

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEMİK MİNERAL DENSİTESİ İLE  
COL1A1, CTR, VDRF, VDRB, ESR1X VE ESR1P  
GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Halil ÖZBAŞ**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. SERAP TUTGUN ONRAT**

**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu  
tarafından 08.TIP.20 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez No: 2011 – 004**

**2011 - AFYONKARAHİSAR**

## KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

### Tıbbi Genetik Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunması Tarihi: 07/02/ 2011

İmza

Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Yrd.Doç.Dr. Serap TUTGUN ONRAT

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Raportör

İmza

Prof.Dr.Yusuf TUNCA

Gülhane Askeri Tıp Akademisi

Üye

İmza

Doç.Dr. Mehmet YILMAZER

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

İmza

Doç.Dr.Zafer ÇETİNKAYA

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Doktora Programı Öğrencisi Halil ÖZBAŞ'ın "Kemik Mineral Dansitesi İle COL1A1, CTR, VDRF, VDRB, ESR1X Ve ESR1P Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 11.02.2011 günü saat 14.00'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

İmza

Doç. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan, tez çalışmamda bana yol gösteren ve destek olan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Serap TUTGUN ONRAT'a, eğitimimde desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Necat İMİRZALIOĞLU hocamıza, istatistik çalışmalarında bana yol gösteren Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR ve Yrd. Doç. Dr. Nurhan DOĞAN'a; birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarım, Muhsin ELMAS ve Zafer SÖYLEMEZ'e doktora öğrencisi arkadaşlarım, Dr. Ahmet BEŞTEPE ve Dr. Yaşar SIVACI'ya teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam için gerekli maddi destek Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 08.TIP.20 proje numarası ile sağlanmıştır. Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Komisyonuna ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunuyorum.

Her şeyden önemlisi, yaşam yolculuğumun her dakikasında ve tez aşamasında büyük desteği olan çok sevgili eşim Serpil ÖZBAŞ'a minnet ve şükranlarımı sunuyorum. Doktora eğitimim boyunca gerekli ilgi ve şefkati gösteremediğim hayatıma anlam katan, yaşama sevincim olan sevgili kızlarım Gözde ve Emine ÖZBAŞ'a da babasız geçirdiği günlerdeki anlayış ve büyük sabırları için teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunuyorum.

Dr.Halil ÖZBAŞ

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kabul ve Onay Sayfası .....	ii
Önsöz .....	iii
İçindekiler .....	iv
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini .....	vii
Şekiller Dizini .....	ix
Tablolar Dizini .....	x
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1. Kemik Doku .....	3
2.1.1. İnorganik Kısım .....	3
2.1.2. Organik Kısım .....	4
2.1.3. Kemik Hücreleri .....	4
2.1.3.1. Osteoblastlar .....	5
2.1.3.2. Osteositler .....	5
2.1.3.3. Osteoklastlar .....	6
2.1.4. Kemğin Şekillenmesi .....	6
2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme .....	6
2.1.4.2. Endokondral Kemikleşme .....	7
2.1.5. Kemğin Yeniden Yapılanması (Remodeling) .....	7
2.2. Osteoporoz .....	10
2.2.1. Osteoporoz Risk Faktörleri .....	12
2.2.1.1. Doruk Kemik Kitlesi .....	13
2.2.1.2. Cinsiyet .....	13
2.2.1.3. Yaşlanma .....	13
2.2.1.4. Irksal Farklılıklar .....	14
2.2.1.4. Vücut Ağırlığı.....	14
2.2.1.5. Fiziksel Aktivite .....	15
2.2.1.6. Beslenme .....	15
2.2.1.7. Gebelik ve Emzirme .....	16
2.2.1.8. Menapoz .....	16
2.2.2. Osteoporozda Sınıflama .....	18
2.2.3. Osteoporozda Tanı .....	20
2.2.3.1. Biyokimyasal Laboratuar Testleri .....	20
2.2.3.2. Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçümleri .....	21
2.2.3.3. Kemik Biyopsisi .....	22
2.2.4. Osteoporozda Tedavi Yaklaşımları .....	22
2.3. Osteoporoz ve Genetik .....	23
2.3.1. Kollajen1 $\alpha$ 1 (COL1A1) Geni .....	26
2.3.2. Östrojen Reseptör 1 Geni (ESR1) .....	29
2.3.3. Vitamin D Reseptör Geni (VDR) .....	33
2.3.4. Kalsitonin Reseptör Geni (CTR) .....	35

