB | AA | Tt | FF | Ss | TT |
| 68 | 81.F.G.   | Bb | Aa | Tt | Ff | SS | GT |
| 69 | 82.G.Ş.   | bb | Aa | TT | Ff | SS | TT |
| 70 | 83.S.E.   | bb | AA | TT | Ff | -  | GT |
| 71 | 84.F.K.   | bb | Aa | TT | FF | Ss | GT |
| 72 | 85.S.N.S. | Bb | Aa | Tt | Ff | SS | GT |
| 73 | 86.G.Y.   | bb | Aa | TT | Ff | SS | GT |
| 74 | 87.E.M.   | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GT |
| 75 | 88.S.K.   | BB | AA | tt | ff | SS | GT |
| 76 | 89.F.G.   | bb | Aa | TT | FF | ss | GT |



**Çizelge 20:** Hasta grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri (Devamı)

|    |         |    |    |    |    |    |    |
|----|---------|----|----|----|----|----|----|
| 77 | 90.İ.B. | bb | aa | TT | Ff | SS | GT |
| 78 | 91.Z.K. | BB | AA | TT | Ff | Ss | GT |
| 79 | 92.H.A. | BB | AA | Tt | FF | SS | TT |
| 80 | 93.F.E. | bb | Aa | TT | Ff | SS | GG |
| 81 | 94.K.K. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GG |
| 82 | 95.S.A. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GG |
| 83 | 96.Ş.K. | Bb | AA | Tt | FF | SS | GT |
| 84 | 97.D.O. | BB | Aa | Tt | FF | Ss | GG |

**Çizelge 21:** Kontrol grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizm genotipleri

| <b>Kontrol no</b> | <b>Kontrol adı</b> | <b>BsmI</b> | <b>Apal</b> | <b>TaqI</b> | <b>FokI</b> | <b>Sp1</b> | <b>-1997 G/T</b> |
|-------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------------|
| 1                 | B.S.               | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | Ss         | GT               |
| 2                 | N. K.              | BB          | AA          | Tt          | Ff          | Ss         | GT               |
| 3                 | S. G.              | bb          | Aa          | TT          | Ff          | SS         | GT               |
| 4                 | F. P.              | bb          | Aa          | TT          | FF          | SS         | GT               |
| 5                 | F. K.              | Bb          | Aa          | Tt          | Ff          | SS         | TT               |
| 6                 | Ü. S.              | Bb          | Aa          | Tt          | Ff          | SS         | GG               |
| 7                 | K. E.              | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | SS         | TT               |
| 8                 | N. M.              | bb          | Aa          | TT          | FF          | SS         | TT               |
| 9                 | N. S.              | BB          | AA          | tt          | Ff          | SS         | TT               |
| 10                | A. K.              | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | SS         | GT               |
| 11                | A.S.               | BB          | AA          | TT          | Ff          | SS         | TT               |
| 12                | A.K.               | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | -          | TT               |
| 13                | A. A.              | Bb          | Aa          | Tt          | Ff          | Ss         | TT               |
| 14                | E. D.              | bb          | aa          | TT          | FF          | SS         | TT               |
| 15                | H.Ö.               | bb          | AA          | TT          | ff          | -          | TT               |
| 16                | İ.Y.               | bb          | Aa          | TT          | FF          | Ss         | TT               |
| 17                | A.A.               | BB          | AA          | tt          | FF          | SS         | GT               |
| 18                | A. S.              | Bb          | AA          | Tt          | FF          | SS         | GT               |
| 19                | G. D.              | bb          | Aa          | TT          | Ff          | -          | GT               |
| 20                | Ş. Y.              | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | SS         | GT               |
| 21                | R. E.              | bb          | Aa          | TT          | FF          | SS         | GT               |
| 22                | Z. T.              | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | Ss         | GT               |
| 23                | B. Ö.              | bb          | Aa          | TT          | ff          | SS         | TT               |
| 24                | A.K.               | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | Ss         | TT               |
| 25                | A.K.               | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | SS         | GT               |
| 26                | A.K.               | bb          | Aa          | TT          | FF          | ss         | TT               |
| 27                | G.D.               | Bb          | Aa          | Tt          | FF          | SS         | GT               |
| 28                | R. T.              | bb          | aa          | TT          | Ff          | SS         | TT               |
| 29                | N. A.              | Bb          | Aa          | TT          | FF          | ss         | TT               |
| 30                | S. A.              | Bb          | Aa          | TT          | FF          | Ss         | GG               |

**Çizelge 21:** Kontrol grubu VDR ve COL1A1 genleri polimorfizim genotipleri (Devamı)

|    |       |    |    |    |    |    |    |
|----|-------|----|----|----|----|----|----|
| 31 | F.T.  | Bb | AA | Tt | Ff | SS | TT |
| 32 | Ü. A. | bb | Aa | TT | FF | SS | TT |
| 33 | N. Ü. | bb | aa | TT | FF | Ss | GT |
| 34 | Z. T. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | -  |
| 35 | B. İ. | Bb | AA | Tt | FF | SS | GT |
| 36 | N. S. | BB | AA | tt | Ff | ss | GG |
| 37 | N. E. | Bb | Aa | TT | FF | SS | GG |
| 38 | N. G. | BB | AA | Tt | -  | SS | GT |
| 39 | S. B. | bb | aa | TT | FF | Ss | GT |
| 40 | E. S. | BB | AA | Tt | FF | Ss | -  |
| 41 | S. M. | Bb | Aa | Tt | FF | SS | GG |
| 42 | Ü.A.  | BB | AA | tt | Ff | SS | GT |
| 43 | G. E. | Bb | Aa | Tt | ff | -  | GG |
| 44 | S. K. | BB | AA | Tt | Ff | Ss | GT |
| 45 | M. U. | Bb | Aa | TT | Ff | SS | GG |

**Çizelge 22:** VDR geni BsmI, ApaI, TaqI ve FokI polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları (n=Birey sayısı)

| VDR Geni polimorfizmleri         |        | Hasta |             | Kontrol |             | c2 Testi     |
|----------------------------------|--------|-------|-------------|---------|-------------|--------------|
|                                  |        | n     | %           | n       | %           |              |
| <b>Bsm I</b><br>Genotip Frekansı | Bb     | 35    | 42,7        | 22      | 48,9        | 0,77         |
|                                  | BB     | 20    | 24,4        | 9       | 20          |              |
|                                  | bb     | 27    | 32,9        | 14      | 31,1        |              |
| Toplam                           |        | 82    | 100         | 45      | 100         |              |
| <b>Bsm I</b><br>Allel Frekansı   | B      | 75    | 45,7        | 40      | 44,4        | 0,32         |
|                                  | b      | 89    | 54,3        | 50      | 55,6        |              |
|                                  | Toplam |       | 164         | 100     | 90          |              |
| <b>Apa I</b><br>Genotip Frekansı | Aa     | 39    | <b>49,4</b> | 28      | <b>62,2</b> | 0,38         |
|                                  | AA     | 31    | 39,2        | 13      | 28,9        |              |
|                                  | aa     | 9     | 11,4        | 4       | 8,9         |              |
| Toplam                           |        | 79    | 100         | 45      | 100         |              |
| <b>Apa I</b><br>Allel Frekansı   | A      | 101   | 63,9        | 54      | 60          | <b>0,05*</b> |
|                                  | a      | 57    | 36,1        | 36      | 40          |              |
|                                  | Toplam |       | 158         | 100     | 90          |              |
| <b>Taq I</b><br>Genotip Frekansı | Tt     | 39    | 48,2        | 22      | 48,9        | 0,59         |
|                                  | TT     | 30    | 37          | 19      | 42,2        |              |
|                                  | tt     | 12    | 14,8        | 4       | 8,9         |              |
| Toplam                           |        | 81    | 100         | 45      | 100         |              |
| <b>Taq I</b><br>Allel Frekansı   | T      | 99    | 61,1        | 60      | 66,7        | 0,14         |
|                                  | t      | 63    | 38,9        | 30      | 33,3        |              |
|                                  | Toplam |       | 162         | 100     | 90          |              |
| <b>Fok I</b><br>Genotip Frekansı | Ff     | 32    | 38,1        | 14      | 31,8        | 0,51         |
|                                  | FF     | 43    | <b>51,2</b> | 27      | <b>61,4</b> |              |
|                                  | ff     | 9     | 10,7        | 3       | 6,8         |              |
| Toplam                           |        | 84    | 100         | 44      | 100         |              |
| <b>Fok I</b><br>Allel Frekansı   | F      | 118   | 70,2        | 68      | 77,3        | 0,07         |
|                                  | f      | 50    | 29,8        | 20      | 22,7        |              |
|                                  | Toplam |       | 168         | 100     | 88          |              |

VDR geni BsmI polimorfizmi açısından, 82 hasta ile 45 kontrol olgusu genotiplendirilmiş olup p değeri 0,77, allel frekansı p değeri ise 0,32, TaqI polimorfizmi için 81 hasta ile 45 kontrol bireyi taranmış olup genotip frekansı p değeri 0,59, allel frekansı p değeri ise 0,14 olarak hesaplanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir (Çizelge 22).

Apa I polimorfizminde 79 hasta ile 45 kontrol çalışılmıştır. “Aa” genotip frekansı yüzdelerine bakıldığında kontrollerin %12,8 oranında daha fazla “Aa” genotipe sahip olduğu, “AA” genotip yüzdelerine bakıldığında ise hastaların %10,3 oranında daha fazla olduğu görülmektedir. Bu yüzde farklarına rağmen hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. “A” allelinin %3,9 oranında hastalarda, “a” allel frekansının ise %3,9 oranında kontrollerde daha yüksek olması ise hastalarda “A” alleli yönünde bir artış meylinin olduğunu göstermesi bakımından anlamlıdır (p = 0,05) (Çizelge 22).

FokI polimorfizmi genotip frekansı tespitinde 84 hasta ile 44 kontrol, birlikte çalışılmış olup kontrollerin daha yüksek oranda (%10,2) “FF” genotipine sahip olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olmadığı görülmüştür (p= 0,51). Allel frekansı açısından da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,07) (Çizelge 22).

**Çizelge 23:** Col1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları(n=Birey sayısı)

| COL1A1 Geni polimorfizmleri     |        | Hasta |             | Kontrol |             | c2 Testi |
|---------------------------------|--------|-------|-------------|---------|-------------|----------|
|                                 |        | n     | %           | n       | %           |          |
| Sp1 I<br>Genotip<br>Frekans     | Ss     | 28    | 34,1        | 11      | 26,8        | 0,70     |
|                                 | SS     | 49    | 59,8        | 27      | 65,9        |          |
|                                 | ss     | 5     | 6,1         | 3       | 7,3         |          |
|                                 | Toplam | 82    | 100         | 41      | 100         |          |
| Sp1 I<br>Allel<br>Frekans*      | S/G    | 126   | 76,8        | 65      | 79,3        | 0,82     |
|                                 | s/T    | 38    | 23,2        | 17      | 20,7        |          |
|                                 | Toplam | 164   | 100         | 82      | 100         |          |
| -1997 G/T<br>Genotip<br>Frekans | GT     | 48    | <b>60,8</b> | 19      | <b>44,2</b> | 0,20     |
|                                 | TT     | 21    | 26,6        | 17      | 39,5        |          |
|                                 | GG     | 10    | 12,6        | 7       | 16,3        |          |
|                                 | Toplam | 79    | 100         | 43      | 100         |          |
| -1997 G/T<br>Allel<br>Frekans   | G      | 68    | 43          | 33      | 38,4        | 0,73     |
|                                 | T      | 90    | 57          | 53      | 61,6        |          |
|                                 | Toplam | 158   | 100         | 86      | 100         |          |

COL1A1 geni Sp1 polimorfizmi genotip taramasında 82 hasta ile 41 kontrol çalışılmış olup genotip ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırasıyla  $p= 0,82$  ve  $p=0,73$ ) (Çizelge 23). \* (“S” alleli “G” olarak, “s” alleli “T” olarak ta gösterilebilmektedir.)

-1997 G/T polimorfizmi genotip frekansı yüzdesi açısından, hastaların %16,6 oranında daha fazla “GT” genotipine sahip olduğu görülse de, hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0,20$ ). Allel frekanslarında da anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0,73$ ) (Çizelge 23).

**Çizelge 24:** VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI genotip kombinasyonlarına sahip hasta ve kontrol bireyleri (n=Birey sayısı)

| Genotip Kombinasyonu | Olası haplotipler                       | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi |
|----------------------|---|-------|------|---------|------|----------|
|                      |   | n     | %    | n       | %    |          |
| BbAaTt               | BAT, BAAt, bAT, baT, bAt, bat, BaT, bAt | 24    | 30,7 | 16      | 35,5 | 0,77     |
| BBAATT               | BAT                                     | 1     | 1,3  | 1       | 2,2  |          |
| BbAATt               | BAT, bAT, bAt, BAAt                     | 6     | 7,7  | 3       | 6,7  |          |
| bbAaTT               | bAT, baT                                | 12    | 15,4 | 9       | 20   |          |
| BBAAtt               | BAAt                                    | 11    | 14,1 | 4       | 8,9  |          |
| bbaaTT               | baT                                     | 8     | 10,2 | 4       | 8,9  |          |
| BbAATT               | BAT, bAT                                | 2     | 2,6  | 0       | 0    |          |
| BBAATt               | BAT, BAAt                               | 6     | 7,7  | 4       | 8,9  |          |
| bbAATT               | bAT                                     | 5     | 6,4  | 1       | 2,2  |          |
| BbAaTT               | BAT, BaT, bAT, baT                      | 1     | 1,3  | 3       | 6,7  |          |
| bbaaTt               | baT, bat                                | 1     | 1,3  | 0       | 0    |          |
| BBAaTt               | BAT, BaT, BAAt, Bat                     | 1     | 1,3  | 0       | 0    |          |
| Toplam               |   | 78    | 100  | 45      | 100  |          |
| Tespit edilemeyen    |   | 6     |      | 0       |      |          |

Hasta ve kontrollerde Çizelge 24 de VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI genotip kombinasyonları ve bu kombinasyonlardan meydana gelebilecek haplotipler belirtilmiş olup, sadece 6 hastanın genotip kombinasyonları belirlenememiştir. Hasta ve kontroller arasında genotip kombinasyonlarının dağılımları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,77).

**Çizelge 25:** Meydana getirebileceği kesin olarak tahmin edilebilen Çizelge 24 deki VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI genotip kombinasyonlarına (BBAATT, bbAaTT, BBAAtt, bbaaTT, BbAATT, BBAATt, bbAATT, bbaaTt) ait haplotiplerin, hasta ve kontrol bireylerindeki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Haplotip         | Hasta |             | Kontrol |             | c2 Testi |
|------------------|-------|-------------|---------|-------------|----------|
|                  | n     | %           | n       | %           |          |
| BAT              | 12    | 12,7        | 6       | 13,1        | 0,89     |
| <b>BAt</b>       | 29    | <b>30,8</b> | 12      | 26,1        |          |
| bAT              | 23    | 24,5        | 11      | 23,9        |          |
| <b>baT</b>       | 28    | 29,8        | 17      | <b>36,9</b> |          |
| bAt              | 1     | 1,1         | 0       | 0           |          |
| bat              | 1     | 1,1         | 0       | 0           |          |
| BaT              | 0     | 0           | 0       | 0           |          |
| bAt              | 0     | 0           | 0       | 0           |          |
| Toplam           | 94    | 100         | 46      | 100         |          |
| Hesap edilemeyen | 74    |             | 44      |             |          |

Çizelge 25’de tüm genotipler için homozigot (BBAATT, BBAAtt, bbaaTT, bbAATT) ve bir allel için heterozigot olan (bbAaTT, BbAATT, BBAATt, bbaaTt) genotip kombinasyonlarının meydana getirebileceği kesin olarak tahmin edilebilen haplotipleri gösterilmiştir. Genotip kombinasyonlarında birden fazla heterozigot allel bulunduran genotiplerin, haplotipleri tahmin edilemediği için hesaplama dahil edilmemiştir. Hasta ve konrotroller arasında haplotiplerin allelik frekans dağılımları bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p= 0,89$ ). Bu verilere göre hastalarda en sık “BAt” haplotipi, kontrollerde ise “baT” haplotipi görülmektedir.



**Çizelge 26:** COL1A1 geni -1997 G/T ve Sp1 genotip kombinasyonlarına sahip hasta ve kontrol bireyleri. Sp1 polimorfizmine ait “S” alleli “G” olarak “s” alleli ise “T” olarak gösterilmiştir. (n=Birey sayısı)

| Genotip Kombinasyonu | Olası haplotipler | Hasta |              | Kontrol |             | c <sup>2</sup> Testi |
|----------------------|-------------------|-------|--------------|---------|-------------|----------------------|
|                      |                   | n     | %            | n       | %           |                      |
| TTGG                 | TG                | 12    | 16,44        | 10      | 25,6        |                      |
| <b>GTGG</b>          | GG, TG            | 26    | <b>35,61</b> | 12      | <b>30,7</b> |                      |
| GGGG                 | GG                | 6     | 8,21         | 4       | 10,3        |                      |
| TTGT                 | TG,TT             | 6     | 8,21         | 3       | 7,7         |                      |
| GTGT                 | GG, TG, GT,TT     | 17    | 23,3         | 6       | 15,4        | 0,84                 |
| GGGT                 | GG, GT            | 1     | 1,36         | 1       | 2,6         |                      |
| TTTT                 | TT                | 2     | 2,73         | 2       | 5,1         |                      |
| GTTT                 | GT,TT             | 1     | 1,36         | 0       | 0           |                      |
| GGTT                 | GT                | 2     | 2,73         | 1       | 2,6         |                      |
| Toplam               |                   | 73    | 100          | 39      | 100         |                      |
| Tespit edilemeyen    |                   | 5     |              | 6       |             |                      |

COL1A1 geni -1997 G/T ve Sp1 genotip kombinasyonları ve bu kombinasyonlardan meydana gelebilecek haplotipler çizelge 26’da gösterilmiştir. Hasta ve kontroller arasında genotip kombinasyonlarının dağılımları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,84). Bu sonuçlara göre hasta ve kontroller arasında en sık “**GTGG**” genotip kombinasyonunun görüldüğü saptanmıştır.

**Çizelge 27:** COL1A1 geni -1997G/T ve Sp1 genotip kombinasyonlarından “GTGT” hariç meydana gelebileceği kesin olarak tahmin edilebilen genotip kombinasyonlarına ait haplotiplerin, hasta ve kontrol bireylerindeki dağılımları (n=Birey sayısı)

| <b>Haplotip</b>  | <b>Hasta</b> |           | <b>Kontrol</b> |           | <b>c2 Testi</b> |
|------------------|--------------|-----------|----------------|-----------|-----------------|
|                  | n            | %         | n              | %         |                 |
| GG               | 40           | 34,5      | 21             | 31,8      | 0,95            |
| <b>TG</b>        | 58           | <b>50</b> | 35             | <b>53</b> |                 |
| GT               | 6            | 5,2       | 3              | 4,6       |                 |
| TT               | 12           | 10,3      | 7              | 10,6      |                 |
| Toplam           | 116          | 100       | 66             | 100       |                 |
| Hesap edilemeyen | 52           |           | 24             |           |                 |

COL1A1 geni -1997G/T ve Sp1 polimorfizmleri genotip kombinasyonlarından “GTGT” hariç, meydana gelebileceği kesin olarak tahmin edilebilen genotip kombinasyonlarına ait haplotiplerin allelik frekans dağılımları hasta ve kontroller arasında anlamlı olarak bulunmamıştır ( $p= 0,95$ ). Genotip kombinasyonlarında birden fazla heterozigot allel bulunduran genotiplerin (GTGT), haplotipleri tahmin edilemediği için hesaplamaya dahil edilmemiştir. Hasta ve kontrollerde en sık “TG” haplotipi ardından da “GG” haplotipinin görüldüğü tespit edilmiştir. (Çizelge 27)

**Çizelge 28:** Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

| <b>Özellik</b>                           | <b>Hasta Grubu<br/>(ort±SD)<br/>Median (Min-max)</b> | <b>Kontrol Grubu<br/>(ort±SD)<br/>Median (Min-max)</b> | <b>p</b> |
|--|--|--|----------|
| Sayı (n)                                 | 84   | 45   |          |
| Yaş (Yıl)                                | 64,48±9,61<br>64 (44-84)                             | 58,31 ±8,61<br>56 (47-90)                              | <0,001   |
| Boy (cm)                                 | 156,49 ±5,79<br>157 (130-165)                        | 160,07±6,02<br>160 (149-178)                           | <0,001   |
| Kilo (kg)                                | 63,96 ±11,82<br>62 (45-90)                           | 78,20±12,90<br>79 (46-110)                             | <0,001   |
| VKİ (kg/m <sup>2</sup> )                 | 26,13±4,89<br>25,5 (16,5-38,7)                       | 30,56±4,99<br>29,85 (18-43)                            | <0,001   |
| Menarş yaşı                              | 13,52 ± 1,3<br>13 (11-17)                            | 13,07±0,91<br>13(11-15)                                | 0,037    |
| Menopoz yaşı                             | 45,87±5,103<br>46 (35-57)                            | 48,60±3,54<br>48 (40-55)                               | 0,002    |
| Menopoz süresi                           | 18,63±10,66<br>18 (1-41)                             | 9,71±8,32<br>7 (1-42)                                  | <0,001   |
| Lomber omuru<br>KMY (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,73±0,11<br>0,73 (0,40-1,07)                        | 0,92±0,08<br>0,92 (0,78-1,14)                          | <0,001   |
| Lomber T skor                            | -2,90±1,05<br>-2,80 (-6,5-0,20)                      | -1,09±0,76<br>-1,10 (-2,40-0,90)                       | <0,001   |
| Lomber Z skor                            | -1,23±1,25<br>-1,40 (-5,50-3,10)                     | 0,11±0,86<br>0 (-1,50-2,80)                            | <0,001   |
| Femur Boyun<br>KMY (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,67 ± 0,09<br>0,67 (0,39-0,86)                      | 0,86±0,09<br>0,87 (0,65-1,02)                          | <0,001   |
| Femur Boyun T<br>skor                    | -2,0 ±0,84<br>-2,10 (-4,10-0,10)                     | -0,63±0,81<br>-0,70 (-2,40-0,70)                       | <0,001   |
| Femur Boyun Z<br>skor                    | -0,58±1,05<br>-0,45 (-2,80-1,80)                     | 0,16±0,83<br>0,20 (-1,90-1,70)                         | <0,001   |

Gruplar arasında demografik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı (p=0,05) farklılıklar bulunmuştur. Hasta grubunda kontrol grubuna göre yaşın yüksek, menopoz süresinin uzun, vücut kitle indeksi (VKİ), menopoz yaşı Lomber KMY (g/cm<sup>2</sup>)'nin, Lomber omur T skoru, ve Femur Boyun T skorunun düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 28).