	<u>Sayfa No</u>
2.3.5. Diğer Genler .....	36
2.4. Yöntem (Chip Array Yöntemi) .....	37
2.4.1. Sonuçları Okuma .....	41
2.4.2. Teknik Özellikler .....	42
2.5. İstatistik Yöntem .....	47
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>48</b>
3.1. Materyal .....	48
3.2. Metot .....	49
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler .....	49
3.2.2. Kullanılan Cihazlar .....	50
3.2.3.Genomik DNA Ekstraksiyon Protokolü .....	51
3.2.3.Amplifikasyon Reaksiyonu .....	53
3.2.4.Görüntüleme .....	54
<b>4.BULGULAR .....</b>	<b>57</b>
4.1. Klinik ve Tanımlayıcı Özellikler .....	57
4.2. Genomik DNA Analiz Sonuçları .....	60
4.3.Çalışılan Genler ve Çalışma Gruplarının Allel Frekansları .....	63
4.3.1. Hardy-Weinberg Hesaplamasına Göre Çalışma Grubundaki 188 Kişiy Ait 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları .....	63
4.3.2. Hardy-Weinberg Hesaplamasına Göre Postmenapozal Kadınlarda Çalıştığımız 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları.....	65
4.3.3 Hardy-Weinberg Hesaplamasına Göre Erkeklerde Çalıştığımız 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları.....	66
4.4. Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri .....	68
4.4.1. COL1A1 Geninin KMY Üzerine Etkisi .....	69
4.4.2. CTR Geninin KMY Üzerine Etkisi .....	70
4.4.3. ESR1P ve ESR1X Gen Bölgesi Polimorfizmlerinin KMY Üzerine Etkisi .....	71
4.4.4. VDRB ve VDRF Geninin KMY Üzerine Etkisi .....	71
4.5. KMY Değerlerine Gen Dışı Faktörlerin Etkileri .....	73
4.5.1. Cinsiyetin KMY Üzerine Etkisi .....	75
4.5.2. Yaşın KMY Üzerine Etkisi .....	76
4.5.3. Vücut Kitle İndeksinin KMY Üzerine Etkisi .....	77
4.5.4. Ailesinde Osteoporozlu Bulunması .....	78
4.5.5. Düzenli Spor Yapma .....	79
4.5.6. Düzenli Beslenme .....	79
4.5.7. Sigaranın KMY Üzerine Etkisi .....	80
4.5.8. Alkol İçmenin KMY Üzerine Etkisi .....	80
4.5.9. Gün Işığında Kalmanın KMY Üzerine Etkisi .....	81
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>82</b>
5.1. Klinik ve Tanımlayıcı Özellikler .....	82

	<u>Sayfa No</u>
5.2. Genomik DNA Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....	82
5.3. Çalışılan Genler ve Çalışma Gruplarının Allel Frekansları.....	83
5.4. Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkisi .....	86
5.4.1. Kollajen1 $\alpha$ 1 (COL1A1) Geni .....	86
5.4.2. Kalsitonin Reseptör Geni (CTR) .....	89
5.4.3. ESR1P ve ESR1X Geni .....	91
5.4.4. VDRB ve VDRF Geni .....	93
5.5. KMY Değerlerine Gen Dışı Faktörlerin Etkilerinin Değerlendirilmesi	96
5.5.1. Cinsiyetin KMY Üzerine Etkisi .....	96
5.5.2. Yaşın KMY Üzerine Etkisi .....	96
5.5.3. Vücut Kitle İndeksinin KMY Üzerine Etkisi .....	97
5.5.4. Ailesinde Osteoporozlu Bulunması .....	98
5.5.5. Düzenli Spor Yapma .....	98
5.5.6. Düzenli Beslenme .....	99
5.5.7. Sigaranın KMY Üzerine Etkisi .....	99
5.5.8. Alkol İçmenin KMY Üzerine Etkisi .....	100
5.5.9. Gün Işığında Kalmanın KMY Üzerine Etkisi .....	100
<b>SONUÇ</b> .....	101
<b>ÖZET</b> .....	102
<b>SUMMARY</b> .....	103
<b>KAYNAKLAR</b> .....	104
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	125