**Çizelge 29:** Hasta ve kontrol grupları biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri

| <b>Biyokimyasal Değişken</b> | <b>Hasta Grubu (ort±SD)<br/>Median (Min -max)</b> | <b>Kontrol Grubu (ort±SD)<br/>Median (Min-max)</b> | <b>p</b> |
|------------------------------|---|--|----------|
| Sayı (n)                     | 84  | 45   |          |
| Ca (mg/dl)                   | 9,74 ±0,39<br>9,8 (8,9-10,6)                      | 9,43 ±0,36<br>9,3 (8,8- 10,4)                      | <0,001   |
| InP (mg/dl)                  | 3,57 ±0,53<br>3,6 (2,3-4,8)                       | 3,77±0,55<br>3,7(2,8- 5,3)                         | 0,049    |
| ALP (U/L)                    | 178,23 ±66,45<br>165,5 (73-496)                   | 193,13±39,27<br>188(103- 310)                      | 0,170    |
| Osteokalsin (ng/ml)          | 20,69±15,10<br>18,69 (6,64-136,9)                 | 20,54 ±6,75<br>19,1(7,36-41,49)                    | 0,950    |
| β-Crosslaps (ng/ml)          | 0,29 ±0,20<br>0,24 (0,03-0,96)                    | 0,26±0,13<br>0,25 (0,07-0,65)                      | 0,371    |
| Vit D3                       | 34,84±18,77<br>32 (5-98)                          | 17,97±10,27<br>16 (4-49)                           | <0,001   |
| E2 (pg/ml)                   | 18,98±7,95<br>20 (5-49,05)                        | 15,34±19,67<br>10,14 (5-118,7)                     | 0,139    |
| PTH (pg/ml)                  | 61,57±23,25<br>53,27 (20,44-164,7)                | 47,43±15,51<br>44,61 (18,89-79,49)                 | <0,001   |

Hasta ve kontrol grupları arasında Ca (mg/dl), VitD3 ve PTH (pg/ml) biyokimyasal değişkenleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiş ( $p<0,001$ ) olup, diğer değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 29).

**Çizelge 30:** Ailede osteoporoz öyküsünün hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Aile osteoporoz öyküsü | Hasta |      | Kontrol |    | c2 Testi |
|------------------------|-------|------|---------|----|----------|
|                        | n     | %    | n       | %  |          |
| Var                    | 44    | 69,8 | 12      | 30 | 0        |
| Yok                    | 19    | 30,2 | 28      | 70 |          |

Hasta ve kontrol grupları arasında ailede osteoporoz öyküsü açısından anlamlı farklılık vardır. Hastalar arasında %69,8 oranında, kontroller arasında ise % 30 oranında ailesel öykü mevcuttur (p=0) (Çizelge 30) .

**Çizelge 31:** Süt ve süt ürünleri tüketiminin günlük porsiyonlara göre hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Süt ve süt ürünleri tüketimi (Günlük porsiyon) | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi |
|--|-------|------|---------|------|----------|
|  | n     | %    | n       | %    |          |
| <1   | 11    | 13,1 | 10      | 22,2 | 0,10     |
| 1-2  | 46    | 54,8 | 16      | 35,6 |          |
| 3-4  | 27    | 32,1 | 19      | 42,2 |          |

Hasta ve kontrol grubunun süt ve süt ürünleri tüketim yüzdeleri arasında farklılık görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hastalarda günlük olarak , <1 ve 3-4 porsiyon tüketiminin kontrollere göre daha düşük, 1-2 porsiyon tüketiminin ise daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 31).

**Çizelge 32:** Sigara tüketiminin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Sigara Tüketimi | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi |
|-----------------|-------|------|---------|------|----------|
|                 | n     | %    | n       | %    |          |
| Yok             | 61    | 72,6 | 28      | 62,2 | 0,16     |
| Var             | 23    | 27,4 | 17      | 37,8 |          |

Sigara tüketimi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur (p=0,16) (Çizelge 32).

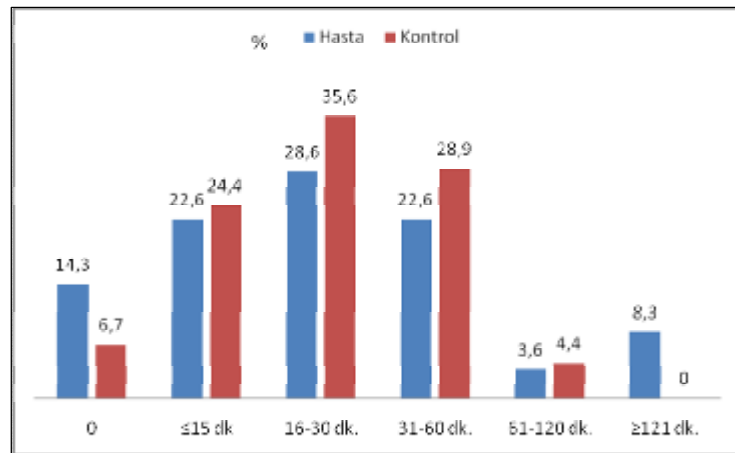
**Çizelge 33:** Kafein tüketiminin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Kafein Tüketimi | Hasta |      | Kontrol |    | c2 Testi      |
|-----------------|-------|------|---------|----|---------------|
|                 | n     | %    | n       | %  |               |
| Yok             | 49    | 58,3 | 18      | 40 | <b>0,001*</b> |
| Var             | 35    | 41,7 | 27      | 60 |               |

Kafein tüketimi hastalarda %41,7 oranında kontrollerde ise %60 oranında bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p=0,001) (Çizelge 33).

**Çizelge 34:** Güneş alma süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Güneş alma süresi (Günlük) | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi |
|----------------------------|-------|------|---------|------|----------|
|                            | n     | %    | n       | %    |          |
| 0                          | 12    | 14,3 | 3       | 6,7  | 0,13     |
| ≤15 dk                     | 19    | 22,6 | 11      | 24,4 |          |
| 16-30 dk.                  | 24    | 28,6 | 16      | 35,6 |          |
| 31-60 dk.                  | 19    | 22,6 | 13      | 28,9 |          |
| 61-120 dk.                 | 3     | 3,6  | 2       | 4,4  |          |
| ≥121 dk.                   | 7     | 8,3  | 0       | 0    |          |



**Şekil 14:** Hasta ve kontrol gruplarının güneşlenme sürelerinin % olarak gösterilmesi.

Hasta ve kontrol gruplarında güneşlenme süreleri incelendiğinde kontrol grubunun genel olarak daha yüksek oranda güneş aldığı gözlenmiştir (Çizelge 34, Şekil 14).

**Çizelge 35:** Giyim tarzının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Giyim Tarzı | Hasta |             | Kontrol |             | c2 Testi |
|-------------|-------|-------------|---------|-------------|----------|
|             | n     | %           | n       | %           |          |
| Geleneksel  | 43    | <b>51,2</b> | 16      | 35,6        | 0,07     |
| Batı        | 41    | 48,8        | 29      | <b>64,4</b> |          |

Hasta ve kontrol grupları arasında geleneksel ve batı giyim tarzı yüzdeleri karşılaştırıldığında, hastalarda geleneksel giyim tarzının (%51,2) kontrollerde ise batı giyim tarzının (%64,4) daha baskın olması yönünde bir farklılık görülse de istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (p=0,065) (Çizelge 35).

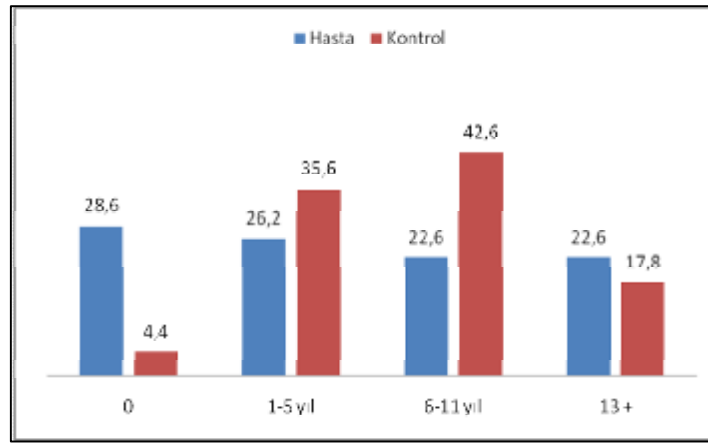
**Çizelge 36:** Giyim tarzının güneş alma süresi ile ilişkisinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| Giyim      | Güneş     | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi |
|------------|-----------|-------|------|---------|------|----------|
|            |           | n     | %    | n       | %    |          |
| Geleneksel | 0         | 8     | 18,6 | 2       | 12,5 | 0,39     |
|            | ≤15 dk    | 9     | 20,9 | 6       | 37,5 |          |
|            | 16-30 dk. | 10    | 23,3 | 4       | 25,0 |          |
|            | 31-60 dk. | 10    | 23,3 | 4       | 25   |          |
|            | 61-12 dk. | 1     | 2,3  | 0       | 0    |          |
|            | ≥121 dk.  | 5     | 11,6 | 0       | 0    |          |
| Batı       | 0         | 4     | 9,8  | 1       | 3,4  | 0,48     |
|            | ≤15 dk    | 10    | 24,4 | 5       | 17,2 |          |
|            | 16-30 dk. | 14    | 34,1 | 12      | 41,4 |          |
|            | 31-60 dk. | 9     | 22   | 9       | 31   |          |
|            | 61-12 dk. | 2     | 4,9  | 2       | 6,9  |          |
|            | ≥121 dk.  | 2     | 4,9  | 0       | 0    |          |

Geleneksel ve batı giyim tarzlarının güneş alma süresi ile ilişkisinin, hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığa sahip olmadığı görülmektedir (p>0,05) (Çizelge 36).

**Çizelge 37:** Eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı (n=Birey sayısı)

| Eğitim süresi | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi      |
|---------------|-------|------|---------|------|---------------|
|               | n     | %    | n       | %    |               |
| Yıl           |       |      |         |      |               |
| 0             | 24    | 28,6 | 2       | 4,4  | <b>0,001*</b> |
| 1-5           | 22    | 26,2 | 16      | 35,6 |               |
| 6-11          | 19    | 22,6 | 19      | 42,6 |               |
| 13 +          | 19    | 22,6 | 8       | 17,8 |               |



**Şekil 15:** Eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımının % olarak gösterimi

Eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı incelendiğinde kontrollerin hastalara oranla daha uzun süre eğitim aldıkları görülmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmektedir ( $p=0,001$ ) (Çizelge 37, Şekil 15).

**Çizelge 38:** İş durumunun hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımları (n=Birey sayısı)

| İş durumu | Hasta |      | Kontrol |      | c2 Testi |
|-----------|-------|------|---------|------|----------|
|           | n     | %    | n       | %    |          |
| Ev hanımı | 56    | 66,7 | 31      | 68,9 | 0,48     |
| Çalışan   | 28    | 33,3 | 14      | 31,1 |          |

Hasta ve kontrollerin iş durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0,48$ ) (Çizelge 38).



**Çizelge 39:** VDR geni TaqI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| Polimorfizm    | TaqI                               |                                    |                                    |              |
|----------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------|
| Hasta          | Tt                                 | TT                                 | tt                                 | p            |
|                | Ort±SD                             | Ort±SD                             | Ort±SD                             |              |
|                | Median (Min-Max)                   | Median (Min-Max)                   | Median (Min-Max)                   |              |
| <b>n</b>       | <b>39</b>                          | <b>30</b>                          | <b>12</b>                          |              |
| Ca             | 9,70±0,39<br>9,70 (9-10,60)        | 9,79±0,41<br>9,80 (8,90-10,60)     | 9,72±0,31<br>9,70 (9,20-10,40)     | 0,58         |
| İNP            | 3,60±0,47<br>3,60 (2,70-4,80)      | 3,61±0,58<br>3,50 (2,40-4,60)      | 3,48±0,50<br>3,45 (2,60-4,20)      | 0,81         |
| ALP            | 171,44±62,75<br>160 (73-338)       | 179,60±76,10<br>162,50 (88-496)    | 189,17±58,43<br>190 (106-324)      | 0,56         |
| Osteokalsin    | 19,70±8,20<br>18,55 (6,64-43,77)   | 23,48±22,88<br>19,20 (8,43-136,90) | 16,72±7,37<br>15,88 (7,92-28,94)   | 0,50         |
| βcrossLaps     | 0,27±0,20<br>0,21 (0,03-0,78)      | 0,33±0,21<br>0,27 (0,10-0,96)      | 0,23±0,14<br>0,25 (0,04-0,46)      | 0,28         |
| VitD3          | 34,34±18,92<br>32 (5-98)           | 34,50±18,89<br>32 (10-84)          | 39,23±20,85<br>30 (16-86)          | 0,78         |
| E2             | 18,70±8,79<br>18,41 (5-49,05)      | 20,36±6,90<br>21,17 (5-35,17)      | 17,81±7,61<br>18,52 (5-30,54)      | 0,24         |
| PTH            | 60,82±21,77<br>57,54 (35,81-125,6) | 61,63±21,67<br>61,32 (20,44-107,7) | 64,52±33,32<br>56,33(37,48-164,70) | 0,84         |
| <b>Kontrol</b> |                                    |                                    |                                    |              |
| <b>n</b>       | <b>22</b>                          | <b>19</b>                          | <b>4</b>                           |              |
| Ca             | 9,49±0,30<br>9,55 (8,90-9,90)      | 9,42±0,43<br>9,30 (8,80-10,40)     | 9,12±0,12<br>9,10 (9-9,30)         | 0,12         |
| İNP            | 3,77±0,61<br>3,75 (2,80-5,30)      | 3,76±0,53<br>3,70 (2,80-4,80)      | 3,77±0,15<br>3,70 (3,70-4)         | 0,97         |
| ALP            | 188,41±45,73<br>180,50 (103-310)   | 200,21±34,37<br>191 (147-273)      | 185,50±18,21<br>181 (169-211)      | 0,40         |
| Osteokalsin    | 19,86±7,47<br>17,89 (7,36-41,49)   | 21,46±6,64<br>20,10 (14,61-40,24)  | 19,93±1,87<br>20,19 (17,53-21,83)  | 0,73         |
| βcrossLaps     | 0,26±0,13<br>0,25 (0,07-0,65)      | 0,24±0,10<br>0,25 (0,09-0,51)      | 0,32±0,21<br>0,24 (0,18-0,62)      | 0,84         |
| VitD3          | 16,94±10,95<br>15,48 (5-49)        | 19,14±10,31<br>20 (4-40)           | 17,95±7,19<br>17,15 (10,50-27)     | 0,63         |
| E2             | 15,76±15,11<br>11,93 (5-68,17)     | 15,27±25,62<br>8,55 (5-118,70)     | 13,33±11,37<br>9,12 (5-30,01)      | 0,54         |
| PTH            | 53,66±17,02<br>55,55 (18,89-79,49) | 41,38±11,81<br>40 (19,74-69,09)    | 41,81±10,27<br>39,30 (32,44-56,21) | <b>0,03*</b> |

Biyokimyasal değişkenlerin TaqI genotiplerine göre ortalamalarına bakıldığında sadece kontrol grubunun PTH değerleri (Tt 53,66±17,02, TT 41,38±11,81, tt 41,81±10,2), arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir (p=0.03). Diğer değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05) (Çizelge 39).

**Çizelge 40:** VDR geni ApaI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| Polimorfizm    |                                    | ApaI                                |                                     |              |
|----------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------|
| Hasta          | Aa<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)   | AA<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)    | aa<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)    | p            |
| <b>n</b>       | <b>39</b>                          | <b>31</b>                           | <b>9</b>                            |              |
| Ca             | 9,69±0,43<br>9,70 (8,90-10,60)     | 9,73±0,32<br>9,70 (9-10,50)         | 9,97±0,32<br>9,90 (9,50-10,60)      | 0,14         |
| İNP            | 3,68±0,51<br>3,70 (2,60-4,80)      | 3,40±0,42<br>3,30 (2,60-4,30)       | 3,83±0,71<br>4 (2,40-4,60)          | <b>0,02*</b> |
| ALP            | 177,62±64,11<br>175 (73-338)       | 187,13±77,92<br>166 (100-496)       | 145,44±28,89<br>153 (88-179)        | 0,30         |
| Osteokalsin    | 23,95±20,47<br>19,78 (8,43-136,9)  | 16,70±6,91<br>16,40 (6,64-32,48)    | 20,17±6,65<br>20 (10,75-30,61)      | 0,08         |
| βcrossLaps     | 0,32±0,22<br>0,27 (0,06-0,96)      | 0,24±0,17<br>0,22 (0,03-0,78)       | 0,27±0,16<br>0,25 (0,13-0,61)       | 0,38         |
| VitD3          | 37,91±20,01<br>35 (5-98)           | 33,23±17,83<br>28 (6-86)            | 31,46±20,20<br>25 (18-84)           | 0,37         |
| E2             | 19,30±7,64<br>19,67 (5-35,17)      | 19,34±6,55<br>20,34 (5-30,54)       | 16,01±7,44<br>20,06 (5-22,99)       | 0,61         |
| PTH            | 57,50±19,90<br>57,50 (20,44-98,38) | 68,66±27,42<br>61,25 (37,48-164,70) | 56,96±20,54<br>51,61 (40,40-107,70) | 0,16         |
| <b>Kontrol</b> |                                    |                                     |                                     |              |
| <b>n</b>       | <b>28</b>                          | <b>13</b>                           | <b>4</b>                            |              |
| Ca             | 9,52±0,35<br>9,55 (8,90-10,40)     | 9,24±0,30<br>9,20 (8,80-9,80)       | 9,40±0,42<br>9,30 (9-10)            | 0,06         |
| İNP            | 3,81±0,61<br>3,80 (2,80-5,30)      | 3,72±0,44<br>3,70 (3-4,50)          | 3,67±0,36<br>3,55 (3,40-4,20)       | 0,75         |
| ALP            | 196,07±42,69<br>189,50 (103-310)   | 180,54±34,06<br>177 (115-261)       | 213,50±16,03<br>217 (191-229)       | 0,09         |
| Osteokalsin    | 20,72±7,50<br>18,09 (7,36-41,49)   | 18,49±3,99<br>19,10 (10,74-24,85)   | 25,92±6,41<br>26,47 (17,61-33,16)   | 0,14         |
| βcrossLaps     | 0,27±0,12<br>0,27 (0,07-0,65)      | 0,23±0,14<br>0,23 (0,09-0,62)       | 0,30±0,14<br>0,24 (0,20-0,51)       | 0,36         |
| VitD3          | 19,08±10,87<br>18 (4-49)           | 15,19±8,85<br>14,30 (5-33)          | 19,15±11,02<br>16,30 (10-34)        | 0,48         |
| E2             | 14,25±14,07<br>10,53 (5-68,17)     | 11,08±6,91<br>10,14 (5-30,07)       | 36,81±54,75<br>11,77 (5-118,7)      | 0,85         |
| PTH            | 46,23±16,34<br>44,05 (18,89-79,49) | 50,85±15,68<br>56,21 (25,52-75,01)  | 44,61±8,21<br>42,08 (38,07-56,20)   | 0,59         |

Biyokimyasal değişkenlerinin ApaI genotiplerine göre ortalamalarına bakıldığında sadece hasta grubunun İNP değerleri (Aa 3,68±0,51, AA 3,40±0,42, aa **3,83±0,71**) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p= 0.02). Diğer değişkenler arasındaki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05) (Çizelge 40).

**Çizelge 41:** VDR geni BsmI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| Polimorfizm    |                                     | BsmI                                |                                     |              |
|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------|
| Hasta          | Bb<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)    | BB<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)    | bb<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)    | p            |
| <b>n</b>       | <b>35</b>                           | <b>20</b>                           | <b>27</b>                           |              |
| Ca             | 9,64±0,39<br>9,70 (8,90-10,30)      | 9,80±0,38<br>9,75 (9,20-10,60)      | 9,84±0,38<br>9,80 (8,90-10,60)      | 0,22         |
| İNP            | 3,58±0,49<br>3,60 (2,30-4,80)       | 3,44±0,50<br>3,25 (2,60-4,30)       | 3,62±0,60<br>3,50 (2,40-4,60)       | 0,46         |
| ALP            | 185,51±81,51<br>166 (77-496)        | 180,45±65,86<br>170 (73-324)        | 164,67±42,77<br>160 (88-282)        | 0,72         |
| Osteokalsin    | 23,18±21,34<br>19,78 (8,36-136,90)  | 16,32±7,29<br>14,68 (6,64-28,94)    | 20,20±8,16<br>19,33 (8,43-34,87)    | 0,16         |
| βcrossLaps     | 0,28±0,22<br>0,23 (0,03-0,96)       | 0,24±0,19<br>0,20 (0,04-0,78)       | 0,31±0,18<br>0,27 (0,10-0,76)       | 0,31         |
| VitD3          | 36,37±19,63<br>35 (5-98)            | 35,18±19,00<br>27,50 (14,56-86)     | 32,27±18,48<br>27,20 (10-84)        | 0,56         |
| E2             | 19,07±8,84<br>18,41 (5-49,059)      | 17,21±7,68<br>19,57 (5-30,54)       | 20,25±7,21<br>21,10 (5-35,17)       | 0,26         |
| PTH            | 59,29±20,16<br>56,20 (35,81-125,60) | 65,24±30,03<br>59,38 (35,50-164,70) | 62,26±22,04<br>62,98 (20,44-107,70) | 0,62         |
| <b>Kontrol</b> |                                     |                                     |                                     |              |
| <b>n</b>       | <b>22</b>                           | <b>9</b>                            | <b>14</b>                           |              |
| Ca             | 9,50±0,33<br>9,55 (8,90-9,90)       | 9,27±0,24<br>9,20 (9-9,70)          | 9,41±0,44<br>9,30 (8,80-10,40)      | 0,20         |
| İNP            | 3,79±0,59<br>3,80 (2,80-5,30)       | 3,88±0,40<br>3,70 (3,30-4,50)       | 3,67±0,56<br>3,65 (2,80-4,80)       | 0,59         |
| ALP            | 194,05±41,43<br>182,50 (103-310)    | 169,78±26,39<br>169 (115-211)       | 206,71±37,96<br>199 (147-273)       | <b>0,05*</b> |
| Osteokalsin    | 20,07±7,35<br>18,09 (7,36-41,49)    | 18,52±2,89<br>19,10 (12,34-21,83)   | 22,57±7,35<br>21,63 (14,87-40,24)   | 0,49         |
| βcrossLaps     | 0,26±0,13<br>0,25 (0,07-0,65)       | 0,24±0,17<br>0,19 (0,09-0,62)       | 0,27±0,09<br>0,27 (0,09-0,51)       | 0,59         |
| VitD3          | 16,59±11,12<br>15,48 (4-49)         | 15,09±7,64<br>14,30 (5-27)          | 21,97±9,73<br>20,50 (8-40)          | 0,13         |
| E2             | 15,12±15,32<br>10,66 (5-68,17)      | 11,90±7,92<br>10,37 (5-30,07)       | 17,90±29,61<br>8,61 (5-118,70)      | 0,94         |
| PTH            | 49,06±17,16<br>51,09 (18,89-79,49)  | 50,33±16,79<br>56,21 (25,52-75,01)  | 42,99±11,58<br>42,16 (19,74-69,09)  | 0,49         |

Biyokimyasal değişkenlerinin BsmI genotiplerine göre ortalamalarına bakıldığında sadece kontrol grubunun ALP değerleri (Bb 194,05±41,43, BB 169,78±26,39, bb 206,71±37,96) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p= 0.05). Diğer değişkenler arasındaki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05) (Çizelge 41).

**Çizelge 42:** VDR geni FokI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| <b>Polimorfizm</b> |   | <b>FokI</b>                             |   |          |
|--------------------|---|---|---|----------|
| <b>Hasta</b>       | <b>Ff</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>FF</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>ff</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>P</b> |
| <b>n</b>           | <b>32</b>                               | <b>43</b>                               | <b>9</b>                                |          |
| Ca                 | 9,77±0,41<br>9,80 (8,90-10,60)          | 9,70±0,39<br>9,70 (8,90-10,60)          | 9,86±0,36<br>9,80 (9,30-10,60)          | 0,57     |
| İNP                | 3,58±0,56<br>3,50 (2,40-4,80)           | 3,53±0,51<br>3,60 (2,30-4,50)           | 3,73±0,57<br>3,60 (3-4,60)              | 0,76     |
| ALP                | 181,00±53,77<br>168 (88-324)            | 177,91±79,49<br>157 (73-496)            | 169,89±36,49<br>193 (107-202)           | 0,58     |
| Osteokalsin        | 22,94±22,06<br>20 (8,36-136,90)         | 19,14±7,55<br>18,55 (6,64-39,85)        | 20,11±12,22<br>16,23 (8,64-43,77)       | 0,90     |
| βcrossLaps         | 0,28±0,21<br>0,23 (0,03-0,96)           | 0,30±0,21<br>0,27 (0,04-0,78)           | 0,27±0,18<br>0,21 (0,06-0,61)           | 0,95     |
| VitD3              | 33,63±16,93<br>32 (10-84)               | 36,97±20,60<br>34 (5-98)                | 29,00±15,72<br>24 (13-64)               | 0,46     |
| E2                 | 19,85±8,19<br>20,93 (5-35,17)           | 18,37±0,21<br>19,79 (5-49,05)           | 18,81±6,12<br>18,99 (7,97-27,64)        | 0,55     |
| PTH                | 56,77±16,58<br>53,96 (35,50-93,50)      | 66,35±26,69<br>61,25 (20,44-164,70)     | 55,84±23,48<br>49,71 (22,45-98,38)      | 0,16     |
| <b>Kontrol</b>     |   |   |   |          |
| <b>n</b>           | <b>27</b>                               | <b>14</b>                               | <b>3</b>                                |          |
| Ca                 | 9,51±0,34<br>9,60 (9-10)                | 9,41±0,37<br>9,30 (8,90-10,40)          | 9,23±0,40<br>9,30 (8,80-9,60)           | 0,45     |
| İNP                | 3,93±0,48<br>3,90 (3,20-4,70)           | 3,72±,59<br>3,70 (2,80-5,30)            | 3,56±0,32<br>3,70 (3,20-3,80)           | 0,36     |
| ALP                | 193,79±40,74<br>183,50 (147-310)        | 188,89±36,03<br>191 (103-252)           | 238,33±50,01<br>261 (181-273)           | 0,25     |
| Osteokalsin        | 21,27±9,87<br>19,28 (7,36-41,49)        | 0,29±5,08<br>18,10 (13,33-33,16)        | 20,44±4,88<br>22,51 (14,87-23,94)       | 0,98     |
| βcrossLaps         | 0,25±0,15<br>0,22 (0,07-0,65)           | 0,26±0,12<br>0,25 (0,09-0,62)           | 0,27±0,01<br>0,28 (0,26-0,29)           | 0,79     |
| VitD3              | 19,86±10,20<br>21,50 (6-40)             | 16,98±10,36<br>15,96 (4-49)             | 22,33±9,71<br>20 (14-33)                | 0,36     |
| E2                 | 13,68±7,46<br>12,78 (5-30,07)           | 17,22±24,72<br>8,99 (5-118,70)          | 5,71±1,23<br>5 (5-7,13)                 | 0,13     |
| PTH                | 47,06±17,33<br>40,48 (25,52-79,49)      | 47,46±15,20<br>47 (18,89-79,22)         | 42,99±12,48<br>44,12 (29,98-54,86)      | 0,86     |

Biyokimyasal değişkenler ile FokI polimorfizmi genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 42).

**Çizelge 43:** COLIA1 geni SpI polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| Polimorfizm    |                                    | SpI                                 |                                    |              |
|----------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------|
| Hasta          | Ss<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)   | SS<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)    | ss<br>Ort±SD<br>Median (Min-Max)   | P            |
| <b>n</b>       | <b>28</b>                          | <b>49</b>                           | <b>5</b>                           |              |
| Ca             | 9,80±0,38<br>9,85 (9,10-10,60)     | 9,73±0,39<br>9,70 (8,90-10,60)      | 9,72±0,44<br>9,80 (9-10,20)        | 0,70         |
| İNP            | 3,60±0,52<br>3,60 (2,30-4,50)      | 3,55±0,54<br>3,50 (2,40-4,80)       | 3,52±0,55<br>3,80 (2,60-4)         | 0,86         |
| ALP            | 185,18±77,83<br>177,50 (73-496)    | 177,90±60,72<br>165 (77-338)        | 123,40±22,25<br>131 (95-149)       | <b>0,04*</b> |
| Osteokalsin    | 18,79±9,12<br>15,08 (6,64-43,77)   | 20,14±7,54<br>20,15 (8,36-39,85)    | 13,63±4,68<br>14,30 (7,92-18,83)   | 0,14         |
| βcrossLaps     | 0,27±0,19<br>0,21 (0,04-0,76)      | 0,29±0,19<br>0,25 (0,03-0,78)       | 0,19±0,12<br>0,18 (0,06-0,36)      | 0,53         |
| VitD3          | 36,63±14,93<br>33 (13-64)          | 32,96±20,79<br>26 (5-98)            | 34,20±14,70<br>35 (18-54)          | 0,25         |
| E2             | 19,52±9,07<br>20 (5-49,05)         | 18,71±7,78<br>19,83 (5-35,17)       | 17,15±3,90<br>17,21 (12,28-21,67)  | 0,72         |
| PTH            | 61,27±18,36<br>59,07 (22,45-98,38) | 63,25±25,87<br>59,05 (35,50-164,70) | 41,92±14,60<br>40,70 (20,44-56,20) | 0,12         |
| <b>Kontrol</b> |                                    |                                     |                                    |              |
| <b>n</b>       | <b>11</b>                          | <b>27</b>                           | <b>3</b>                           |              |
| Ca             | 9,46±0,25<br>9,40 (9,10-9,90)      | 9,43±0,41<br>9,30 (8,90-10,40)      | 9,43±0,32<br>9,30 (9,20-9,80)      | 0,85         |
| İNP            | 3,97±0,61<br>3,90 (3-5,30)         | 3,70±0,58<br>3,70 (2,80-4,80)       | 3,67±0,06<br>3,70 (3,60-3,70)      | 0,52         |
| ALP            | 180,09±32,95<br>171 (115-217)      | 198,48±42,4<br>191 (103-310)        | 182,67±5,50<br>183 (177-188)       | 0,47         |
| Osteokalsin    | 21,31±9,06<br>17,33 (12,34-41,49)  | 20,24±6,59<br>19,46 (7,36-40,24)    | 18,95±2,55<br>18,09 (16,94-21,83)  | 0,95         |
| βcrossLaps     | 0,27±0,16<br>0,25 (0,09-0,65)      | 0,24±0,13<br>0,23 (0,07-0,62)       | 0,28±0,02<br>0,28 (0,26-0,29)      | 0,36         |
| VitD3          | 20,05±12,18<br>19 (6-49)           | 16,82±9,04<br>17 (4-35)             | 10,50±4,50<br>10,50 (6-15)         | 0,31         |
| E2             | 19,75±33,37<br>6,30 (5-118,70)     | 14,11±13,82<br>10,37 (5-68,17)      | 16,71±12,24<br>14,08 (6-30,07)     | 0,65         |
| PTH            | 48,63±14,24<br>47,68 (26,87-75,01) | 48,60±16,17<br>45 (18,89-79,49)     | 46,14±19,20<br>36,89 (32,44-69,09) | 0,83         |

Biyokimyasal değişkenlerinin SpI genotiplerine göre ortalamalarına bakıldığında sadece hasta grubunun ALP değerleri (Ss 185,18±77,83, SS 177,90±60,72, ss 123,40±22,25) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p= 0.04). Diğer değişkenler arasındaki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamsızdır (p>0,05) (Çizelge 43).

**Çizelge 44:** COL1A1 geni -1997 G/T polimorfizminde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenlerin ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| <b>Polimorfizm -1997 G/T</b> |                                    |                                    |                                     |          |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|----------|
| <b>Hasta</b>                 | <b>GT</b>                          | <b>GG</b>                          | <b>TT</b>                           | <b>p</b> |
|                              | Ort±SD<br>Median (Min-Max)         | Ort±SD<br>Median (Min-Max)         | Ort±SD<br>Median (Min-Max)          |          |
| <b>n</b>                     | <b>48</b>                          | <b>10</b>                          | <b>21</b>                           |          |
| Ca                           | 9,73±0,41<br>9,75 (8,90-10,60)     | 9,74±0,40<br>9,70 (9,20-10,60)     | 9,82±0,31<br>9,90 (9-10,30)         | 0,50     |
| İNP                          | 3,52±0,60<br>3,40 (2,30-4,80)      | 3,85±0,38<br>3,90 (3-4,40)         | 3,55±0,45<br>3,55 (2,70-4,40)       | 0,13     |
| ALP                          | 183,19±73,14<br>175,50 (77-496)    | 164,91±63,67<br>159 (73-297)       | 175,60±60,58<br>161,50 (95-338)     | 0,71     |
| Osteokalsin                  | 22,07±18,54<br>18,95 (8,83-136,90) | 18,99±8,39<br>16,70 (7,92-34,87)   | 19,75±8,96<br>19,89 (6,64-43,77)    | 0,92     |
| βcrossLaps                   | 0,32±0,22<br>0,27 (0,04-0,96)      | 0,19±0,12<br>0,18 (0,05-0,47)      | 0,26±0,18<br>0,25 (0,03-0,61)       | 0,14     |
| VitD3                        | 35,60±17,05<br>32 (6-84)           | 29,23±19,50<br>25 (5-62)           | 36,46±23,30<br>28,60 (13-98)        | 0,39     |
| E2                           | 20,19±6,35<br>21,02 (5-32,81)      | 16,74±7,80<br>17,21 (5-27,64)      | 17,71±11,40<br>17,71 (5-49,05)      | 0,15     |
| PTH                          | 59,29±19,97<br>57,50 (20,44-123)   | 51,32±15,19<br>47 (35,93-84,70)    | 67,04±29,62<br>60,15 (36,24-164,70) | 0,21     |
| <b>Kontrol</b>               |                                    |                                    |                                     |          |
| <b>n</b>                     | <b>19</b>                          | <b>7</b>                           | <b>17</b>                           |          |
| Ca                           | 9,42±0,38<br>9,40 (8,90-10,40)     | 9,63±0,35<br>9,80 (9-9,90)         | 9,33±0,33<br>9,20 (8,80-10)         | 0,17     |
| İNP                          | 3,78±0,64<br>3,70 (2,80-5,30)      | 3,85±0,57<br>3,90 (2,80-4,70)      | 3,73±47<br>3,70 (3-4,80)            | 0,71     |
| ALP                          | 182,32±32,71<br>180 (103-243)      | 207,29±51,67<br>181 (170-310)      | 202,06±35,7<br>191 (148-273)        | 0,27     |
| Osteokalsin                  | 21,41±7,05<br>20,92 (12,34-40,24)  | 18,89±6,41<br>20,10 (7,36-26,58)   | 20,60±7,11<br>18,10 (10,74-41,49)   | 0,92     |
| βcrossLaps                   | 0,27±0,12<br>0,25 (0,09-0,62)      | 0,21±0,10<br>0,24 (0,07-0,34)      | 0,28±0,14<br>0,26 (0,09-0,65)       | 0,57     |
| VitD3                        | 19,56±12,14<br>17 (5-49)           | 12,81±6,83<br>12 (4-22)            | 19,35±8,90<br>20 (6-34)             | 0,32     |
| E2                           | 20,77±28,89<br>8,99 (5-118,70)     | 12,33±9,25<br>9,88 (5-30,07)       | 11,31±5,40<br>10,37 (5-24,60)       | 0,95     |
| PTH                          | 50,36±14,84<br>47 (18,89-79,22)    | 44,75±18,19<br>38,18 (26,87-75,66) | 44,87±16,20<br>44,12 (19,74-79,49)  | 0,43     |

Biyokimyasal değişkenler ile COL1A1 geni -1997 G/T polimorfizmi genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 44).

**Çizelge 45:** VDR geni TaqI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| <b>Polimorfizm</b>  |                                     | <b>TaqI</b>                      |                                     |  |          |
|---------------------|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|--|----------|
| <b>Hasta</b>        | <b>Tt</b>                           | <b>TT</b>                        | <b>tt</b>                           |  | <b>P</b> |
|                     | Ort±SD                              | Ort±SD                           | Ort±SD                              |  |          |
|                     | Median (Min-Max)                    | Median (Min-Max)                 | Median (Min-Max)                    |  |          |
| <b>n</b>            | <b>39</b>                           | <b>30</b>                        | <b>12</b>                           |  |          |
| Lomber omuru KMY    | 0,74±0,12<br>0,72 (0,40-1)          | 0,73±0,13<br>0,75 (0,41-1,07)    | 0,70±0,09<br>0,73 (0,50-0,84)       |  | 0,75     |
| Lomber omuru T skor | -2,84±1,10<br>-2,90 [-6,50- (0,40)] | -2,91±1,05<br>-2,70 (-5,70-0,20) | -3,15±0,99<br>-2,63 [-4,90- (1,92)] |  | 0,93     |
| Lomber omuru Z skor | -1,36±1,15<br>-1,40 (-5,50-1,10)    | -1,07±1,40<br>-1,30 (-4,30-3,10) | -1,45±1,27<br>-1,65 (-3,30-0,73)    |  | 0,51     |
| Femur Boynu KMY     | 0,67±0,09<br>0,67 (0,40-0,83)       | 0,66±0,10<br>0,66 (0,41-0,86)    | 0,67±0,14<br>0,70 (0,39-0,96)       |  | 0,79     |
| Femur Boynu T skor  | -2,07±0,78<br>-2,19 [-4- (-0,21)]   | -1,93±0,88<br>-2 (-3,90-0,10)    | -2,09±1,08<br>-2,29 [-4,10- (0,20)] |  | 0,78     |
| Femur Boynu Z skor  | -0,75±1,05<br>-0,70 (-2,80-0,90)    | -0,46±1,03<br>-0,40 (-2,60-1,80) | -0,46±1,22<br>-0,55 (-2,40-1,38)    |  | 0,62     |
| <b>Kontrol</b>      |                                     |                                  |                                     |  |          |
| <b>n</b>            | <b>22</b>                           | <b>19</b>                        | <b>4</b>                            |  |          |
| Lomber omuru KMY    | 0,92±0,08<br>0,93 (0,79-1,14)       | 0,94±0,09<br>0,92 (0,79-1,10)    | 0,90±0,09<br>0,89 (0,79-1,02)       |  | 0,68     |
| Lomber omuru T skor | -1,10±0,72<br>-1,10 (-2,40-0,90)    | -1,02±0,81<br>-1,10 (-2,30-0,50) | -1,43±0,88<br>-1,50 [-2,40- (0,30)] |  | 0,57     |
| Lomber omuru Z skor | 0,11±0,95<br>0 (-1,30-2,80)         | 0,15±0,77<br>0 (-0,90-1,30)      | -0,07±1,03<br>0,15 (-1,50-0,90)     |  | 0,92     |
| Femur Boynu KMY     | 0,86±0,10<br>0,85 (0,65-1,02)       | 0,89±0,09<br>0,89 (0,76-1,02)    | 0,78±0,09<br>0,76 (0,70-0,91)       |  | 0,14     |
| Femur Boynu T skor  | -0,67±0,83<br>-0,75 (-2,40-0,70)    | -0,49±0,74<br>-0,60 (-1,50-0,60) | -1,15±1,02<br>-1,45 (-2-0,30)       |  | 0,30     |
| Femur Boynu Z skor  | 0,18±0,89<br>0,20 (-1,90-1,70)      | 0,28±0,70<br>0,20 (-0,90-1,30)   | -0,50±1,04<br>-0,70 (-1,50-0,90)    |  | 0,29     |

**Çizelge 46:** VDR geni ApaI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| Polimorfizm         | ApaI                                 |                                      |                                      | p    |
|---------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------|
|                     | Hasta                                | Aa                                   | AA                                   |      |
|                     | Ort±SD                               | Ort±SD                               | Ort±SD                               |      |
|                     | Median (Min-Max)                     | Median (Min-Max)                     | Median (Min-Max)                     |      |
| <b>N</b>            | <b>39</b>                            | <b>31</b>                            | <b>9</b>                             |      |
| Lomber omuru KMY    | 0,73±0,12<br>0,75 (0,40-0,94)        | 0,73±0,11<br>0,72 (0,50-1,07)        | 0,68±0,88<br>0,70 (0,50-0,76)        | 0,42 |
| Lomber omuru T skor | -2,94±1,08<br>-2,80 [-6,50- (-1,03)] | -2,91±1,07<br>-2,80 (-4,90-0,20)     | -3,16±0,65<br>-3,10 [-4,20- (-2,50)] | 0,82 |
| Lomber omuru Z skor | -1,40±1,22<br>-1,40 (-5,50-0,90)     | -1,03±1,35<br>-1,40 (-3,30-3,10)     | -1,74±1,05<br>-2,10 (-3,10-0,20)     | 0,26 |
| Femur Boynu KMY     | 0,68±0,10<br>0,67 (0,40-0,86)        | 0,66±0,10<br>0,65 (0,39-0,86)        | 0,66±0,06<br>0,66 (0,59-0,74)        | 0,80 |
| Femur Boynu T skor  | -1,96±0,88<br>-1,90 (-4-0,10)        | -2,11±0,87<br>-2,30 [-4,10- (-0,20)] | -1,99±0,64<br>-2,20 [-2,90- (-1)]    | 0,77 |
| Femur Boynu Z skor  | -0,67±1,04<br>-0,68 (-2,70-1,80)     | -0,45±1,06<br>-0,40 (-2,80-1,38)     | -0,69±1,16<br>-1,17 (-2,20-1,40)     | 0,64 |
| <b>Kontrol</b>      |                                      |                                      |                                      |      |
| <b>N</b>            | <b>28</b>                            | <b>13</b>                            | <b>4</b>                             |      |
| Lomber KMY          | 0,93±0,09<br>0,93 (0,79-1,14)        | 0,90±0,06<br>0,89 (0,78-1,01)        | 0,99±0,09<br>1,00 (0,87-1,10)        | 0,15 |
| Lomber T skor       | -1,06±0,79<br>-1,05 (-2,30-0,90)     | -1,34±0,60<br>-1,30 [-2,40- (-0,30)] | -0,55±0,97<br>-0,55 (-1,60-0,50)     | 0,18 |
| Lomber Z skor       | 0,09±0,88<br>0,00 (-1,30-2,80)       | 0,10±0,87<br>0,20 (-1,50-1,60)       | 0,32±0,97<br>0,40 (-0,70-1,20)       | 0,88 |
| Femur Boynu KMY     | 0,87±0,10<br>0,88 (0,65-1,01)        | 0,83±0,09<br>0,80 (0,70-1,02)        | 0,91±0,04<br>0,90 (0,87-0,97)        | 0,20 |
| Femur Boynu T skor  | -0,53±0,82<br>-0,45 (-2,40-0,60)     | -0,92±0,82<br>-1,20 (-2,0-0,70)      | -0,47±0,64<br>-0,55 (-1,10-0,30)     | 0,35 |
| Femur Boynu Z skor  | 0,25±0,83<br>0,20 (-1,90-1,70)       | -0,01±0,91<br>0,00 (-1,50-1,70)      | 0,12±0,68<br>0,00 (-0,50-1,00)       | 0,67 |



**Çizelge 47:** VDR geni BsmI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| Polimorfizm         | BsmI  |   |   | p    |
|---------------------|---|---|---|------|
|                     | Hasta                                       | Bb  | BB  |      |
|                     | Ort±SD                                      | Ort±SD                                      | Ort±SD                                      |      |
|                     | Median (Min-Max)                            | Median (Min-Max)                            | Median (Min-Max)                            |      |
| <b>N</b>            | <b>35</b>                                   | <b>20</b>                                   | <b>27</b>                                   |      |
| Lomber omuru KMY    | 0,74±0,11<br>0,73 (0,40-1)<br>-2,86±1,08    | 0,72±0,11<br>0,72 (0,50-0,94)<br>-3,00±1,04 | 0,73±0,13<br>0,74 (0,41-1,07)<br>-2,84±1,07 | 0,86 |
| Lomber omuru T skor | -2,90 [-6,50- (0,40)]                       | -2,78 [-4,90- (1,32)]                       | -2,70 (-5,70-0,20)                          | 0,90 |
| Lomber omuru Z skor | -1,39±1,13<br>-1,50 (-5,50-0,80)            | -1,17±1,20<br>-1,25 (-3,30-1,10)            | -1,05±1,45<br>-1,20 (-4,30-3,10)            | 0,64 |
| Femur Boynu KMY     | 0,67±0,09<br>0,67 (0,40-0,83)<br>-2,06±0,80 | 0,67±0,11<br>0,69 (0,39-0,86)<br>-2,04±0,86 | 0,66±0,10<br>0,65 (0,41-0,86)<br>-1,97±0,90 | 0,67 |
| Femur Boynu T skor  | -2,10 [-4- (-0,21)]                         | -2,19 [-4,10- (0,20)]                       | -2,10 (-3,90-0,10)                          | 0,97 |
| Femur Boynu Z skor  | -0,84±1,01<br>-0,70 (-2,80-0,70)            | -0,31±1,07<br>-0,30 (-2,40-1,38)            | -0,48±1,10<br>-0,40 (-2,60-1,80)            | 0,23 |
| <b>Kontrol</b>      |   |   |   |      |
| <b>N</b>            | <b>22</b>                                   | <b>9</b>                                    | <b>14</b>                                   |      |
| Lomber omuru KMY    | 0,93±0,08<br>0,92 (0,79-1,14)<br>-1,07±0,75 | 0,89±0,07<br>0,89 (0,78-1,02)<br>-1,43±0,67 | 0,95±0,08<br>0,94 (0,82-1,10)<br>-0,92±0,81 | 0,34 |
| Lomber omuru T skor | -1,10 (-2,30-0,90)                          | -1,30 [-2,40- (0,30)]                       | -1,05 (-2,10-0,50)                          | 0,28 |
| Lomber omuru Z skor | 0,11±0,92<br>0 (-1,30-2,80)                 | -0,01±0,89<br>0,40 (-1,50-1)                | 0,19±0,81<br>0,05 (-0,90-1,30)              | 0,89 |
| Femur Boynu KMY     | 0,87±0,10<br>0,89 (0,65-1,02)<br>-0,53±0,86 | 0,83±0,10<br>0,80 (0,70-1,02)<br>-0,86±0,91 | 0,87±0,07<br>0,87 (0,76-0,99)<br>-0,66±0,67 | 0,54 |
| Femur Boynu T skor  | -0,40 (-2,40-0,60)                          | -1,20 (-2-0,70)                             | -0,80 (-1,50-0,50)                          | 0,62 |
| Femur Boynu Z skor  | 0,28±0,91<br>0,45 (-1,90-1,70)              | 0,01±0,95<br>0 (-1,50-1,70)                 | 0,07±0,62<br>0,15 (-0,90-1,20)              | 0,54 |

**Çizelge 48:** VDR geni FokI polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| <b>Polimorfizm</b>  | <b>FokI</b>                             |   |   |          |
|---------------------|---|---|---|----------|
| <b>Hasta</b>        | <b>Ff</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>FF</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>ff</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>P</b> |
| <b>N</b>            | <b>32</b>                               | <b>43</b>                               | <b>9</b>                                |          |
| Lomber omuru KMY    | 0,74±0,11<br>0,74 (0,51-1,07)           | 0,72±0,12<br>0,72 (0,40-1)              | 0,75±0,11<br>0,75 (0,59-0,92)           | 0,79     |
| Lomber omuru T skor | -2,82±0,99<br>-2,80 (-4,60-0,20)        | -3,00±1,11<br>-2,90 [-6,50- (-0,40)]    | -2,62±1,01<br>-2,60 [-4,20- (-1,10)]    | 0,55     |
| Lomber omuru Z skor | -1,18±1,33<br>-1,45 (-3,30-3,10)        | -1,34±1,20<br>-1,40 (-5,50-1,10)        | -0,90±1,32<br>-1,20 (-3,10-0,90)        | 0,68     |
| Femur Boynu KMY     | 0,66±0,08<br>0,66 (0,43-0,81)           | 0,67±0,10<br>0,69 (0,39-0,86)           | 0,67±0,13<br>0,67 (0,40-0,86)           | 0,73     |
| Femur Boynu T skor  | -2,00±0,71<br>-1,90 [-3,20- (-0,21)]    | -2,02±0,90<br>-2,10 (-4,10-0,10)        | -1,99±1,06<br>-2,10 [-4- (-0,70)]       | 0,90     |
| Femur Boynu Z skor  | -0,66±0,93<br>-0,55 (-2,80-0,80)        | -0,57±1,09<br>-0,50 (-2,60-1,80)        | -0,35±1,39<br>0,10 (-2,70-1,38)         | 0,62     |
| <b>Kontrol</b>      |   |   |   |          |
| <b>N</b>            | <b>14</b>                               | <b>27</b>                               | <b>3</b>                                |          |
| Lomber BMD          | 0,94±0,08<br>0,93 (0,79-1,08)           | 0,92±0,08<br>0,93 (0,79-1,14)           | 0,92±0,12<br>0,89 (0,81-1,05)           | 0,74     |
| Lomber T skor       | -1,02±0,70<br>-1,10 (-2,40-0,30)        | -1,08±0,77<br>-1,10 (-2,30-0,90)        | -1,17±1,07<br>-1,40 (-2,10-0)           | 0,88     |
| Lomber Z skor       | 0,10±0,83<br>0,05 (-1,50-1,40)          | 0,18±0,87<br>0 (-0,90-2,80)             | -0,17±1,27<br>-0,40 (-1,30-1,20)        | 0,84     |
| Femur Boynu KMY     | 0,83±0,09<br>0,82 (0,70-1,02)           | 0,87±0,09<br>0,90 (0,65-1)              | 0,83±0,15<br>0,76 (0,73-0,99)           | 0,34     |
| Femur Boynu T skor  | -0,92±0,75<br>-1,05 (-2-0,60)           | -0,51±0,76<br>-0,30 (-2,40-0,50)        | -0,90±1,22<br>-1,50 (-1,70-0,50)        | 0,26     |
| Femur Boynu Z skor  | -0,13±0,72<br>-0,20 (-1,50-1,20)        | 0,31±0,78<br>0,30 (-1,90-1,70)          | -0,30±1,31<br>-0,90 (-1,20-1,20)        | 0,17     |

**Çizelge 49:** COLIA1 geni Sp1 polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| <b>Polimorfizm</b> |   | <b>Sp1</b>                              |   |          |
|--------------------|---|---|---|----------|
| <b>Hasta</b>       | <b>Ss</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>SS</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>ss</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>p</b> |
| <b>N</b>           | <b>28</b>                               | <b>49</b>                               | <b>5</b>                                |          |
| Lomber omuru       | 0,76±0,13                               | 0,72±0,11                               | 0,71±0,07                               | 0,54     |
| KMY                | 0,74 (0,41-1,07)                        | 0,73 (0,40-0,94)                        | 0,75 (0,63-0,79)                        |          |
| Lomber omuru       | -2,73±1,20                              | -2,96±1,01                              | -3,00±0,66                              | 0,92     |
| T skor             | -2,85 (-5,70-0,20)                      | -2,70 [-6,50- (0,90)]                   | -2,70 [-3,80- (2,30)]                   |          |
| Lomber omuru       | -1,04±1,41                              | -1,37±1,18                              | -0,72±1,24                              | 0,45     |
| Z skor             | -1,19 (-4,30-3,10)                      | -1,40 (-5,50-0,80)                      | -0,30 (-2,40-0,50)                      |          |
| Femur Boynu        | 0,67±0,10                               | 0,67±0,09                               | 0,65±0,13                               | 0,96     |
| KMY                | 0,68 (0,41-0,83)                        | 0,66 (0,39-0,86)                        | 0,67 (0,49-0,77)                        |          |
| Femur Boynu T      | -2,02±0,88                              | -1,97±0,83                              | -2,16±0,96                              | 0,89     |
| skor               | -2,14 [-3,90- (0,20)]                   | -2 (-4,10-0,10)                         | -1,60 [-3,20- (1,30)]                   |          |
| Femur Boynu Z      | -0,68±1,11                              | -0,51±1,09                              | -0,52±0,34                              | 0,81     |
| skor               | -0,59 (-2,60-1,10)                      | -0,40 (-2,80-1,80)                      | -0,40 [-1- (-0,10)]                     |          |
| <b>Kontrol</b>     |   |   |   |          |
| <b>N</b>           | <b>11</b>                               | <b>27</b>                               | <b>3</b>                                |          |
| Lomber omuru       | 0,91±0,05                               | 0,94±0,09                               | 0,89±0,13                               | 0,65     |
| KMY                | 0,92 (0,83-1)                           | 0,93 (0,78-1,14)                        | 0,85 (0,78-1,04)                        |          |
| Lomber omuru       | -1,18±0,55                              | -1,02±0,82                              | -1,37±1,23                              | 0,71     |
| T skor             | -1,20 (-2-0)                            | -1,10 (-2,40-0,90)                      | -1,70 (-2,40-0)                         |          |
| Lomber omuru       | -0,02±0,72                              | 0,28±0,88                               | -0,27±1,43                              | 0,53     |
| Z skor             | 0 (0,90-1,20)                           | 0,20 (-0,90-2,80)                       | -0,60 (-1,50-1,30)                      |          |
| Femur Boynu        | 0,89±0,07                               | 0,86±0,10                               | 0,86±0,15                               | 0,51     |
| KMY                | 0,91 (0,80-1)                           | 0,85 (0,65-1,02)                        | 0,90 (0,70-0,98)                        |          |
| Femur Boynu T      | -0,46±0,66                              | -0,67±0,85                              | -0,63±1,23                              | 0,70     |
| skor               | -0,20 (-1,20-0,50)                      | -0,90 (-2,40-0,70)                      | -0,30 (-2-0,40)                         |          |
| Femur Boynu Z      | 0,34±0,54                               | 0,18±0,89                               | 0,03±1,36                               | 0,86     |
| skor               | 0,30 (-0,50-1,30)                       | 0,20 (-1,90-1,70)                       | 0,50 (-1,50-1,10)                       |          |

**Çizelge 50:** COLIA1 geni -1997 G/T polimorfizminde genotip dağılımına göre lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değerleri ortalamaları (ort±SD) ve istatistiksel analizleri (n=Birey sayısı)

| <b>Polimorfizm</b>  |   | <b>-1997 G/T</b>                        |   |  |          |
|---------------------|---|---|---|--|----------|
| <b>Hasta</b>        | <b>GT</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>GG</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) | <b>TT</b><br>Ort±SD<br>Median (Min-Max) |  | <b>p</b> |
| <b>n</b>            | <b>48</b>                               | <b>10</b>                               | <b>21</b>                               |  |          |
| Lomber omuru KMY    | 0,72±0,11<br>0,72 (0,41-1,07)           | 0,75±0,08<br>0,75 (0,65-0,94)           | 0,74±0,14<br>0,74 (0,40-1)              |  | 0,75     |
| Lomber omuru T skor | -2,96±1,06<br>-2,83 (-5,70-0,20)        | -2,75±0,59<br>-2,70 [-3,60- (1,62)]     | -2,79±1,26<br>-2,73[-6,50- (-0,40)]     |  | 0,79     |
| Lomber omuru Z skor | -1,30±1,26<br>-1,45 (-4,30-3,10)        | -1,26±0,75<br>-1,20 (-2,30-0,20)        | -1,13±1,55<br>-1,35 (-5,50-1,10)        |  | 0,67     |
| Femur Boynu KMY     | 0,66±0,10<br>0,66 (0,39-0,86)           | 0,66±0,12<br>0,71 (0,40-0,78)           | 0,68±0,08<br>0,67 (0,57-0,86)           |  | 0,84     |
| Femur Boynu T skor  | -2,09±0,87<br>-2,20 (-4,10-0,10)        | -2,06±0,93<br>-1,90 [-4- (-1)]          | -1,84±0,80<br>-1,80 [-3- (-0,21)]       |  | 0,47     |
| Femur Boynu Z skor  | -0,65±1,04<br>-0,60 (-2,80-1,80)        | -0,87±0,95<br>-1,10 (-2,70-0,90)        | -0,38±1,24<br>0,45 (-2,60-1,40)         |  | 0,38     |
| <b>Kontrol</b>      |   |   |   |  |          |
| <b>n</b>            | <b>19</b>                               | <b>7</b>                                | <b>17</b>                               |  |          |
| Lomber omuru KMY    | 0,92±0,08<br>0,93 (0,79-1,14)           | 0,91±0,12<br>0,92 (0,79-1,08)           | 0,94±0,08<br>0,92 (0,83-1,10)           |  | 0,76     |
| Lomber omuru T skor | -1,08±0,79<br>-1 (-2,40-0,90)           | -1,27±1,07<br>-1,20 (-2,40-0,30)        | -1,04±0,68<br>-1,10 (-2-0,50)           |  | 0,70     |
| Lomber omuru Z skor | 0,26±0,98<br>0,20 (-0,90-2,80)          | -0,10±1,11<br>0 (-1,50-1,40)            | 0,04±0,68<br>0 (-0,90-1,30)             |  | 0,74     |
| Femur Boynu KMY     | 0,85±0,09<br>0,87 (0,65-1,02)           | 0,88±1,13<br>0,91 (0,70-1,02)           | 0,87±0,09<br>0,89 (0,74-1)              |  | 0,75     |
| Femur Boynu T skor  | -0,73±0,78<br>-0,70 (-2,40-0,70)        | -0,52±1,07<br>-0,30 (-2-0,60)           | -0,60±0,78<br>-0,90 (-1,70-0,50)        |  | 0,84     |
| Femur Boynu Z skor  | 0,13±0,89<br>0,20 (-1,90-1,70)          | 0,26±1,17<br>0,90 (-1,50-1,30)          | 0,14±0,69<br>0,20 (-0,90-1,20)          |  | 0,83     |

VDR geni TaqI, ApaI, BsmI ve FokI, COLIA1 geni SpI ve -1997 G/T polimorfizmleri genotip dağılımları ile lomber omuru ve femur başı KMY, T skor ve Z skor değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05) (Çizelge 45,46,47,48,49,50).

## 5. TARTIŞMA

Osteoporoz düşük kemik kütlesi ve kemiğin mikro mimari yapısında bozulma ile karakterize kronik, progressif, multifaktöriyel ve poligenik bir hastalık olup, orta yaşlı ve yaşlı erişkinlerdeki kırıkların majör sebebidir ve özellikle yaşlılarda morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir<sup>2,4,7,8,11,12,36,80,93,94</sup>. Osteoporoz, önlenbilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olup, yaşam süresinin giderek uzadığı toplumlar için üzerinde durulması gereken ve gittikçe de önem kazanan bir sağlık sorunu olmuştur<sup>12,93</sup>. Dünya nüfusunun giderek yaşlandığı göz önüne alınırsa sorunun giderek büyüyeceği açıktır. Bu nedenle osteoporozla ilgili klinik ve deneysel çalışmalar artmaktadır. Ülkemizde ortalama yaşam süresinin uzaması ve Türk kadınlarının birçok risk faktörünü bir arada taşımaları nedeniyle ülkemiz için de osteoporozun erken tanı ve koruyucu tedaviyi gerektiren önemli bir sağlık sorunu olduğu düşünülmektedir<sup>93</sup>.

Osteoporozda risk faktörlerinin erken tanımlanması ve önleme programlarının geliştirilmesi; hastalığın artışı durdurmak, kırıkları önlemek ve sağlık bakım giderlerini azaltmak için gereklidir. Çünkü osteoporoz ve osteoporotik kırıklar için risk faktörlerinin tanımlanması ile risk altındaki hastalar belirlenebilmekte, kırık başta olmak üzere oluşacak diğer komplikasyonlar önlenmektedir. Risk faktörleri kemik mineral yoğunluğunda azalmaya neden olarak veya düşme olasılığını arttırarak kırık oluşumuna zemin hazırlar. Osteoporozdaki en önemli risk faktörleri; yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, menopoza, hormonal nedenler, genetik ve irksal nedenler, beslenme, yaşam tarzı, sigara ve alkol kullanımı, immobilizasyon, çeşitli ilaçlar ve hastalıklar şeklinde belirtilmektedir<sup>2,29,30</sup>. Özellikle ailesinde osteoporoz öyküsü olanlarda ve beyaz tenli kişilerde osteoporoz riski yüksektir<sup>2</sup>.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda genetik faktörlerin kemik fenotipindeki değişikliklerin %50-85'ninden sorumlu olduğu gösterilmiştir<sup>5,7,43,44,95,96,97</sup>. Monozigotik ve dizigotik ikizlerde yapılan araştırmalarda, kemik yoğunluğundaki patolojik değişimlerde benzerlikler olduğu saptanmış ve bu durumun genetik etkilerle ortaya çıktığı düşünülmüştür<sup>26,34,36,37,98</sup>. Kalıtım incelemeleri monozigotik ikizler ve aynı cinsiyette dizigotik ikizlerdeki göreceli farklılıklara bakılarak yapılmıştır. Monozigotik (%100 aynı genotipe sahiptirler) veya dizigotik (%50 oranında aynı genotipe sahiptirler)

olsun aynı cinsiyet ve yaştaki ikiz eşleri aynı çevresel faktörlerle karşı karşıyadır. Bu durum da dış faktörlerin kemik fenotipi üzerine etkilerinin incelenmesine fırsat vermiştir. Monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre hem lomber omuru hem de femur boynu kemik yoğunlukları daha fazla benzer bulunmuştur. Bu genetik etki bazı iskelet bölgelerinde daha çok gözlenmiştir. Bunun dışında birçok çalışmada da iskeletin farklı bölgelerinde farklı yöntemlerle tespit edilen kemik yoğunluklarından farklı genlerin sorumlu olduğu gösterilmiştir<sup>6,43,44</sup>.

Michaelsson et al.<sup>97</sup> İsveçli ikizlerde kırıkların katılımıyla ilgili yaptıkları çalışmada, 69 yaş altındaki yetişkinlerin kalça kırığına daha fazla maruz kalmalarında genetik faktörlerin önemli bir rolünün olduğunu göstermiştir<sup>97</sup>.

Hastalığın patogenezi üzerine yapılan çalışmalar osteoporozla ilişkili çok sayıda aday gen olduğunu göstermiştir. Osteoporozla katkıda bulunan genetik varyasyonlara ait bilgilerin çoğu aday genlerle kemik mineral yoğunluğu çalışmalarından gelmektedir. Bu çalışmaları değerlendiren meta analizlere göre vitamin D reseptör geni (**VDR**), östrojen reseptör alfa geni (**ESR1**), tip 1 kollajen alfa A1 zinciri geni (**Col1A1**) ve İnterlökin 6 (**IL-6**) geninin allelik varyasyonları ile KMY ve/veya kırıklar arasında önemli ilişkilerin olduğu saptanmıştır. VDR, ESR1, Col1A1 ve interlökin-6 (IL-6) genlerinden başka düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) – benzeri protein 5 (**LRP5**) genlerinin polimorfizmlerinin de osteoporozla ilişkileri çalışılmaktadır<sup>6,37,45,80,94,95,100,101</sup>.

Bireysel farklılıklardan %75 oranında genetik faktörler sorumludur. Kemik yoğunluğu, büyüklüğü, yapım ve yıkım döngüsü genetik kontrol altında olup, bazı genlerdeki polimorfizmler bireysel kemik yoğunluğunu belirlemektedir. VDR osteoporoz aday genlerinden kemik kitlesi üzerinde etkisi olduğu belirlenen ilk genlerdir<sup>49,50</sup>.

Çalışmamızda, VDR ve COL1A1 genleri BsmI, ApaI, TaqI, FokI, Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmleri açısından 84 postmenopozal osteoporotik kadın (64,48±9,61 yaş ortalaması) ile 45 postmenopozal sağlıklı kadının (58,31 ±8,61 yaş ortalaması) genetik taraması yapılmış, osteoporozla ilişkili biyokimyasal belirteçler ve osteoporoz oluşumunda etkili olan çeşitli çevresel faktörler incelenmiştir.

Demografik özellikler açısından, çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Çizelge 28). Hasta grubunda yaş ortalaması  $64,48 \pm 9,61$ , yaş aralığı 44-84 olarak, kontrol grubunda ise yaş ortalaması  $58,31 \pm 8,61$ , yaş aralığı ise 47-90 olarak tespit edilmiştir. Bu verilere bakılarak hasta ve kontrol grubu arasında yaş ortalamasında ~6 yaş fark olduğu görülse de yaş aralıklarının yakın olduğu kabul edilebilir. Yaş ortalamaları arasındaki farktan dolayı, hasta grubunda ortalama menopoza süresi de ( $18,63 \pm 10,66$ ) kontrol grubuna ( $9,71 \pm 8,32$ ) nazaran daha uzun bulunmuştur. Kadınlarda menopoza dönemindeki hormon yetersizliği nedeni ile kemik kaybının hızlandığı bilinmektedir. Kemik kitle kaybı menopoza kadar her iki cinsiyette de aynı olurken, kadında menopoza ve menopoza sonrası dönemde hızlı bir artış olur. Menopozdan sonraki ilk 5 yılda bu kayıp, erkeklere oranla kadınlarda 6 kat daha fazladır. Kemik kaybı ilk 5 yılda %11, sonraki 20 yılda %5 olarak gerçekleşir<sup>2</sup>. Kontrol grubunda menopoza yaş ortalaması ( $48,60 \pm 3,54$ ) hastalara göre ( $45,87 \pm 5,103$ ) daha yüksek olarak saptanmıştır. Hasta grubunda menopoza süresinin kontrollere göre daha uzun, menopoza yaşının ise daha düşük olması osteoporoz açısından dezavantaj olarak görülmektedir.

Vücut ağırlığının kemik kaybı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. 70 kg'dan daha zayıf olan kadınların ve vücut ağırlığının %5'inden fazlasını kaybedenlerin, daha hızlı kemik kaybı gösterdikleri belirtilmektedir<sup>2</sup>. Kontrol grubunda hem kilo ( $78,20 \pm 12,90$ ) hem de VKİ ( $30,56 \pm 4,9$ ) ortalaması hastalara göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu da kontrol grubunun osteoporoz maruz kalma riskini azaltan bir faktördür.

Bu çalışmada hasta grubumuzun osteoporoz tedavisi almasından dolayı Ca (mg/dl) ve VitD3 oranları hastalarda kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. PTH (pg/ml) değeri hastalarda daha yüksek olup, PTH kemiklerde osteoklastik aktiviteyi stimüle ederek kan kalsiyum seviyesinin yükselmesini sağlamakta, dolayısı ile kemik yıkımını arttırmaktadır (Çizelge 29).

Ailesinde osteoporoz öyküsü olanlarda ve beyaz tenli kişilerde osteoporoz riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir<sup>2,6,34,36,37,38,98</sup>. Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında, ailede osteoporoz öyküsü açısından anlamlı farklılık olduğu, hastalar arasında %69,8 oranında, kontroller arasında ise %30 oranında ailesel öykünün mevcut olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 30).

Kemik yapısının 2/3'ünün mineral ve bu mineralin de %40'ının kalsiyum olduğu dikkate alındığında, diyetle alınan kalsiyumun kemik yapısındaki önemi açıkça görülür. Yeterli miktarda kalsiyum alınması, doruk kemik kütlesi değerinin elde edilmesinde rol oynadığı kadar, bu değer korunmasında ve devam ettirilmesinde de önemli rol oynar. Diyetteki kalsiyum eksikliği ile osteoporoz ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Çocukluk çağında düzenli süt tüketmiş olan postmenopozal kadınlarda kemik dansitesi yüksek saptanmış, ayrıca osteoporozla bağlı kırıkların ortalama başlangıç yaşının diyet ve aktivite düzenlenmesiyle yaklaşık 10 yıl kadar geciktirilebileceği öne sürülmüştür<sup>102</sup>. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunun süt ve süt ürünleri tüketim yüzdeleri arasında farklılık görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hastalarda günlük olarak, <1 ve 3-4 porsiyon tüketiminin kontrollere göre daha düşük, 1-2 porsiyon tüketiminin ise daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 31).

Sigara içen kadınlarda, içmeyenlere oranla vertebral kırıkların yaklaşık iki kat daha fazla görüldüğü bildirilmiştir<sup>12</sup>. Fakat çalışmamızda sigara tüketimi açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 32).

Kandaki kafein düzeylerinin yüksek oluşunun, idrar ve barsak kalsiyum atılımı üzerine etkili olduğu, ancak kalsiyum emilimini çok fazla etkilemediği düşünülmektedir. Günlük 150 mg kafein alınması durumunda idrar kalsiyum atılımı yaklaşık 5 mg artmaktadır. Ancak kahve alımı günlük 2-3 fincanla sınırlandırıldığında kafeinin bu etkisi önemsizdir<sup>102</sup>. Çalışmamızda kafein tüketiminin hastalarda %41,7 oranında, kontrollerde ise daha fazla (%60) olduğu bulunmuştur (Çizelge 33).

Diyetle alınan kalsiyumun emilebilmesi için vitamin D'ye ihtiyaç vardır. Yaş ilerledikçe barsaklardan kalsiyum emilimi ile birlikte, kalsiyum emilimini uyarıcı vitamin D'nin fizyolojik aktif formu olan 1,25- dihidroksikolekalsiferol sentezi de azalmaktadır<sup>102</sup>. Bu yüzden güneşlenme ve güneşten yararlanma oldukça önem kazanmaktadır. Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında güneşlenme süreleri incelendiğinde kontrol grubunun genel olarak daha yüksek oranda güneş aldığı, geleneksel ve batı giyim tarzı yüzdeleri karşılaştırıldığında, hastalarda geleneksel giyim tarzının kontrollerde ise batı giyim tarzının daha baskın olması yönünde bir farklılığın olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsız olduğu ve geleneksel ve batı giyim tarzlarının güneş alma süresi ile ilişkisinin, hasta ve kontrol grupları arasında



istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığa sahip olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 34,35,36,).

Eğitim düzeyi, toplumlarda kronik hastalıklara yakalanma riskini azaltan önemli bir belirteç olup çalışmamızda eğitim süresinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı incelendiğinde, kontrollerin hastalara oranla daha uzun süre eğitim aldıkları ve kontrol bireyleri yönünde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmektedir ( $p=0,001$ ) (Çizelge 37, Şekil 15).

Hasta ve kontrollerin iş durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 38).

Hasta ve kontrollerde genotip dağılımına göre biyokimyasal değişkenler bakımından ortalama değerlere bakıldığında TaqI genotiplerinde, kontrol grubunun PTH değerleri (**Tt 53,66±17,02**, TT 41,38±11,81, tt 41,81±10,2) arasında; BsmI genotiplerinde, kontrol grubunun ALP değerleri (Bb 194,05±41,43, BB 169,78±26,39, **bb 206,71±37,96**) arasında, Sp1 genotiplerinde, hasta grubunun ALP değerleri (**Ss 185,18±77,83**, SS 177,90±60,72, ss 123,40±22,25) arasında istatistiksel olarak da anlamlı farklılıklar görülmektedir ( $p<0.05$ ) (Çizelge 39, 41, 43). PTH değeri “Tt” genotipini taşıyan kontrollerde daha yüksek tespit edilmiştir. ALP değeri ise “bb” genotipini taşıyan kontrollerde ve “Ss” genotipini taşıyan hastalarda yüksek bulunmuştur. Burada her biyokimyasal değişken ile her genotip kendi grubu içinde karşılaştırıldığından elde edilen sonuçlar net olarak yorumlanamamaktadır.

Çalışmamızda VDR geni TaqI, ApaI, BsmI ve FokI, COLIA1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmleri genotip dağılımları ile lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (Çizelge 45-50).

## **VDR Geni TaqI, ApaI, BsmI ve FokI Polimorfizmleri ile Osteoporoz Arasındaki İlişki**

Vitamin D'nin aktif metaboliti olan kalsitriol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ), kemik hücrelerinin fonksiyonlarının ayarlanmasında ve serum kalsiyum homeostazisinin korunmasında önemli bir role sahiptir ve bunu da vitamin D reseptörüne bağlanıp ilgili genlerin gen ekspresyonunu düzenleyerek yapmaktadır<sup>21,44,46,49,50</sup>. İnsan VDR geninde önemli sayıda RFLP polimorfizmleri saptanmıştır. Genin 3' ucunda BsmI, ApaI ve TaqI enzimlerinin, 2. ekzonda transkripsiyon başlangıç noktasında FokI enziminin kesim yaptığı polimorfik bölgeler bulunmaktadır<sup>5,7</sup>.

VDR varyantları ile kemik kalsiyum homeostazı ve kemik kitlesi arasındaki ilişkinin patogenezi, ilk olarak Morrison et al.<sup>57</sup> tarafından Avustralya'da İngiliz-İrlanda kökenli Kafkas ırkında çalışılmış (1992) ve serum osteokalsin düzeylerinin VDR geninin 3' bölgesindeki BsmI polimorfizmiyle ("B" allelini taşıyor olmak) ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>44</sup>. Morrison et al.<sup>50</sup>, daha sonraki bir ikiz çalışmasında (1994) BsmI polimorfizmi ile lomber omuru ve femur boynu KMY'si arasında güçlü bir ilişkinin olduğunu rapor etmiştir. Ancak bu güçlü ilişkinin genotipleme hatasından ("bbTTaa" genotipinin, "BBtAA" genotipinden %15 daha fazla olduğu tespit edilmiştir) dolayı olduğu anlaşılmış (1997) ve belirtilenden daha zayıf bir ilişkiye sahip olduğu bildirilmiştir<sup>103</sup>. Çok sayıda çalışma bu orijinal bulguları ("BB" genotipi ile düşük KMY ilişkisi) desteklese de farklı populasyonlardaki bazı çalışmalar desteklememektedir<sup>44,52,103,104</sup>. Kore'de yapılan bir çalışmada "BB" genotipine sahip hasta bulunamamıştır. İskoçya'da Houston et al.<sup>105</sup> "BB" genotipindeki bireylerin "bb" genotipindekilere göre daha yüksek femur başı KMY'sine sahip olduklarını açıklamışlardır<sup>52</sup>. Gong et al.<sup>106</sup>, 1994-1998 yılları arasında VDR polimorfizmlerinin KMY ile ilişkisi üzerine yapılan çalışmaların (75 makale ve özet bulguları), meta analizlerini yaparak VDR polimorfizmleri ile KMY arasında önemli derecede pozitif bir ilişki olduğunu göstermişlerdir<sup>106</sup>. Bu pozitif bulgu üzerine birçok araştırmacı BsmI polimorfizmi ile kırıklar arasındaki ilişkiyi çalışmış, bunlardan sadece Feskanich et al.<sup>107</sup> 75 yaş ve üzeri bir grup kadında pozitif bir ilişki bulabilmiştir<sup>44</sup>.

Yaygın olarak görülen diğer bir polimorfizm ise ekzon 2'deki FokI restriksiyon enziminin tanıma bölgesindeki T→C transisyonudur. Bu transisyon alternatif bir translasyon başlangıç kodonu oluşturarak VDR geninin daha kısa bir izoformunun

meydana gelmesine neden olur<sup>108,109</sup>. Osteoporozda “düşük kemik mineral yoğunluğu (KMY)” ve “kırık” gibi iki ana fenotip vardır. Bazı çalışmalarda FokI polimorfizminin KMY ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir fakat bu bulgu tüm çalışmalar ile doğrulanamamıştır<sup>108,110-114</sup>. FokI polimorfizminin osteoporotik kırıklarla olan ilişkisi de çalışılmıştır. İtalyan kadınlarında yapılan bir çalışmada FokI alleli kırıklarla ilişkili bulunurken aynı ilişki Danimarkalı kadınlarda kurulamamıştır<sup>44</sup>. Pozitif ilişki bulunamayan çalışmalarda populasyonların heterojen olması ve çevresel faktörlerin etkilemesi önemli bir faktördür<sup>106</sup>.

VDR polimorfizmlerinin osteoporozla ilişkili fenotiplerle bağlantısını inceleyen kapsamlı çalışmalardan biri Fang et al.<sup>115</sup> tarafından 2005 yılında, 6148 kadın ve erkek katılımcıyla Rotterdam’da yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda, artan kırılma riski ile ilişkili VDR geni promotöründe (Cdx) ve 3’UTR bölgesinde (BsmI, ApaI, ve TaqI) haplotipler saptanmıştır. Her iki bölgede de risk allelleri (polimorfizmini) taşıyan bireylerin oluşturduğu grupta kırık riski, kontrollerle karşılaştırıldığında %15-%48 oranında artmıştır. Şaşırtıcı olarak, bu çalışmada kırık için tanımlanan risk allelleri, KMY’deki değişimlerle ilişkili görülmemiştir<sup>44</sup>.

Uitterlinden et al.<sup>116</sup> 9 Avrupa ülkesini kapsayan ve GENOMOS (Genetic Markers for Osteoporosis) Konsorsiyumu olarak adlandırılan, 26242 örneğin dahil edildiği geniş çaplı araştırmalarında, VDR geni FokI, BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri ile KMY veya kırık riski arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır. Fakat başka bir polimorfizm olan Cdx2 polimorfizmi ile omurga kırıkları arasında düşük bir ilişki olabileceği gösterilmiştir<sup>116</sup>.

Birçok araştırmacı VDR polimorfizmi ile KMY arasındaki ilişkinin, diyetle dayalı kalsiyum alımı ve vitamin D düzeyi gibi çevresel faktörlerle değişebileceğini göstermiştir<sup>117,118,119</sup>. Bazı çalışmalarda, intestinal kalsiyum absorpsiyonu ile VDR geni BsmI polimorfizmi arasında bir ilişki olmasına rağmen, bu ilişkinin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. FokI polimorfizmi ve intestinal kalsiyum absorpsiyonu arasında Ames et al.<sup>120</sup> tarafından pozitif bir ilişki bildirilmişken Cauley et al.<sup>121</sup> ve Zmuda et al.<sup>56</sup> tarafından ise negatif bir ilişki bildirmiştir. VDR polimorfizmleri ile diyetle dayalı kalsiyum alımı arasındaki ilişkiyi inceleyen en büyük çalışmayı 3000 İngiliz kadınlı Mac Donald et al.<sup>122</sup> yapmıştır ve VDR polimorfizmleri ile KMY arasında ilişki bulamamıştır. Bu çalışmada VDR polimorfizmleri, besinsel kalsiyum

alımını, serum 25 hidroksi vitamin D3 seviyeleri ve KMY arasında ilişkiye dair bir kanıt gözlenmemiştir. Bu çalışmalardaki tek pozitif bulgu VDR genine ait başka bir polimorfizm olan Cdx2 polimorfizmi ile kemik kaybı arasındaki zayıf ilişkidir ki, bu sonuç çeşitli doğrulama testlerinden sonra anlamlı bulunamamıştır<sup>44</sup>.

Pek çok araştırmacı VDR polimorfizmleri ve haplotiplerinin fonksiyonel analizini yapmıştır. VDR geninin 3' bölgesinden hazırlanan reporter gen yapıları, farklı bireylerde gen transkripsiyonunda haplotipe özgü farklılıkları göstermiştir, bu da bu bölgedeki polimorfizmlerin RNA stabilitesinin düzenlenmesi ile ilgili olduğu olasılığını arttırmaktadır<sup>50</sup>. TaqI polimorfizmi bakımından heterozigot olan hücre serilerinde VDR geninde allele özgü transkripsiyon farklılıkları gözlenmiştir<sup>123</sup>. Bu çalışmada (Verbeek et al.<sup>123</sup>) "t" allelleri "T"lerden %30 oranında daha sık görülmüştür. Bu da Morrison et al.'ın sonuçlarının tersi yönündedir. Başka bir çalışmada (MrOs'un çalışmasında) erkek bireylerin kemiklerinde 3'VDR haplotipleri ile allele özgü transkripsiyonun ilişkili olduğu gözlenmiştir<sup>124</sup>. Özellikle haplotip1 (baT)'in taşınması, VDR geni mRNA'sının birikimi ile ilişkili olup bu haplotipin erkeklerde artmış kırık riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diğer *in vitro* çalışmalar (Mocharlaet et al.,<sup>125</sup> Grosset al.,<sup>126</sup> ; Durrinet al.,<sup>127</sup>) allele özgü transkripsiyon, mRNA stabilitesi veya ligand bağlanması ile BsmI polimorfizmi arasında ilişkiye dair bir bulgu göstermemiştir<sup>44</sup>.

Özetle, bugüne kadar yapılan çalışmalar VDR genindeki allelik varyasyonların (bazı polimorfizmlerin en azından *in vitro* da tanımlanan fonksiyonel etkisine rağmen ) kemik kitlesinin düzenlenmesinde veya osteoporotik kırıklarda önemli rol oynadığı hipotezini desteklememektedir. Bazı bulgular, VDR allellerinin etkilerinin diyetle dayalı kalsiyum vitamin D alımı ile değiştirilebileceğini göstermektedir fakat bu sonuçlar birbirleri ile bağdaşmamakta ve büyük çaplı çalışmalar bu tür etkileşimleri ikna edici şekilde sunamamaktadır<sup>44</sup>.

Çalışmamızda, hasta ve kontrol bireylerinde VDR geni polimorfizmlerinin (BsmI, ApaI, TaqI, FokI) genotip ve allel frekansları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak ApaI genotip frekansının hasta ve kontrol popülasyonlarındaki dağılımını istatistiksel olarak anlamlı görülmesi de hastalarda "A" alleli frekansının artışı yönünde bir genetik kaymanın olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,05) (Çizelge 22). Bu sonuç osteoporoz hastalarında ApaI polimorfizminde "A" alleli yönünde artış meyli olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Mendel'in II. Kuralı olan genlerin serbest dağılım ilkesi, sözü edilen genlerin farklı kromozomlar üzerinde olması halinde geçerlidir. Halbuki her canlıda kromozomlardan çok fazla sayıda gen olduğundan, her kromozom üzerinde yüzlerce gen bulunmak durumundadır. Bir kromozom üzerinde bulunan genler için iki tanımlama yapılır. Bir kromozom üzerinde fiziksel olarak iki veya daha fazla gen lokusunun bulunmasına sistemi denir. Sistemi durumundaki bazı genlerin birbirine çok yakın ve mayozda birbirinden ayrılmama eğiliminde olmalarına da linkage (bağlılık) denir. Buradan anlaşılacağı gibi aynı kromozom üzerinde bulunan genler teorik olarak serbest dağılım göstermezler<sup>128</sup>.

VDR genin 3'UTR bölgesindeki BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmlerine ait alleller birbirlerine çok yakın olduklarından dolayı aralarında kuvvetli bir Linkage Disequilibrium (LD) vardır<sup>56</sup>. Çalışmamızda, bu polimorfizmler için, "BbAaTt", "BBAATT", "BbAATt", "bbAaTT", "BBAAtt", "bbaaTT", "BbAATT", "BBAATt", "bbAATT", "BbAaTT", "bbaaTt", "BBAAaTt" genotip kombinasyonlarının olduğu tespit edilmiş olup hasta ve kontroller arasında en sık "**BbAaTt**" kombinasyonunun daha sonra ise sırasıyla "bbAaTT", "BBAAtt" kombinasyonlarının olduğu görülmüştür. Asya populasyonlarında en sık "bbAaTT" and "bbaaTT" genotip kombinasyonları görülürken, Kafkas populasyonlarında ise "BbAaTt" ve "BBAAtt" kombinasyonlarının görüldüğü bildirilmiştir<sup>103</sup>. Bu bilgiler ışığında çalışma verilerimizin Kafkas populasyonu ile örtüştüğünü söyleyebiliriz. Hasta ve kontroller arasında genotip kombinasyonlarının dağılımları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,77) (Çizelge 24). Çizelge 25'de tüm genotipler için homozigot ("BBAATT", "BBAAtt", "bbaaTT", "bbAATT") ve bir allel için heterozigot olan ("bbAaTT", "BbAATT", "BBAATt", "bbaaTt") genotip kombinasyonlarının meydana getirebileceği kesin olarak tahmin edilebilen haplotipleri gösterilmiştir. Genotip kombinasyonlarında birden fazla heterozigot allel bulunduran genotiplerin, haplotipleri tahmin edilemediği için hesaplamaya dahil edilmemiştir. Hasta ve kontroller arasında haplotiplerin allelik frekans dağılımları bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,89). Bu verilere göre hasta ve kontroller arasında görülme sıklığındaki fark anlamlı olmasa da hastalarda en sık "BAaT" haplotipinin, kontrollerde ise "baT" haplotipinin olduğunu ifade edebiliriz.

Türkiye’de osteoporoz ile VDR ve COL1A1 gen polimorfizmlerinin ilişkisi çeşitli çalışmalarla incelenmiş ve bu çalışmaların genotip dağılımları çizelge 51,52,53,54 ve 55’de yıllara göre Türkiye derlemesi olarak sunulmuştur. Bu çalışmalar sıklıkla postmenopozal kadınlarda yapılmış olmakla birlikte genç, sağlıklı, kadın ve erkek gruplarında da yapılmıştır. DNA’nın stabil bir yapısının olması nedeniyle, genotip frekansının belirlenmesi çalışmalarında herhangi bir yaş aralığında olma veya tedavi alıp almama gibi durumlarından genotip etkilenmez. Bu yüzden Türkiye’de yapılan tüm çalışmalar Türkiye genotip dağılımının belirlenmesi için bir arada değerlendirilmiştir.

Yoldemir ve ark.’nın<sup>129</sup> çalışmalarında postmenopozal osteoporotik kadın (59.12+6.33 yaş ortalaması) hastalar ile premenopozal kadınların (23.34+1.54 yaş ortalaması) genotip dağılımı karşılaştırılmış olup BsmI, FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri açısından bir fark bulunmamıştır (Çizelge 51,52,53,54).

Uysal ve ark.<sup>103</sup> 100 postmenopozal osteoporoz hastası ve 146 postmenopozal sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmalarında, VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Hasta ve kontrol gruplarının her ikisinde de, bizim çalışmamızda olduğu gibi en sık “**BbAaTt**” genotip kombinasyonunun görüldüğü belirtilmiştir. Uysal ve ark.’nın BsmI, ApaI ve TaqI genotip bulguları da Çizelge 51, 52 ve 53’de diğer çalışmalarla birlikte gösterilmektedir.

Dinçel ve ark.<sup>130</sup> COL1A1, VDR, ESR (Östrojen reseptör), IL-6 (interlökin 6), OPG (osteoprotegerin) gen polimorfizmlerini 21 erkek ve kadın osteoporoz hastasında çalışmıştır. Dinçel ve arkadaşlarının VDR geni BsmI polimorfizmi genotip bulguları Çizelge 51’de gösterilmektedir.

Süsleyici-Duman ve ark.’nın<sup>8</sup> araştırmalarında 75 postmenopozal osteoporotik (53.16 ± 1.31 yaş ortalaması) hasta ile 66 postmenopozal sağlıklı kadının VDR geni BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri ile femur boynu (FN), bel omuru (L1-4), trokanter ve Ward’s triangle KMY’si ve kemik dönüşümü metabolik parametreleri arasındaki ilişki taranmıştır. Osteoporotik hastalarda, TaqI genotipi ile tüm KMY alanları arasında önemli bir ilişkinin olduğu tespit edilmiş olup aynı zamanda “tt” genotipinin hastalarda yüksek serum osteokalsin düzeyleri ile ilişki olduğu gösterilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının her ikisinde de bizim çalışmamızda olduğu gibi en sık “**BbAaTt**” genotip

kombinasyonunun görüldüğü belirtilmiştir. Süsleyici-Duman ve ark.<sup>8</sup> BsmI, ApaI ve TaqI genotip bulguları Çizelge 51, 52 ve 53'de diğer çalışmalarla birlikte gösterilmektedir.

Gürsoy ve ark.<sup>131</sup> 70 postmenopozal kadın osteoporoz hastası ( $60.5 \pm 5.5$  yaş ortalaması) ve 71 postmenopozal sağlıklı kadın kontrol ( $60.4 \pm 5.2$ ) ile yaptıkları çalışmalarında VDR geni Taq I polimorfizmi analizini yaparak hasta grubunda "Tt" genotiplerinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek olduğunu fakat "T" allelinin varlığının kemik KMY ve DEXA değerlerinde "t" alleleline göre anlamlı olarak daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Gürsoy ve ark.'nın<sup>131</sup> TaqI genotip bulguları çizelge 53'de gösterilmektedir.

Gogas-Yavuz ve ark.,<sup>132</sup> Marmara Bölgesinde yaşayan, yaşları 18-26 arasında değişen, sağlıklı 238 kadın ve 162 erkek denekte, VDR geni BsmI, ApaI, FokI ve TaqI polimorfizmlerinin tepe kemik mineral yoğunluğu ve kemik döngü belirteçleri ile ilişkisini araştırmışlar ve çalışma grupları arasında genotip frekansları açısından anlamlı bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir . Polimorfizmler arasında kemik dansitometrisi ve kemik döngü belirteçleri açısından da farklılık bulunmamıştır. VDR gen polimorfizm sıklıkları: "BB", "Bb", "bb" için kadınlarda %12,6, %54,6 ve %32,8 erkeklerde %9,9, %63,6 ve 26,5; "FF", "Ff", "ff" için kadınlarda %46,7, %44,1 ve %9,2 erkeklerde %44,4, %50,6, %5; "AA", "Aa" ve "aa" için kadınlarda %25,6, %64,7, %11,7 erkeklerde %23,4, %62,6, %13,5; TT, Tt, tt için kadınlarda %39, %56,8, %12,2 erkeklerde %31,5, %58, %10,5 bulunmuştur.

Dayangaç ve ark.<sup>49</sup> VDR geni FokI, ApaI ve TaqI polimorfizmlerinin sağlıklı Türk populasyonundaki dağılımını göstermek için yaşları 8-48 arasında değişen erkek ve kadın sağlıklı bireylerden oluşan çalışmalarında "AaTt" haplotipinin en sık gözlenen haplotip olduğunu saptamışlardır. Çizelge 52, 53 ve 54'te Dayangaç ve ark.'nın<sup>49</sup> sağlıklı kadınlar ile sağlıklı erkeklerdeki VDR geni ApaI, TaqI ve FokI polimorfizmleri genotip bulguları gösterilmektedir. VDR gen polimorfizm sıklıkları: "AA", "Aa" ve "aa" için kadınlarda %31, %52, %17 erkeklerde %29, %57, %14; TT, Tt, tt için kadınlarda %35, %44, %21 erkeklerde %35, %54, %11 "FF", "Ff", "ff" için kadınlarda %67, %29 ve %4 erkeklerde %44, %42, %14 bulunmuştur.

Her iki çalışmada (Gogas-Yavuz ve ark.<sup>132</sup> ve Dayangaç ve ark.<sup>49</sup>) kadınlar ile erkekler karşılaştırdığından, bu iki çalışma Türkiye ortalamasına dahil edilmemiştir. Fakat yine de bu verilere göre erkekler ile kadınlar arasında genotip açısından fark olmadığı görülmektedir.

**Çizelge 51:** VDR geni BsmI polimorfizminin Türkiye’de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması (n=Birey sayısı)

| Çalışma (Yılı)         | Hasta n (%) |           |            |            | Kontrol n (%) |           |            |            | c2 Testi |
|------------------------|-------------|-----------|------------|------------|---------------|-----------|------------|------------|----------|
|                        | Olgu Sayısı | BB        | Bb         | bb         | Olgu Sayısı   | BB        | Bb         | bb         |          |
| Çalışmamız (2011)      | 82          | 20 (24,4) | 35 (42,7)  | 27 (32,9)  | 45            | 9 (20)    | 22 (48,9)  | 14 (31,1)  | 0,77     |
| Yoldemir * (2011)      | 130         | 22 (16,9) | 73 (56,2)  | 35 (26,9)  | 130           | 22 (16,9) | 65 (50)    | 43 (33,1)  | > 0.05   |
| Uysal (2008)           | 100         | 18 (18)   | 48 (48)    | 34 (34)    | 146           | 24 (16,4) | 78 (53,4)  | 44 (30,1)  | 0,70     |
| Diñçel (2008) **       | 19          | 2 (1,5)   | 11 (57,9)  | 6 (31,6)   | 21            | 0 (0)     | 14 (66,7)  | 7 (33,3)   | **       |
| Süsleyici-Duman (2004) | 75          | 18 (24)   | 54 (72)    | 3 (4)      | 66            | 17 (25,8) | 42 (63,6)  | 7 (10,6)   | 0,27     |
| Toplam                 | 406         | 80 (19,7) | 221 (54,4) | 105 (25,9) | 408           | 72 (17,6) | 221 (54,2) | 115 (28,2) | 0,64     |

\* Yoldemir ve ark.’nın kontrol grupları premenopozal kadınlardan oluşmaktadır. İstatistiksel önemlilik düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

\*\*Diñçel ve ark.’nın çalışma grubu osteoporoz hastası erkek ve kadın bireylerden oluşmaktadır; bu çalışmada istatistiksel önemlilik düzeyi belirtilmemiştir.

Türkiye’de, BsmI polimorfizmi açısından yapılan çalışmalarda hasta ve kontroller dahil, toplam 814 bireyin genotip dağılımları “BB” 152 (%18,6), “Bb” 442 (%54,3), “bb” 129 (%27,1) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Türkiye’de, en sık “Bb” genotipi, sonrasında ise “bb” ve “BB” genotiplerinin görüldüğü söylenebilir (Çizelge 51).



**Çizelge 52:** VDR geni ApaI polimorfizminin Türkiye de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması (n=Birey sayısı)

| Çalışma (Yılı)         | Osteoporotik Hasta n (%) |                |                     |               | Kontrol n (%) |                |                     |                | c <sup>2</sup> Testi |
|------------------------|--------------------------|----------------|---------------------|---------------|---------------|----------------|---------------------|----------------|----------------------|
|                        | Olgu Sayısı              | AA             | Aa                  | aa            | Olgu Sayısı   | AA             | Aa                  | aa             |                      |
| Çalışmamız (2011)      | 79                       | 31<br>(39,2)   | 39<br><b>(49,4)</b> | 9<br>(11,4)   | 45            | 13<br>(28,9)   | 28<br><b>(62,2)</b> | 4<br>(%8,9)    | 0,38                 |
| Yoldemir (2011) *      | 130                      | 34<br>(%26,2)  | 60<br>(%46,1)       | 36<br>(%27,7) | 130           | 31<br>(%23,9)  | 73<br>(%56,1)       | 26<br>(%20)    | >0,05                |
| Uysal (2008)           | 100                      | 35<br>(%35)    | 50<br>(%50)         | 15<br>(%15)   | 146           | 46<br>(%31,50) | 79<br>(%54,10)      | 21<br>(%14,38) | 0,80                 |
| Süsleyici-Duman (2004) | 75                       | 13<br>(%17,2)  | 56<br>(%74,8)       | 6<br>(%8)     | 66            | 15<br>(%22,7)  | 45<br>(%68,2)       | 6<br>(%9,1)    | 0,46                 |
| Toplam                 | 384                      | 113<br>(%29,4) | 205<br>(%53,4)      | 66<br>(%17,2) | 387           | 105<br>(%27,1) | 225<br>(%58,2)      | 57<br>(%14,7)  | 0,39                 |

\* Yoldemir ve ark.'nın kontrol grupları premenopozal kadınlardan oluşmaktadır. İstatistiksel önemlilik düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

Türkiye’de, yapılan çalışmalarda hasta ve kontroller dahil toplam 771 bireyin, VDR geni ApaI polimorfizmi açısından genotip dağılımları “AA” 218 (%28,3) “Aa” 430 (%55,7) “aa” 123 (%15,9) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Türkiye’de en sık “Aa” genotipi, sonrasında ise “AA” ve “aa” genotiplerinin görüldüğü söylenebilir (Çizelge 52).

**Çizelge 53:** VDR geni TaqI polimorfizminin Türkiye de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması (n=Birey sayısı)

| Çalışma (Yılı)           | Osteoporotik Hasta n (%) |            |                    |           | Postmenopozal Kontrol n (%) |            |                    |           | c <sup>2</sup> Testi |
|--------------------------|--------------------------|------------|--------------------|-----------|-----------------------------|------------|--------------------|-----------|----------------------|
|                          | Olgu Sayısı              | TT         | Tt                 | tt        | Olgu Sayısı                 | TT         | Tt                 | tt        |                      |
| Çalışmamız (2011)        | 81                       | 30 (37)    | 39 ( <b>48,1</b> ) | 12 (14,8) | 45                          | 19 (42,2)  | 22 ( <b>48,9</b> ) | 4 (8,9)   | 0,14                 |
| Yoldemir (2011) *        | 130                      | 51 (39,2)  | 59 (45,4)          | 20 (15,4) | 130                         | 49 (37,7)  | 59 (45,4)          | 22 (16,9) | >0,05                |
| Uysal (2008)             | 100                      | 40 (40)    | 46 (46)            | 14 (14)   | 146                         | 54 (36,9)  | 75 (51,4)          | 17 (11,6) | 0,69                 |
| Gürsoy (2007) **         | 70                       | 20 (28,6)  | 44 (62,8)          | 6 (8,6)   | 71                          | 30 (42,3)  | 29 (40,8)          | 12 (16,9) | < 0,05               |
| Süsleyici - Duman (2004) | 75                       | 23 (30,8)  | 42 (56)            | 10 (13,2) | 66                          | 23 (34,9)  | 28 (42,4)          | 15 (22,7) | 0,19                 |
| Toplam                   | 456                      | 164 (35,9) | 230 (50,4)         | 62 (13,6) | 458                         | 175 (38,2) | 213 (46,5)         | 70 (15,3) | 0,47                 |

\* Yoldemir ve ark.'nın kontrol grupları premenopozal kadınlardan oluşmaktadır. İstatistiksel önemlilik düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

\*\* Gürsoy ve ark.'nın çalışmalarında gruplar arasında “Tt” genotipi yönünde anlamlı farklılık olduğu gösterilmiştir.

Türkiye de yapılan çalışmalarda hasta ve kontroller dahil toplam 914 bireyin, VDR geni TaqI polimorfizmi açısından genotip dağılımları “TT” 339 (%37,1) “Tt” 443 (%48,5) “tt” 132 (%14,4) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Türkiye de en sık “**Tt**”genotipi, sonrasında “TT” ve “tt” genotiplerinin görüldüğü söylenebilir (Çizelge 53).

**Çizelge 54:** VDR geni FokI polimorfizminin Türkiye’de yapılan çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması (n=Birey sayısı)

| Çalışma (Yılı)    | Hasta n (%) |            |           |          | Kontrol n (%) |           |           |          | c2 Testi |
|-------------------|-------------|------------|-----------|----------|---------------|-----------|-----------|----------|----------|
|                   | Olgu Sayısı | FF         | Ff        | ff       | Olgu Sayısı   | FF        | Ff        | ff       |          |
| Çalışmamız (2011) | 84          | 43 (51,2)  | 32 (38,1) | 9 (10,7) | 44            | 27 (61,4) | 14 (31,8) | 3 (6,8)  | 0,51     |
| Yoldemir (2011) * | 130         | 66 (50,7)  | 55 (42,3) | 9 (6,9)  | 130           | 62 (47,7) | 55 (42,3) | 13 (10)  | >0,05    |
| Toplam            | 214         | 109 (50,4) | 87 (41,2) | 18 (8,4) | 174           | 89 (47,4) | 69 (44,6) | 16 (7,9) | 0,59     |

\*Yoldemir ve ark.’nın kontrol grupları premenopozal kadınlardan oluşmaktadır. İstatistiksel önemlilik düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

Türkiye de yapılan çalışmalarda hasta ve kontroller dahil toplam 388 bireyin, VDR geni FokI polimorfizmi açısından genotip dağılımları “FF” 198 (%51), “Ff” 156 (%40,2), “ff” 34 (%8,7) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Türkiye’de en sık “FF”genotipi, sonrasında “Ff” ve “ff” genotiplerinin görüldüğü söylenebilir (Çizelge 54).

### **COL1A1 Geni Sp1 ve-1997 G/T Polimorfizmleri ile Osteoporoz Arasındaki İlişki**

Tip 1 kollajen kemiğin ana yapısal proteinidir ve bu proteini kodlayan genler (COL1A1 ve COL1A2) osteoporoz patogenezi açısından önemli aday genlerdendir. Genetik çalışmalar, tip I kollajen genlerindeki (COL1A1, COL1A2) kodlayan dizilerdeki mutasyonların osteogenezis imperfektaya (OI) neden olduğunu göstermiştir<sup>44,65,67,69,76,79,80,81</sup>.

Bu hastalığa sahip probandlarla yapılan çalışmalarda, COL1A1 ve COL1A2 genlerinde kodlayan bölgelerde olmak üzere yaklaşık olarak 200 mutasyon tanımlanmıştır<sup>77</sup>. Tip1 kollajen genlerindeki polimorfizmler ise kodlayan dizilerde oldukça nadir görülür ve bunlarda osteoporozla ilişkili değildirler. Fakat COL1A1 regülatör bölgesindeki polimorfizmlerin kemik kitlesiyle ve olası osteoporotik kırıklarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir<sup>44</sup>.

İlk defa 1996'da COL1A1 geninin transkripsiyonunu düzenlediği düşünülen ve bir transkripsiyon faktörü olan Sp1'in bağlanma bölgesinde (1.intron) oluşan bir polimorfizmin (G/T) osteoporotik kırıklarla ilişkili olduğu belirtilmiştir<sup>9,10,73,76,83,133</sup>. Birçok araştırmacı Sp1 polimorfizmi ile osteoporoz arasında önemli bir ilişkinin olduğunu gösterse de bazı çalışmalarda aynı sonuçlar bulunamamıştır<sup>88</sup>. Bunun nedeninin COL1A1 polimorfizmi ile osteoporotik kırıkların oranı arasındaki farklılıkların etnik gruplar arasındaki coğrafi farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir; örneğin bu polimorfizm Kafkas popülasyonunda oldukça yaygın olmasına rağmen Afrikalılarda ve Asyalılarda nadiren görülmektedir<sup>89</sup>.

COL1A1 Sp1 polimorfizminin KMY ve kırıkla ilişkisini inceleyen en büyük bireysel çalışma 20786 örnekle yapılan GENOMOS çalışmasıdır. Bu çalışmada COL1A1 Sp1 allellerinin omurga ve kalça KMY'si ile kalıtımın resesif modeli ile ilişkili olduğu bulunmuştur, bu durum diğer çalışmalar ve meta analizlerde bildirilen kodominant model ile farklılık göstermektedir. Sp1 polimorfizmlerinin daha önceki çalışmalarda bildirilen etki düzeyinin bu çalışmada belirtilen kaza sonucu oluşan omurga kırıkları ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

COL1A1 allelleri ile kemik kaybı arasındaki ilişki iki grup tarafından çalışılmış olup Uitterlinden et al.<sup>79</sup> tarafından KMY'nin artmış yaş ve genotip ile ilişkili farklılıklara sahip olduğu bildirilmiştir. Harris ve ark.'nın<sup>110</sup> çalışmasında 5 yıllık periyotta takip edilen 243 yaşlı erkek ve kadında "TT"/ "ss" genotipinin artan kemik kaybı ile güçlü bir ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar 3000'den fazla perimenopozal kadını kapsayan büyük ölçekli çalışmada da bildirilmiştir<sup>122</sup>. Ancak başka bir çalışmada 133 postmenopozlu kadın 18 yıl boyunca izlenmiş ve COL1A1 Sp1 polimorfizmi ve kemik kaybı arasında bir ilişki saptanamamıştır<sup>134</sup>. COL1A1 Sp1 polimorfizmlerinin çocuklarda ve ergenlerde KMY ile ilişkisi çalışılmıştır, ancak sonuçlar birbiri ile çelişmektedir. Bir çalışmada COL1A1 allelleri ile Meksikan-Amerikan kızlarda kantitatif bilgisayarlı tomografi ile volümetrik KMY ölçümleri arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur<sup>135</sup>. Benzer şekilde başka bir çalışmada ergenlik dönemindeki Finli kızlarda da bir ilişki bildirilmiştir<sup>136</sup>. Ancak prepubertal Kafkas kızlarda yapılan başka bir çalışmada DEXA tarafından ölçülen KMY ve COL1A1 allelleri arasında bir ilişki bulunamamıştır.

COL1A1 Sp1 polimorfizminin kemik büyüklüğü ve femur boynu geometrisi ile ilişkili olduğu ve bir çalışmada da Sp1 “T” allelinin artmış femur boynu shaft açısı ile ilişkili olduğu bulunmuştur<sup>71</sup>. Başka bir çalışmada ise “T” alleli ile bilek kemik büyüklüğü arasında ilişki gösterilmesine rağmen kalça kemik büyüklüğü üzerine etkisi bulunmamıştır. COL1A1 Sp1 polimorfizminin populasyon prevalansı farklı populasyonlarda değişiklik göstermektedir. Osteoporozla ilişkili “T” alleli Kafkas populasyonlarında sıkken, Afrika alt kıtalarında nadir olup Asya populasyonlarında neredeyse hiç görülmemektedir<sup>44</sup>.

Birçok çalışmada Sp1 polimorfizminin osteoporozla ilişkisinin moleküler mekanizması üzerinde durulmuştur. “T” alleli yabancı tip olan “G” allele göre daha yüksek Sp1 protein bağlanma affinitesine sahiptir. *In vitro* ortamda heterozigot “GT” allelerine ve homozigot “GG” allelerine sahip osteoblast hücrelerinin kültürü yapılmıştır. COL1A1 ve COL1A2 ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında “GT” alleli taşıyan hücrelerde COL1A1 mRNA ve protein düzeylerinin “GG” alleli taşıyanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. COL1A1 transkripsiyonundaki bu farklılıklar kemiğin mekanik gücüne ve kemik mineralizasyonuna etki göstermektedir. Biyomekanik çalışmalarda heterozigotların (GT) homozigot “GG” alleli taşıyanlara göre kemik gücünde ve mineralizasyonunda önemli derecede azalmalara sebep olduğu bildirilmiştir. Hem *in vitro* hem de *ex vivo* yapılan çalışmalarda Sp1 polimorfizminin “T” allelinin COL1A1 transkripsiyonunu arttırdığı bununda kollojen  $\alpha$  1 proteininin üretiminin artmasına yol açtığı gösterilmiştir. Kollajen alfa 1 proteininin artışı da anormal  $\alpha$ 1 ve  $\alpha$ 2 zincir oranına sebep olmakta bu da kemik mineralizasyonunda defekte, kemik gücünde azalmaya ve kırık riskinin artmasına yol açmaktadır<sup>44</sup>.

COL1A1 geni promoter bölgesinde, Garcia-Giralt et al.<sup>65</sup> tarafından 2002’de, 2 polimorfizm (-1663 indelT ve -1997 G/T) daha tanımlanmış olup bu polimorfizmlerin hem Sp1 ile hem de birbirleriyle kuvvetli olarak linkage disequilibrium (LD) gösterdikleri bulunmuştur<sup>65,84</sup>. Bu çalışmada, postmenopozal İspanyol kadınlarda -1997 G/T polimorfizmi ile bel omuru KMY’si arasında önemli derecede bir ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu ilişki daha sonra İngiliz kadınlarda da gösterilmiştir<sup>73</sup>.

Özet olarak şu ana kadar ki veriler COL1A1 geninin 5’ ucundaki yaygın allelik varyantlarının kemik kitlesi üzerine, osteoporotik kırıklarına ve omurga kırıklarına yatkınlıkla ilişkili olduğunu göstermektedir. Promotörde -1997 G/T ve 1663 indel T

polimorfizmleri ve 1. İtronunda 1245. pozisyonda Sp1 transkripsiyon bağlanma bölgesini etkileyen 3 polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizmlerden en az iki tanesinin DNA bağlanmasında ve COL1A1 transkripsiyonunda fonksiyonel etkisi vardır. Bu da kollajen proteininin üretimini ve kemik gücünü etkilemektedir<sup>44</sup>.

Çalışmamızda COL1A1 geni polimorfizmlerinin her birinin genotip ve allel frekansları hasta ve kontrol bireyleri için çizelge 23’de gösterilmiştir. Sp1 polimorfizmi genotip ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Sp1’in allel gösteriminde ya polimorfizmin baş harfinden esinlenilerek “S/s” kullanılmış ya da nükleotid olarak “G/T” ifadeleri kullanılmıştır. Biz de çalışmamızda “S/s” gösterimini kullandık ancak diğer çalışmalarla bulgularımızı karşılaştırabilmek için allelleri nükleotid cinsinden de belirttik. Çizelge 23’de gösterildiği gibi “S/G” allelinin hem hasta (% 76,8) hem de kontrollerde (%79,3) “s/T” alleleline göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

-1997 G/T polimorfizmi genotip frekansı yüzdesi bakımından, hastaların %16,6 oranında daha fazla “GT” genotipine sahip olduğu görülse de, hasta ve kontroller arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,20). Allel frekanslarında da anlamlı farklılık saptanmamış (p=0,73) olup “T” allelinin hastalarda ve kontrollerde “G” alleleline nispeten daha yüksek olduğu görülmektedir. (Çizelge 23).

COL1A1 geni promotör ve 1. intronundaki polimorfizmler arasında kuvvetli bir Linkage Disequilibrium (LD) olduğu daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Çalışmamızda sırasıyla -1997 G/T ve Sp1 polimorfizmlerine ait, “TTGG”, “GTGG”, “GGGG”, “TTGT”, “GTGT”, “GGGT”, “TTTT”, “GTTT”, “GGTT” genotip kombinasyonlarının olduğu ve hasta ve kontrollerde en sık “GTGG” genotipinin görüldüğü tespit edilmiştir. Bunu takiben “GTGT” ve “TTGG” genotip kombinasyonları görülmüştür (Çizelge 26 ). Hasta ve kontroller arasında genotip kombinasyonlarının dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p=0,84).

Garcia-Giralt et al.<sup>73</sup> 2005’te yaptıkları çalışmalarında, -1997 G/T polimorfizmi için “G” alleli taşıyanlar ile -1663 indelT polimorfizmi için 7 tane “T” nükleotidi taşıyanların (“G-7T” haplotipi veya G-delT), “T-8T” veya “T-insT” haplotipini taşıyanlara göre daha yüksek transkripsiyon aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir.

Jin et al.<sup>87</sup> çalışmalarında -1997 G/T, -1663indelT, Sp1 polimorfizmlerinin ve haplotiplerinin birbirleriyle ilişkilerini, gen transkripsiyonuna, transkripsiyon bağlanma faktörlerine ve kemik mineral yoğunluğuna etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta polimorfizmler açısından sırasıyla G-del-T (G-7T-T) haplotipini taşıyanlarda, G-ins-G haplotipini taşıyanlara göre transkripsiyonun daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çünkü G-del-T haplotipinde RNA polimeraz II'ye bağlanma affinitesi daha yüksektir. Dolayısıyla daha yüksek oranda transkripsiyon aktivitesine neden olmaktadır. Fakat yüksek transkripsiyon COL1A1, COL1A2 zincirleri arasında dengesizliğe sebep olduğundan düşük KMY'ye yol açmaktadır<sup>87</sup>.

Çalışmamızda -1663 indelT polimorfizmi dışındaki diğer polimorfizmler arasındaki LD incelenmiştir. -1997 G/T ile Sp1 polimorfizmlerinin, iki genotip bakımından heterozigot olan ("GTGT") genotip kombinasyonu hariç diğer kombinasyonlardan meydana gelebileceği kesin olarak tahmin edilebilen genotip kombinasyonlarına ait haplotiplerin allelik frekans dağılımları Çizelge 27'de gösterilmiştir. Hasta ve kontrollerde en sık "TG" haplotipi ardından da "GG" haplotipinin görüldüğü tespit edilmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (p= 0,95). Bu bulgularımız Garcia-Giralt et al.<sup>73</sup> ve Jin et al.'in<sup>87</sup> sonuçları ile bağdaşmamaktadır.

COL1A1 geni Sp1 polimorfizminin Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması Çizelge 55'de gösterilmiş olup bu genotip frekanslarının Türkiye ortalaması tespit edilmiştir. -1997 G/T polimorfizmi ile şu ana kadar Türkiye'de yapılan başka çalışmalar olmadığı için bu polimorfizm için derleme yapılamamıştır.

Özdemir-Erdoğan ve ark.'nın<sup>25</sup> çalışmalarında 126 postmenopozal kadında (kemik mineral yoğunluğu açısından 30 normal, 46 osteopenik ve 50 osteoporotik) lomber omurga ve femur boynu KMY değerleri ile ER (Östrojen reseptör) geni PvuII, XbaI polimorfizmleri ve COL1A1 geniSp1 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmış olup, bu polimorfizmlere ait genotip ve allel frekanslarının normal, osteopenik ve osteoporotik olgulardaki dağılımını incelemişlerdir. Yapılan değerlendirmelerde çalışmamıza benzer şekilde COL1A1 geni Sp1 polimorfizminde gruplar arasında KMY değerleri, genotip ve allel frekansları açısından fark olmadığı bildirilmiştir. Çizelge 55

'de Özdemir-Erdoğan ve ark.<sup>25</sup> çalışmasında yer alan osteoporotik bireyler hasta, osteopenik ve normal bireyler ise kontrol grubunda incelenmiştir.

Şimşek ve ark.<sup>137</sup> en az 3 yıldır hormon replasman tedavisi (HRT) almamış sağlıklı 111 postmenopozal kadında (52,7±3 yaş ortalaması) COL1A1 geni Sp1 polimorfizmi ile HRT'nin KMY üzerine etkisini incelemişlerdir. Olguların tümüne 18 ay boyunca HRT uygulayarak, çalışmanın başındaki ve sonundaki KMY değişimlerini Sp1 genotipleri ile karşılaştırmışlardır. Çizelge 55'de genotip bulguları gösterilmiştir; Çizelge 55'de Dinçel ve ark.'nın<sup>130</sup> osteoporoz hastası kadın ve erkeklerdeki Sp1 genotip bulguları gösterilmektedir.

Şahin ve ark.<sup>138</sup> 50 postmenopozal kadında lomber omurga ve proksimal femur kemik mineral yoğunlukları ile COL1A1 geninde transkripsiyon faktör Sp1 bağlanma bölgesi ile ilişkisini araştırmışlar ve gruplar arasında anlamlı farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmaya katılan vakalar osteoporoz açısından bazı risk faktörleri yönünde de sorgulanarak değerlendirilmiştir. Çizelge 55'de genotip bulguları gösterilmektedir.

Saban ve ark.'nın<sup>139</sup> çalışmalarında 113 postmenapozal osteoporoz hastası ile 57 sağlıklı kontrolde, COL1A1 geni Sp1 polimorfizminin KMY ve vertebral kırıklarla ilişkisini araştırmıştır. Sp1 polimorfizmini ifade ederken "SS", "Ss" ve "ss" veya eşdeğeri olarak sırası ile "GG", "GT" ve "TT" genotiplerini kullanmışlardır. Hastalarda "G" allel frekansı % 54,7, "T" allel frekansı ise % 45,3, olarak kontrollerde ise "G" alleli % 44,5 "T" alleli ise % 55,5 olarak tespit edilmiştir. Hasta ve kontrollerde genotip frekansı "GG" % 62,9, "GT" % 35,3, "TT" ise % 1,8 olarak saptanmış ve Sp1 polimorfizminin KMY ve vertebral kırıklarla ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Bu verileri çalışmamızdaki Sp1 allel frekansı bulgularıyla karşılaştırdığımızda (hastalarda ve kontrollerde sırasıyla "G" alleli %76,8, %79,3, "T" alleli ise % 23,2 ve 20,7) hasta ve kontrol gruplarının her ikisinde de "G" allelinin daha yaygın olduğu görülmektedir (Çizelge 23). Saban ve ark.<sup>139</sup> çalışma verileri sadece % olarak verildiği için, çizelge 55'de gösterilen genel Türkiye ortalamasına dahil edilememiştir.



**Çizelge 55:** COL1A1 geni Sp1polimorfizminin Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarla genotip dağılımlarının karşılaştırılması (n=Birey sayısı)

| Çalışma (Yılı)          | Osteoporotik Hasta n (%) |            |           |          | Kontrol n (%) |            |           |          | c2 Testi |
|-------------------------|--------------------------|------------|-----------|----------|---------------|------------|-----------|----------|----------|
|                         | Olgu Sayısı              | SS         | Ss        | ss       | Olgu Sayısı   | SS         | Ss        | ss       |          |
| Çalışmamız (2011)       | 82                       | 49 (59,8)  | 28 (34,1) | 5 (6,1)  | 41            | 27 (65,9)  | 11 (26,8) | 3 (7,3)  | 0,70     |
| Özdemir-Erdoğan (2008)* | 50                       | 30 (60)    | 18 (36)   | 2 (4)    | 76            | 46 (60,5)  | 22 (28,9) | 5 (6,6)  | >0,05    |
| Şimşek (2008)**         | -                        | -          | -         | -        | 111           | 79 (71,2)  | 30 (27)   | 2 (1,8)  | **       |
| Diñçel (2008)***        | 19                       | 5 (26,3)   | 11 (57,9) | 3 (15,8) | 20            | 9 (45)     | 9 (45)    | 2 (10)   | ***      |
| Şahin (1999)****        | 39                       | 26 (72)    | 10 (22)   | 3 (6)    | 11            | 10 (90,9)  | 1 (9,1)   | -        | >0,05    |
| Toplam                  | 190                      | 110 (57,9) | 67 (35,3) | 13 (6,8) | 259           | 171 (66,1) | 73 (28,2) | 12 (4,6) | 0,14     |

\*Özdemir-Erdoğan ve ark.’nın çalışmalarındaki olgular osteoporotik, osteopenik ve normal olarak sınıflandırılmıştır. Bu çizelgede osteopenik (n=46) ve normal (n=30) bireylerin genotipleri kontrol grubunda gösterilmiştir.

\*\*Şimşek ve ark.’nın olguları sağlıklı postmenopozal kadınlardan oluştuğu için bu çizelgede kontrol grubu olarak incelenmiştir; bu çalışmada istatistiksel önemlilik düzeyi belirtilmemiştir.

\*\*\*Diñçel ve ark.’nın çalışma grubu osteoporoz hastası erkek ve kadın bireylerden oluşmaktadır; bu çalışmada istatistiksel önemlilik düzeyi belirtilmemiştir.

\*\*\*\*Şahin ve ark.’nın çalışmalarındaki olgular, WHO kriterleri dikkate alınarak Lomber omurga ve Femur boynu KMY ölçüm sonuçlarına göre osteoporotik, osteopenik ve normal olarak sınıflandırılmıştır. Bu çizelge de Lomber omurga KMY değerine göre sınıflandırılan olguların genotipleri değerlendirilmiş olup osteopenik (n=4) ve normal (n=7) bireyler kontrol grubunda gösterilmiştir.

Türkiye’de, yapılan çalışmalarda hasta ve kontroller dahil toplam 449 bireyin, COL1A1 geni Sp1 polimorfizmi bakımından genotip dağılımları “SS” 281 (%62,6) “Ss” 140 (%31,2) “ss” 25 (%5,6) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Türkiye’de en sık “SS”/ “GG” genotipi, sonrasında ise “Ss”/ “GT” ve “ss”/ “TT” genotiplerinin

görüldüğü, %78,8 oranında “S”/ “G” allelerinin, %21,1 oranında ise “s”/ “T” allelerinin görüldüğü söylenebilir (Çizelge 55). Bu veriler, daha önceki çalışmalarda osteoporozla ilişkilendirilen ve Kafkas populasyonlarında sıklıkla görüldüğü belirtilen “T” allelinin tersi yönündedir. Bu da Türkiye populasyonunun bu polimorfizm bakımından Kafkas populasyonlarından daha farklı bir genotip ve allel dağılımına sahip olduğunu göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, VDR geni BsmI, ApaI, TaqI, FokI polimorfizmleri ile COL1A1 geni Sp1 ve -1997 G/T polimorfizmleri açısından 84 postmenopozal osteoporotik kadın (64,48±9,61 yaş ortalaması) ile 45 postmenopozal sağlıklı kadının (58,31 ±8,61 yaş ortalaması) genetik taraması yapılmıştır aynı zamanda osteoporozla ilişkili biyokimyasal belirteçler ve osteoporoz oluşumunda etkili olan çeşitli çevresel faktörler de incelenmiştir.

1. Tüm polimorfizmler açısından gruplar arasında genotip ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak ApaI genotip frekansının hasta ve kontrol popülasyonlarındaki dağılımı istatistiksel olarak anlamlı görülmesi de hastalarda “A” alleli frekansının artışı yönünde bir genetik kaymanın olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,05). Bu sonuç osteoporoz hastalarında ApaI polimorfizminde “A” alleli yönünde artış meyli olduğu şeklinde yorumlanabilir.

2. VDR genin 3’UTR bölgesindeki BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmlerine ait genotip kombinasyonlarından hasta ve kontrollerde en sık “**BbAaTt**” kombinasyonunun daha sonra ise sırasıyla “bbAaTT” ve “BBAAtt” kombinasyonlarının görüldüğü saptanmıştır. Haplotip olarak ise hastalarda en sık “BAt” haplotipinin, kontrollerde ise “baT” haplotipinin bulunduğu tespit edilmiştir.

3. COL1A1 geni -1997 G/T ile Sp1 polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarında en sık “**GTGG**”, ikinci sırada “GTGT”, üçüncü sırada “TTGG” genotip kombinasyonlarının olduğu, ayrıca haplotip olarak da en sık “**TG**” haplotipinin olduğu tespit edilmiştir.

4. Analizini yaptığımız tüm polimorfizmlerin genotip dağılımları ile lomber omuru ve femur boynu KMY, T skor ve Z skor değişkenleri ve biyokimyasal değişkenler arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

5. Bu çalışmada, Türkiye’de yapılan çalışmalar küçük derlemeler halinde bir araya getirilerek sunulmuştur. Bu verilere göre Dünya genelinde olduğu gibi Türkiye’de de çalışmamızda incelenen VDR ve COL1A1 geni polimorfizmleri bakımından kontrol

ve osteoporoz hastalarında genotip ve allel dağılımları arasında bulunan farklar istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır. VDR geni BsmI polimorfizminde sırasıyla en sık “**Bb**”, “bb” ve “BB” genotiplerinin, ApaI polimorfizminde sırasıyla “**Aa**”, “AA” ve “aa” genotiplerinin, TaqI polimorfizminde “**Tt**”, “TT” ve “tt” genotiplerinin, FokI polimorfizminde sırasıyla “**FF**”, “Ff” ve “ff” genotiplerinin, COL1A1 geni Sp1 polimorfizminde ise sırasıyla “**SS**”/ “**GG**” “Ss”/ “GT” ve “ss”/ “TT” genotiplerinin görüldüğü söylenebilir. COL1A1 geni -1997 G/T polimorfizmi için Türkiye’de karşılaştırılacak yeterince çalışma mevcut olmayıp çalışmamıza göre hasta ve kontrollerde sıklık sırasına göre “**GT**”, “TT” ve “GG” genotipleri görülmektedir.

6. Türkiye’de önemli sayıda yapılan bu çalışmalardan yola çıkarak elde edilen sonuçlar, VDR geni polimorfizmlerinin hasta ve kontroller arasında genotip dağılımlarının farklı olmadığını ortaya koymuştur.

7. COL1A1 geni 5’ promotör ve 1. intron polimorfizmleri arasındaki LD’den dolayı bu polimorfizmlerin Türkiye’de daha geniş olgu katılımlarıyla birlikte değerlendirilmesinin daha uygun olabileceği düşünülmektedir.

Bugüne değin çeşitli popülasyonlarda VDR ve COL1A1 gen polimorfizmlerinin osteoporozla ilişkisi üzerine yapılan çalışmalarda elde edilen pozitif ve negatif bulgular arasındaki farklılıkların ana sebebi olarak popülasyonlara özgü genetik farklılıklar ve çevresel faktörler gösterilmekte olup bu ilişki yine de henüz tam olarak açıklanamamaktadır.

## KAYNAKLAR

1. **Akın G, Gültekin T.** Yaşlanma ve Osteoporoz, *Yaşlı Sorunları Araştırma Dergisi*, 2001;1(2).
2. **Uçan Ö, Taşcı S, Ovayolu N.** Osteoporozda Risk Faktörleri ve Korunmanın Önemi. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2007;2(6):74-86.
3. **Uslu H.** Postmenopozal raloksifen HCL kullanımının serum homosisteini, lipid profili, koagülasyon profili ve kemik mineral yoğunluğu T skorları üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın - Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2004.
4. Erişim : (<http://www.humanity.ankara.edu.tr/timurmakale/B16.pdf>) Erişim tarih: 01.2007
5. **Ferrari S L, Rizzoli R.** Gene variants for osteoporosis and their pleiotropic effects in aging. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005;26: 145–167.
6. **Rizzoli R, Bonjour J P, Ferrari S L.** Osteoporosis, genetics and hormones. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2001; 26: 79–94.
7. **Gennari L, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Massart F, Brandi M L.** Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *The Journal of Steroid Biochemistry and molecular Biology*, 2002; 81(1): 1-24.
8. **Süsleyici- Duman B, Tanakol R, Erensoy N, Öztürk M, Yılmaz S.** Vitamin D Receptor Alleles, Bone Mineral Density and Turnover in Postmenopausal Osteoporotic and Healthy Women. *Med Princ Pract*, 2004; 13:260–266.
9. **Ralston S H.** Genetic Control of Susceptibility to Osteoporosis *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2002; 87(6):2460–2466.
10. **Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, Breemans S, Broos P, Bonen S.** Polymorphisms of the VDR, ER and COL1A1 Genes and Osteoporotic Hip Fracture in Elderly Postmenopausal Women. *Osteoporos Int*, 2000; 11: 583-591.
11. **Başaran S, Güzel R, Benlidayı İ C, Uysal F G.** Osteoporozda Vitamin D Düzeyinin Yaşam Kalitesi Üzerine Etkisi. *Osteoporoz Dünyasından*, 2006; 12 (2): 35-38.
12. **Sambrook P, Cooper C.** Osteoporosis Seminar. *Lancet*, 2006; 367: 2010–18.

13. **Şahin M, Demirağ N G.** Osteoporoz: Tanı ve Tedavide Yenilikler. TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi, **2004**;3(1).
14. **Çay HF, Sezer N.** Kemik Yapısı ve Kemik Döngüsü Üzerine Bir Derleme. *Fiziksel Tıp*, **2002**; 5(3): 177-184.
15. **Gürer N, Başak R, Bahadır C, Koç H, Nur H, Polat Y, Atalay, Önder CB,** Kemik Mineral Yoğunluğu ile Kemik Döngüsünün Biyokimyasal Göstergelerinin İlişkisi. *Türk Fiz Tıp Rehabilitasyon Dergisi* **2005**;51(2):54-57.
16. **Aydil S.** Osteoporozda Egzersiz Programının Solunum Fonksiyonlarına Ve Yaşam Kalitesine Etkisi. T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul 70.Yıl Fizik Tedavi Ve Rehabilitasyon Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 2.Klinik, İstanbul, **2005**.
17. *Bone Remodelling by Rod Lakes from University of Wisconsin*  
Erişim: (<http://www.biology-online.org/biology-forum/about3427.html>) 2011. Erişim tarih: 04.2011
18. *Kemik Oluşum Ve Yıkım Göstergeleri*  
Erişim: (<http://www.vavuzbaykal.com/>) 2010. Erişim Tarihi: 2010
19. *Kemik Yıkımı Biyokimyasal Parametreleri*  
Erişim: ([http://www.biruni.com.tr/PDF/doktor\\_kemikvikimi.pdf](http://www.biruni.com.tr/PDF/doktor_kemikvikimi.pdf)) 2011. Erişim tarih: 04.2011
20. **Öngen B, Kabaroğlu C, Parıldar Z.** D Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, **2008**; 6(1): 23-31.
21. **Sencer E, Orhan Y.** Beslenme. 1. Baskı, Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. İstanbul, **2005**:190-207.
22. *Vitaminler*  
Erişim: (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-10.pdf>) 2011. Erişim tarih: 04.2011
23. **Özmen İ, Köse O.** Vitamin D ve Deri. *Türk Dermatoloji Dergisi*, **2008**; 2: 77-83.
24. *Vitamin D*  
Erişim:(<http://drpinna.com/dr-meercola-on-repairing-strokes-16626/vitamins-4>) 2011. Erişim tarih: 04.2011.
25. **Özdemir-Erdoğan M,** Postmenopozal Kadınlarda Kemik Mineral Yoğunluğu ile Östrojen Reseptör Alfa Ve Kollajen Tip I Alfa 1 Gen Polimorfizmlerinin İlişkisi. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi , Eskişehir, **2008**.
26. **North American Menopause Society.** Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2006 position statement of The North American Menopause Society. **Menopause**, 13(3):340-367; quiz 368-369.

27. **Eiken P, Nielsen SP, Kothoff N.** Effects on bone mass after eight years of hormonal replacement therapy. *British Journal of Obstetrics Gynaecology*, **1997**; 104: 702-707.
28. Assessment of fracture risk and its postmenopausal application to screening for osteoporosis (WHO Technical Report Series No 843). *Ann Rheum Dis*, **1995**;54: 548.
29. **Cooper GS, Umbach DM.** Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res*, **1996**; 11:1841-1849.
30. **Yaraman N, Çelik C, Karaođlan B.** Postmenopozal Kadınlarda Osteoporoz İle Çok Yönlü Risk Faktörlerinin Deđerlendirilmesi. *Fiziksel Tıp*, **2002**; 5(1): 23-26.
31. **Karadavut Kİ, Başaran A, Çakçı A.** Osteoporoz Tedavisinde Vitamin D'nin Yeri. *Geriatrici*, **2002**; 5(3): 115-122.
32. *Vücut kitle indeksi*  
*Erişim: ([http://tr.wikipedia.org/wiki/V%C3%BCcut\\_kitle\\_indeksi](http://tr.wikipedia.org/wiki/V%C3%BCcut_kitle_indeksi)) 2011. Erişim tarih: 04.2011*
33. *Erişim: (<http://www.nhlbisupport.com/bmi/>) 2011. Erişim tarih: 05.2011*
34. **Gennari L, Brandi ML.** Genetics of Male Osteoporosis. *Calcified Tissue International*, **2001**; 69:200–204.
35. **Fountas L, Moutsatsou P, Kastanias I, Tamouridis N, Tzanela M, Anapliotou M , Sekeris CE.** The Contribution of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Osteoporosis and Familial Osteoporosis, *Osteoporosis International*, **1999**; 10:392–398.
36. **Mitra S, Desai M, Khatkhatay Mİ.** Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas The European Menopause Journal*, **2006**;55: 27–35.
37. **Mezquita-Raya P, Munoz-Torres M, Alonso G, Luna JD, Quesada JM, Dorado G, Luque-Recio F, Ruiz-Requena ME, Lopez-Rodriguez F, Escobar-Jimenez F.** Susceptibility for Postmenopausal Osteoporosis: Interaction Between Genetic, Hormonal and Lifestyle Factors. *Calcified Tissue International*, **2004**; 75:373–379.
38. Optimal Calcium Intake. NIH Consens Statement, **1994**;12(4):1-31.
39. **Kenan Sağlam,** Osteoporoz (Tanımı, Sınıflaması, Kliniđi). Yayınlanmamış Ders Notu.
40. **Kaya T, Günaydın R.** Doruk Kemik Kütlesi. Heredite ve Değiştirilebilen Faktörlerin Rolü. *Türk Osteoporoz Dünyasından*, **2003**; 9(1):33-36.

41. **Giguere Y, Rousseau F.** The genetics of osteoporosis: complexities and difficulties. *Clinical Genetics*, **2000**; 161–169.
42. **Duncan E L, Matthew A B.** Genetic Determinants of Bone Density and Fracture Risk—State of the Art and Future Directions. *J Clin Endocrinol Metab*, **2010**; 95: 2576–2587.
43. **Gençosmanoğlu B E, Eryavuz M.** Osteoporozda Genetik Yaklaşım. *Osteoporoz Dünyasından* **2001**; 7: 101-105.
44. **Ralston SH.** Genetic Determinants of Bone Mass and Osteoporotic Fracture. *Principles of Bone Biology*, **2008**; 75(3): 1611-1634.
45. **Ferrari S.** Human genetics of osteoporosis. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2008**;5(22): 723–735.
46. **Thakkinstian A, D’Este C, Eisman J, Nguyen T, Attia J.** Meta-Analysis of Molecular Association Studies: Vitamin D Receptor gene Polymorphisms and BMD as a Case Study. *Journal Of Bone And Mineral Research*, **2004**; 19(3): 419–428.
47. *Polimorfizm nedir?*  
Erişim:(<http://zehirlenme.blogspot.com/2010/10/polimorfizm-nedir.html>) 2011.  
Erişim Tarih: 25.10.2011
48. **Kocatürk-Sel.** Spinal Müsküler Atrofi Hastalarında SMN Geni Ekzon 7 ve 8’in Moleküler Analizi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adana, **2005**.
49. **Dayangaç D, Özaydın E, Özbaş-Gerçek F, Coşkun T, Erdem-Yurter H.** Sağlıklı Türk Populasyonunda Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizm Analizi. *Türk Biyokimya Dergisi*, **2002**;27:11-16.
50. **Morrison N, Qi JC, Tokita A et al.** Prediction of bone density from Vitamin D Receptor Alleles. *Nature*, **1994**; 367:284-287.
51. **Miyamoto K, Robert A, Kesterson T, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, Inoue Y, Morita K, Takeda E, and Pike JW.** Structural Organization of the Human Vitamin D Receptor Chromosomal Gene and Its Promoter. *Molecular Endocrinology*, **1997**; 11: 1165–1179.
52. *VDR OMIM ID:601769*  
Erişim: (<http://omim.org/entry/601769#reference45>) 2011. Erişim Tarih: 08.2011
53. **Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R.** Vitamin D and diabetes. *Diabetologia*, **2005**; 48: 1247–1257.



54. **Ebert R, Schutze N, Adamski J, Jakob F.** Vitamin D signaling is modulated on multiple levels in health and disease. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **2006**;248:149–159.
55. *SunShine Vitamine Diminishes Risk of Colds, Flu*  
Eriřim:(<http://roxana-chong.blogspot.com/2009/03/sunshine-vitamin-diminishes-risk-of.html>)  
2011. Erişim tarih: 06.2011.
56. **Zmuda JM, Cauley JA, and Ferrell RE.** Molecular Epidemiology of Vitamin D Receptor Gene Variants. *Epidemiologic Reviews*, **2000**; 22(2):203-217.
57. **Nigel A, Yeoman MR, Kelly PJ, Eisman JA.** Contribution of Trans-Acting Factor Alleles to Normal Physiological Variability: Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Circulating Osteocalcin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1992**; 89(15):6665-6669.
58. **Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs B J J, Huibert A P P, Van Leeuwen J P T M.** Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, **2004**;338:143–156.
59. **Valdivielso J M, Fernandez E.** Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clinica Chimica Acta*, **2006**; 371:1–12.
60. **Denzer N, Vogt T, Reichrath J.** Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms and skin cancer: A systematic review. *Dermato-Endocrinology* **2011**; 3(3): 205-210.
61. **Ferrari S, Bonjour J P and Rizzoli R.** The Vitamin D Receptor Gene and Calcium Metabolism. **1998**;9(7): 259-264.
62. **Onat T, Emerk K, Sözmen E Y.** İnsan biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, **2002**: **156**.
63. **Cooper G M, Hausman R E.** Hücre Moleküler Yaklaşım (Çev: Sakızlı M, Atabey N.) 3. Basım, İzmir Tıp Kitabevi, **2006**: **523-525**.
64. **Chan T F, Poon A, Basu A, Addleman N R, Chen J, Phong A, Byers P H, Klein T E, Kwok P Y,** Natural variation in four human collagen genes across an ethnically diverse population. *Genomics*, **2008**; 91(4): 307–314.
65. **Garcia-Giralt N, Nogues X, Enjuanes A, Puig J, Mellibovsky L, Bay-Jensen A, Carreras R, Balcels S, Diez-Perez A, and Grnberg D.** Two New Single-Nucleotide Polymorphisms in the COL1A1 Upstream Regulatory Region and Their Relationship to Bone Mineral Density. *Journal of Bone And Mineral Research* **2002**; 17( 3): 384-393.
66. **Weichetova M, Stepan J J, Michalska D, Haas T, Pols H A P, Uitterlinden A G.** COL1A1 Polymorphism Contributes to Bone Mineral Density to Assess Prevalent Wrist Fractures, *Bone* **2000**; 26(3):287–290.

67. **Zhang Y Y, Lei S F, Mo X Y, Wang Y B, Li M X, Deng H W**, The 1997 G/T Polymorphism in the COL1A1 Upstream Regulatory Region is Associated with Hip Bone Mineral Density (BMD) in Chinese Nuclear Families. *Calcified Tissue International*, **2005**; 76:107–112.
68. **Mirandola S, Sangalli A, Mottes M**. “Rapid and efficient genotype analysis of the COL1A1 Sp1 binding site dimorphism, a genetic marker for bone mineral density”. *Molecular and Cellular Probes*, **2002**; 16 :73–75.
69. **Yazdanpanah N , Rivadeneira F , Van Meurs J B J, Zillikens M C , Arp P , Hofman A , van Duijn M C, Huibert A P P, Uitterlinden A G**. “The -1997 G/T and Sp1 Polymorphisms in the Collagen Type I alpha1 (COL1A1) Gene in Relation to Changes in Femoral Neck Bone Mineral Density and the Risk of Fracture in the Elderly: The Rotterdam Study”. *Calcified Tissue International*, **2007**; 81:18–25.
70. **Ashford RU, Luchetti M, McCloskey E, Gray RL, Pande KC, Dey A, Kayan K, Ralston SH, Kanis JA**. Studies of Bone Density, Quantitative Ultrasound, and Vertebral Fractures in Relation to Collagen Type I Alpha 1 Alleles in Elderly Women. *Calcified Tissue International*, **2001**; 68:348–351.
71. **Qureshi A M, Herd R J, Blake G M, Fogelman I, Ralston S H**. Col1a1 Sp1 Polymorphism Predicts Response of Femoral Neck Bone Density to Cyclical Etidronate Therapy *Calcified Tissue International*, **2002**; 70: 158-163.
72. *120150 COLLAGEN, TYPE I, ALPHA-1; COL1A1*  
Erişim: (<http://omim.org/entry/120150>) 2011. Erişim Tarihi: 08.2011
73. **Garcia-Giralt N, Enjuanes A, Bustamante M, Mellibovsky L, Nogues X, Carreras R, Diez-Perez A, Grinberg D, Balcells S**. In vitro functional assay of alleles and haplotypes of two COL1A1-promoter SNPs. *Bone*, **2005**; 36(5) , 902 – 908.
74. **Gerdhem P, Brandstrom H, Stiger F, Obrant K, Melhus H, Ljunggren O, Kindmark A, Akesson K**. Association of the Collagen Type 1 (COL1A 1) Sp1 Binding Site Polymorphism to Femoral Neck Bone Mineral Density and Wrist Fracture in 1044 Elderly Swedish Women *Calcif Tissue Int*, **2004**; 74: 264–269.
75. **Long J R, Liu P Y, Lu Y, Dvornyk V, Xiong D H, Zhao L J, Deng HW**. Tests of linkage and/or association of TGF- 1 and COL1A1 genes with bone mass. *Osteoporos Int*, **2005**; 16: 86–92.
76. **Bou-Gharios G, de Crombrughe B**. Type I Collagen Structure, Synthesis, and Regulation. Bilezikian J., Raisz L., Martin J.T. Principles of Bone Biology (Third Edition) Elsevier Inc.; **2008**:285-318.
77. **Körkkö J, Ala-Kokko L, De Paepe A, Nuytinck L, Earley J, Prockop D J**. Analysis of the COL1A1 and COL1A2 Genes by PCR Amplification and Scanning by Conformation-Sensitive Gel Electrophoresis Identifies Only COL1A1 Mutations in 15 Patients with Osteogenesis Imperfecta Type I: Identification of Common Sequences of Null-Allele Mutations. *Am. J. Hum. Genet.* **1998**; 62:98–11.

78. **Passarge E.** Renkli Genetik Atlası, (Çev.: Lüleci, G., Sakızlı, M., Alper, Ö.). Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti, İstanbul. **2000**.
79. **Uitterlinden A G, Burger H, Huang Q, Yue F, McGuigan F E A, Grant S F A, Hofman A, van Leeuwen J P T M, Pols H A P, Ralston, S H.** Relation of alleles of the collagen type I a 1 gene to bone density and risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women . *N. Engl. J. Med.* , **1998**;338: 1016 – 1022 .
80. **Lei S F, Deng F Y, Liu X H, Huang Q R, Qin Y, Zhou Q, Jiang D K, Li Y M, Mo X Y, Liu M Y, Chen X D, Wu X S, Shen H, Dvornyk V, Zhao L, Recker R R, Deng H W.**Polymorphisms of four bone mineral density candidate genes in Chinese populations and comparison with other populations of different ethnicity. *J Bone Miner Metab*, **2003**; 21:34–42.
81. **Allgrove J.** Metabolic bone disease. Symposium: Metabolic Medicine. *Paediatrics And Child Health*, 2007; 17(7):253-259.
82. *Genes & Polymorphisms*  
Erişim:(<http://www.genomos.eu/index.php?page=history>) 2011Erişim tarih: 09.2011.
83. **Grant S F A, Reid D M, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston S T.** Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I a 1 gene. *Nature Genet*, **1996**14, 203–5.
84. **Stewart T L, Jin H, McGuigan F E A, Albagha O M E, Garcia-Giralt N, Bassiti A, Grinberg D, Balcells S, Reid D M, Ralston S H.** Haplotypes Defined by Promoter and Intron 1 Polymorphisms of the *COL1A1* Gene Regulate Bone Mineral Density in Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2006**; 91(9):3575–3583.
85. **Mann V, Hobson E E, Li B, Stewart T L, Grant S F, Robins S P, Aspden R M, Ralston S H.** A *COL1A1* Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J. Clin. Invest.* **2001**; **107** ( 7 ): 899 – 907.
86. **Zintzaras E, Doxani C, Koufakis T, Kastanis A, Rodopoulou P, Karachalios T.** Synopsis and meta-analysis of genetic association studies in osteoporosis for the focal adhesion family genes: the CUMAGAS OSTEOporosis information system. *BMC Medicine*, **2011**; 9: 9.
87. **Jin H, van't Hof R J, Albagha O M E, Ralston S H.** Promoter and intron 1 polymorphisms of *COL1A1* interact to regulate transcription and susceptibility to osteoporosis. *Human Molecular Genetics*, **2009**;18(15):2729–2738.
88. **Mann V, Ralston S H.** Meta-analysis of *COL1A1* Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone*, **2003**; 32 ( 6 ): 711 –717.
89. **Ralston S H, Crombrughe B.** Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. *Genes & Development*, **2007**; 20: 2492–2506.

90. **Miller S A, Dykes DD and Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, **1988**; 16(3): 215.
91. **Lucotte G, Mercier G, Burckel A.** The vitamin D receptor *FokI* start codon polymorphism and bone mineral density in osteoporotic postmenopausal French women. *Clin Genet.*, **1999**; 56: 221–224.
92. **Gezen-Ak D, Dursun E, Ertan T, Hanağası H, Gürvit H, Emre M, Eker E, Öztürk M, Engin F, Yılmaz S.** Association between Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Alzheimer Disease. *Tohoku J. Exp. Med.*, **2007**; 212: 275-282.
93. **Çıtlı R, Özdemir M, Poyrazoğlu S, Balcı E, Aykut M, Öztürk Y.** Kayseri Melikgazi Sağlık Grup Başkanlığı Bölgesindeki Kadınların Osteoporoz Yönelik Bilgi ve Davranışları. *Osteoporoz Dünyasından*, **2007**;13:60-6.
94. **Wyne F, Drummond F J, Daly M, Brown M, Shanahan F, Molloy m G, Quane K A.** Suggestive Linkage of 2p22-25 and 11q12-13 with Low Bone Mineral Density at the Lumbar Spine in the Irish Population, *Calcif. Tissue Int.*, **2003**; 72: 651-658.
95. **Lau H H L, Ng M Y M, Cheung W M W, Paterson A D, Sham P C, Luk K D K, Chan V, Kung A W C.** Assessment of linkage and association of 13 genetic loci with bone mineral density. *J Bone Miner Metab* , **2006**; 24:226–234.
96. **Gomez C, Naves M L, Barrios Y, Diaz J B, Fernandez J L, Salido E, Torres A, Cannata J B.** Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms, Bone Mass, Bone Loss and Prevalence of Vertebral Fracture: Differences in Postmenopausal Women and Men. *Osteoporos Int* , **1999**; 10:175–182.
97. **Michaëlsson K, Melhus H, Ferm H, Ahlbom A, Pedersen NL,** Genetic Liability to Fractures in the Elderly. *Arch Intern Med.*, **2005**;165:1825-1830.
98. **Fountas L, Moutsatsou P, Kastanias I, Tamouridis N, Tzanela M, Anapliotou M, Sekeris C E.** The Contribution of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Osteoporosis and Familial Osteoporosis. *Osteoporos Int*, **1999**; 10:392–398.
99. **Ferrari S.** Human genetics of osteoporosis. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2008**; 22(5): 723–735.
100. **Braga V, Sangalli A, Malerbe G, Mottes M, Mirandola S, Gatti D, Rossini M, Zamboni M, Adami S.** Relationship Among VDR (BsmI and FokI) COL1A1 and CTR Polymorphisms with Bone Mass, Bone Turnover Markers and Sex Hormones in Men. *Calcif. Tissue Int.*, **2002**; 70: 457-462.
101. **Bustamante M, Nogues X, Enjuanes A, Elosua R, García-Giralt N, Pérez-Edo L, Cáceres E, Carreras R, Mellibovsky L, Balcels S, Díez-Pérez A, Grinberg D.** COL1A1, ESR1, VDR and

- TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to KMY in Spanish postmenopausal women. *Osteoporos Int*, **2007**; 18:235-243.
102. **Dinç A, Eryavuz M.** Osteoporoz ve Diyet. *Osteoporoz Dünyasından*, **2002**; 8: 89-93.
  103. **Uysal A R, Sahin M, Gürsoy A, Güllü S,** Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Osteoporosis in the Turkish Population, *Genetic testing*, **2008**; 4(12):591–594.
  104. **Massart F, Reginster J Y, Brandi M L.** Genetics of menopause-associated diseases. *Maturitas*, **2001**; 40:103–116.
  105. **Houston L A, Grant S F, Reid D M , Ralston S H.** Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: Studies in a UK population . *Bone*, **1996** ; 18 ( 3 ) : 249 – 252 .
  106. **Gong G, Stern H S, Cheng S C, Fong N, Mordeson J, Deng H W, Recker R R,** The Association of Bone Mineral Density with Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms, *Osteoporosis International*. **1999**; 9:55–64.
  107. **Feskanich D, Hunter D J, Willett W C, Hankinson S E, Hollis B W, Hough H L, Kelsey K T, Colditz G A.** Vitamin D receptor genotype and the risk of bone fractures in women. *Epidemiology* **1998**; 9 ( 5 ) : 535 – 539.
  108. **Arai H, Miyamoto K I, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, Tonai T, Nishisho T, Mori S, Takeda E.** A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: Effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women . *J. Bone Miner. Res.*, **1997**; 12:915 – 921.
  109. **Gross C, Krishnan A V, Malloy P J, Eccleshall T R , Zhao X Y , Feldman D.** The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: A functional analysis of FokI variants . *J. Bone Miner. Res.*, **1998**; 13 ( 11 ) : 1691 – 1699 .
  110. **Harris S S, Eccleshall T R, Gross C, Dawson-Hughes B, Feldman D.** The vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and bone mineral density in premenopausal American black and white women. *J. Bone Miner. Res.* , **1997**; 12 (7):1043 – 1048.
  111. **Gross C, Eccleshall T R, Malloy P J, Villa M L, Marcus R, Feldman D.** The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J. Bone Miner. Res.* **1997**; 12: 1850 – 1856.
  112. **Eccleshall TR, Garnero P, Gross C, Delmas P D, Feldman D.** Lack of correlation between start codon polymorphism of the vitamin D receptor gene and bone mineral density in premenopausal French women: The OFELY study. *J. Bone Miner Res.*, **1998**; 13 ( 1 ) : 31 – 35 .
  113. **Langdahl B L, Gravholt C H , Brixen K , Eriksen E F.** Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. *Eur. J. Clin. Invest.*, **2000**; 30 ( 7 ) : 608 – 617 .

114. **Sowers M, Willing M, Burns T, Deschenes S, Hollis B, Crutchfield M, Jannausch M.** Genetic markers, bone mineral density and serum osteocalcin levels. *J. Bone Miner. Res.*, **1999**; 14 ( 8 ): 1411 – 1419.
115. **Fang Y, van Meurs J B, d'Alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, Hofman A, van Leeuwen J P, Jehan F, Pols H A, Uitterlinden A G.** Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin D receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the Rotterdam study. *A m. J. Hum. Genet.*, **2005**; 77 ( 5 ): 807 – 823.
116. **Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, AH Carey, Grinberg D, Langdahl BL, Lips P, LorencR, Obermayer-Pietsch B, Reeve J, Diez-Perez A, Dobnig H, Dunning AM, Enjuanes A, Fahrleitner-Pammer A, Fang Y, Karczarewicz E, Kruk M, J P.T.M. van Leeuwen, C Mavilia, JBJ van Meurs, J Mangion, Fiona E.A. McGuigan, HAP, Renner W, F Rivadeneira, NM van Schoor, S Scollen, Sherlock RE, Ioannidis JPA,** The Association between Common Vitamin D Receptor Gene Variations and Osteoporosis: A Participant-Level Meta-Analysis . *Ann. Intern. Med.*, **2006**;145:255-264.
117. **Krall E A, Parry P, Lichter J B, Dawson-Hughes B.** Vitamin D receptor alleles and rates of bone loss: Influence of years since menopause and calcium intake. *J. Bone Miner. Res.*, **1995**; 10: 978 – 984 .
118. **Ferrari S, Rizzoli R, Chevally T, Slosman D, Eisman JA, Bonjour J-P.** Vitamin D receptor gene polymorphisms and change in lumbar spine bone mineral density. *Lancet*, **1995**; 345 ;423 – 424.
119. **Graafmans W C, Lips P, Ooms M E, van Leeuwen J P T M, Pols H A P, Uitterlinden A G.** The effect of Vitamin D supplementation on the bone mineral density of the femoral neck is associated with Vitamin D receptor genotype . *J. Bone Miner. Res.* **1997**; 12 ( 8 ): 1241 – 1245.
120. **Ames S K, Ellis K J, Gunn S K, Copeland K C, Abrams S A.** Vitamin D receptor gene FokI polymorphism predicts calcium absorption and bone mineral density in children. *J. Bone Miner. Res.* **1999**; 14 ( 5 ):740 – 746.
121. **Cauley J A, Danielson M E, Theobald T M, Ferrell R E.** Vitamin D receptor translation initiation codon polymorphism and markers of osteoporotic risk in older African-American women. *Osteoporos. Int.*, **1999**; 9 (3): 214 – 219 .
122. **MacDonald H M, McGuigan F E, Stewart A, Black A J, Fraser W D, Ralston S, Reid D M.** Large-scale population-based study shows no evidence of association between common polymorphism of the VDR gene and BMD in British women. *J. Bone Miner.Res.*, **2006**; 21 ( 1 ): 151 – 162 .
123. **Verbeek W, Gombart A F, Shiohara M, Campbell M, Koeffler H P.** Vitamin D receptor: no evidence for allelespecific mRNA stability in cells which are heterozygous for the Taq I restriction enzyme polymorphism. *B iochem. Biophys. Res. Commun.*, **1997**; 238 ( 1 ):77 – 80 .

124. **Grundberg E, Lau E M, Pastinen T, Kindmark A, Nilsson O, Ljunggren O, Mellstrom D, Orwoll E, Redlund-Johnell I, Holmberg A, Gurd S, Leung P C, Kwok T, Ohlsson C, Mallmin H, Brandstrom H.** Vitamin D receptor 3' haplotypes are unequally expressed in primary human bone cells and associated with increased fracture risk: the MrOS Study in Sweden Hong Kong. *J. Bone Miner. Res.*, **2007**; **22** ( 6 ): 832 – 840 .
125. **Mocharla H, Butch AW, Pappas A A, Flick J T, Weinstein R S, De Togni P, Jilka R L, Roberson P K, Parfitt A M, Manolagas S C.** Quantification of vitamin D receptor mRNA by competitive polymerase chain reaction in PBMC: lack of correspondence with common allelic variants. *J. Bone Miner. Res.*, **1997**; **12** ( 5 ): 726 – 733 .
126. **Gross C, Musiol I M, Eccleshall T R, Malloy PJ, Feldman D.** Vitamin D receptor gene polymorphisms: Analysis of ligand binding and hormone responsiveness in cultured skin fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**; **242** ( 3 ):467 – 473.
127. **Durrin L K, Haile R W, Ingles S A, Coetzee G A.** Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: Lack of effect on mRNA stability. *Biochim. Biophys. Acta.* **1999**; **1453** ( 3 ): 311 – 320.
128. **Kasap H, kasap M, Demirhan O, Alptekin D, Pazarbaşı A, Güzel A İ.** Tıbbi Biyoloji ve Genetik. Nobel Tıp Kitabevleri, Adana, **2010:327.**
129. **Yoldemir T, Yavuz D G, Anik G, Verimli N, Erenus M,** Vitamin D receptor gene polymorphisms in a group of postmenopausal Turkish women: association with bone mineral density. *Climacteric*, **2011**;14: 384–391.
130. **Diñel E, Diñel S A, Sepici V, Özsoy H, Sepici B.** Hip fracture risk and different gene polymorphisms in the Turkish population. *Clinics*,**2008**; **63** (5) : 645-50.
131. **Gürsoy S, Erdal E, Alaşehirli B, Aydeniz A, Erdal N.** TaqI Polymorphism of the Vitamin-D Receptor Gene and Quality of Life in Postmenopausal Turkish Women. *Turk J Med Sci.* **2008**; **38** (1): 21-26.
132. **Gogaş-Yavuz D, Yüksel M, Tarçın Ö, Deyneli O, Haklar G.** Kemik mineral yoğunluğunun genetik belirleyicileri: vitamin D reseptör geni Bsm 1, Apa1, Fok1 ve Taq1 polimorfizmlerinin tepe kemik mineral yoğunluğu ve kemik döngü belirteçleri ile ilişkisi. TÜBİTAK Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu, İstanbul, **2007.**
133. **Efstathiadou Z, Tsatsoulis A, Ioannidis J P.** Association of collagen I alpha 1 Sp1 polymorphism with the risk of prevalent fractures: a meta-analysis. *J. Bone Miner. Res.* **2001**; **16** ( 9 ): 1586 – 1592.
134. **Heegaard A, Jorgensen H L, Vestergaard A W, Hassager C, Ralston S H.** Lack of Influence of collagen type Ialpha1 Sp1 binding site polymorphism on the rate of bone loss in a cohort of postmenopausal Danish women followed for 18 Years. *Calcif. Tissue Int.*, **2000**; **66** ( 6 ): 409 – 413 .

135. **Sainz J, van Tornout J M, Sayre J, Kaufman F, Gilsanz V.** Association of collagen type 1 alpha1 gene polymorphism with bone density in early childhood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1999**; 84 ( 3 ): 853 – 855.
136. **Suuriniemi M, Kovanen V, Mahonen A, Alen M, Wang Q, Lyytikainen A, Cheng S.** COL1A1 Sp1 polymorphism associates with bone density in early puberty. *Bone*, **2006**; 39 (3): 591 – 597.
137. **Şimşek M, Çetin Z, Bilgen T, Taşkın O, Lüleci G, Keser İ.** Effects of hormone replacement therapy on bone mineral density in Turkish patients with or without COL1A1 Sp1 binding site polymorphism. *Japan Society of Obstetrics and Gynecology*, **2008**; 34 (1): 73-77.
138. **Şahin A O.** Kadınlarda Postmenopozal Dönemdeki Kemik Mineral Yoğunluğu ile Farklı Kollajen Tip I a 1 Genotipleri Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Ankara, **1999**.
139. **Saban I, Gok H, Karadag A, Ozkan T, Aydos S, Sunguroglu A, Yalcin AP,** Role of COL1A1 Gene Polymorphism in Prediction of Osteoporosis and Fracture Risk in Postmenopausal Women. *Clinical Genetics*, **2010**;78(1):88-89.
140. **Brown TA.** Gene Cloning, An Introduction. 3<sup>rd</sup> Ed., UMIST, Manchester, UK: Champman & Hall, **1995**: 200-201



## EKLER

### ÇALIŞMALARDA KULLANILAN KİMYASAL VE SOLÜSYONLARIN HAZIRLANMASI

Kullanılan kimyasal ve solüsyonların hazırlanmasında kaynak olarak “Molecular Cloning”<sup>140</sup> esas alınmıştır.

Hazırlanan solüsyonlar genel olarak konsantre stoklar halindedir. Çalışma konsantrasyonlarını elde etmek için stoklardan belli oranlarda alınarak seyreltilir.

Konsantrasyon dönüştürmelerinde basitçe şu formülden yararlanılabilir.

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$M_1$  = Hazırlanan stok konsantrasyon (M, N veya %)

$V_1$  = Stoktan alınması gereken miktar (v)

$M_2$  = Çalışma (son) konsantrasyonu (M, N veya %)

$V_2$  = Hazırlanacak olan çözelti (çalışma çözeltisi) miktarı (v)

#### EK-1. DNA Eldesi Solüsyonları

##### 1.1 Eritrosit Lizis Tamponu (pH=7,5) 1 Litre için;

0,32 M Sükroz Sükroz = 109,563 gr

10 mM Tris-HCl (pH=7,5) Tris-HCl = 1,211 gr

5mM MgCl<sub>2</sub> MgCl<sub>2</sub> = 1,015 gr

%1 Triton X 100 Triton X 100 = 10 gr

1 litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlandı. pH = 7,5 olarak ayarlandı. Triton X otoklavlanmadan sonra ilave edildi.

##### 1.2. Fizyolojik Tampon (pH=7,5) 1 Litre için

0,075 M NaCl NaCl = 4,383 gr

0,025 M EDTA EDTA = 9,305 gr

1 litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlandı. pH = 7,5 olarak ayarlandı

### **1.3. TE-9 (pH=9) 1 Litre için**

500 mM Tris baz Tris baz = 60,5 gr

20 mM EDTA EDTA = 7,44 gr

10 mM NaCl NaCl = 0,58 gr

1 litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlandı. pH = 9 olarak ayarlandı.

### **1.4. %10'luk SDS**

20 ml için;

2 gr SDS tartılıp, üzerine bir miktar (20 ml'den az) saf su ilave edilip iyice çözdürüldü. Son hacim 20 ml olacak şekilde ayarlandı.

### **1.5. Proteinaz-K (10mg/ml)**

100 ml için;

10 gr PK tartılır, üzerine bir miktar (100 ml'den az) saf su ilave edilip iyice çözdürüldü. Son hacim 100 ml olacak şekilde ayarlandı.

### **1.6. 6 M NaCl**

1 litre için;

321.4 gr NaCl tartılıp, üzerine bir miktar (1000 ml'den az) bidistile su ilave edilip iyice çözdürülüp son hacim 1000 ml olacak şekilde ayarlandı.

### **1.7. % 70 Etil Alkol**

100 ml için;

70 ml etil alkol (absolut) ve 30 ml bidistile su ilave edildi.

### **1.8. TE tamponu (Tris/EDTA) (pH= 8 )**

10 mM Tris-Cl (pH=8)

0,1 mM EDTA (pH=8)

1 litre için gereken malzemeler belirtilen oranlarda tartılıp, son hacim 1000 ml olacak şekilde bidistile su ile çözdürülüp otoklavlandı. pH = 8 olarak ayarlandı.

## **EK-2. Elektroforez Analiz Solüsyonları**

### **2.1. 1 X TBE (1 litre için)**

100 ml 10 X TBE stok solüsyonu

900 ml bidistile su

### **2.2. Etidyum bromid solüsyonu (10 mg/ml)**

0,1 gr etidyum bromid

10 ml bidistile su içinde çözünüp ışık almayan bir cam içinde buzdolabında muhafaza edildi.

### **2.3. DNA Yükleme Tamponu (Loading dye) (6X)**

40 gr sükröz

0,25 gr bromfenol mavisi

100 ml olacak şekilde bidistile su içinde çözüldü. Ependorf tüplerine paylaştırılarak buzdolabında muhafaza edildi.

### **2.4. %40 (29:1) Stok Akrilamid / bisakrilamid solüsyonu**

38,6 gr Akrilamid

1,4 gr bisakrilamid

Tartılıp bir miktar bidistile su ile çözdürülüp üzeri 100 ml ye tamamlandı.

### **2.5. 10 X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) Stok solüsyonu**

108 gr Tris baz ( 890 mM )

55 gr borik asit ( 890 mM)

40 ml 0,5 M EDTA, pH 8.0 (20 mM)

Bir miktar bidistile su içinde çözüldükten sonra pH 8.0 olarak ayarlanıp solüsyon 1 litreye tamamlandı.

### **2.6. %25 Amonyum persülfat**

0,25 gr APS

1 ml olacak şekilde bidistile su içinde çözüldü. Buzdolabında saklandı.

## ÖZGEÇMİŞ

1979'da Adana'da doğdu. İlköğretimini Antakya'da, lise öğretimini Adana'da tamamladı. Lisans eğitimini 1998-2002 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamladı. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programına 2002 yılında başlayıp 2005'te bitirerek Bilim Uzmanı ünvanını aldı. Ardından aynı bölümde doktora programına başladı. Evli ve bir çocuk sahibidir.