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>A°</b>	Angstrom
<b>AHSG</b>	$\alpha_2$ HS-glycoprotein
<b>ALP</b>	Alkalen Fosfataz
<b>AluI</b>	Arthrobacter luteus'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>ApaI</b>	Acetobacter pasteurianus'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>ApoE</b>	Apolipoprotein E
<b>AT</b>	ArrayTüp
<b>ATS</b>	Array Tube Station (Array Tüp Çalışma İstasyon Cihazı)
<b>bç</b>	Baz Çifti
<b>BGLAP</b>	Bone $\gamma$ -carboxyglutamide protein (osteokalsin)
<b>BMU</b>	Basic Multicellular Unit
<b>BsmI</b>	Bacillus stearothermophilus'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>BsuRI</b>	Bacillus subtilis'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>Ca</b>	Kalsiyum
<b>CASR</b>	Calcium-sensing receptor
<b>COL1A 1</b>	Kollagen tip I
<b>COL1A 2</b>	Kollagen tip II
<b>CTR</b>	Kalsitonin Reseptör Geni
<b>CYP19</b>	Aromatase (cytochrome P450)
<b>DKK</b>	Doruk Kemik Kitlesi
<b>DC</b>	Konjugat Eritici Solüsyon
<b>DKMY</b>	Düşük Kemik Mineral Yoğunluğu
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DPA</b>	Çift Foton Absorbsiyometri (Dual Photon Absorptiometry)
<b>DXA</b>	Dual Enerji X-ray Absorpsiyometri
<b>ESR</b>	Östrojen Reseptör Geni
<b>ESR1</b>	Östrojen Reseptör Geni 1
<b>ESR2</b>	Östrojen Reseptör Geni 2
<b>ESRP</b>	Östrojen Reseptör Geni P Gen Bölgesi
<b>ESRX</b>	Östrojen Reseptör Geni X Gen bölgesi
<b>FISH</b>	Florasın In Situ Hibridizasyon
<b>FokI</b>	Flavobacterium okeanoikites'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>GH</b>	Galaktozil-O-hidroksilizin
<b>HaeIII</b>	Haemophilus aegypticus'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>HLA DRB1</b>	Human Leucocyte Antigen DR $\beta$ 1
<b>HRT</b>	Hormon Replasman Tedavisi
<b>IGF-I,II</b>	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I,II
<b>IL-1</b>	İnterlökin-1
<b>IL1RN</b>	IL-1 Reseptör Antagonist
<b>IL-6</b>	İnterlökin 6
<b>KA</b>	Karbonik Anhidraz
<b>kb</b>	Kilo Baz
<b>KMY</b>	Kemik Mineral Yoğunluğu

<b>MnlI</b>	Moraxella nonliquefaciens'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>MspI</b>	Moraxella species'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>MTHFR</b>	Metil Tetrahidrofolat Redüktaz
<b>NAA</b>	Nötron Aktivasyon Analizi (Neutron Activation Analysis)
<b>NCHS</b>	National Center for Health Statistics
<b>P</b>	Fosfor
<b>P57, KIP2</b>	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1c tarafından kodlanan protein
<b>PCR</b>	Polimerase Chain Reaction
<b>PIPC</b>	Procollagen Type I C-Peptide
<b>PTH</b>	Paratiroid Hormon
<b>Pvu II</b>	Proteus vulgaris Tip II Restriksiyon enzimi
<b>PZR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>QCT</b>	Quantitative Computerized Tomography (Kantitatif Bilgisayarlı Tomografi)
<b>QUS</b>	Quantitative Ultrasound ( Kantitatif Ultrason)
<b>RFLP</b>	Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>RE</b>	Renklendirici solusyon
<b>RsaI</b>	Rhodopseudomonas sphaeroides'den elde edilen restriksiyon enzimi
<b>SD</b>	Standart Deviation (Standart Sapma)
<b>SERM</b>	Selective Estrogen Receptor Modulatory (Selektif östrojen reseptör modülatörü)
<b>SH</b>	Solution Hybridization (Hibridizasyon solusyonu)
<b>SNP</b>	Single Nükleotid Polymorphism
<b>Sp1</b>	COL1A1 geni 1. İntronunda polimorfizm bölgesi
<b>SPA</b>	Single Photon Absorptiometry (Tek Foton Absorbsiyometri)
<b>SR</b>	Strontium Renalete (İlaç)
<b>Taq I</b>	Thermus aquaticus'dan elde edilen restriksiyon enzimi
<b>TGF</b>	Transforming Growth Factor (Transforme edici büyüme faktörü)
<b>TL</b>	Yıkama Solüsyonu
<b>TMB</b>	Tetrametilbenzidin
<b>VDR</b>	Vitamin D reseptör geni
<b>VDRB</b>	Vitamin D reseptör geni B Gen Bölgesi
<b>VDRF</b>	Vitamin D reseptör geni F Gen Bölgesi
<b>Vit D</b>	D Vitamini
<b>VKI</b>	Vücut Kitle İndeksi
<b>WHO</b>	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
<b>XbaI</b>	Xanthomonas badrii'den elde edilen restriksiyon enzimi



## ŞEKİLLER

		<u>SayfaNo</u>
<b>Şekil 2.1</b>	Kemiğin hücresel yapısı	6
<b>Şekil 2.2a</b>	Proosteoklastların aktifleşerek matrikse bağlanması	8
<b>Şekil 2.2b</b>	Rezorpsiyon sonrası kemik yüzeyinde kaviteler oluşması	8
<b>Şekil 2.3a</b>	Aktifleşen osteoblastlar formasyon gerçekleştirir	9
<b>Şekil 2.3b</b>	Formasyondan sonra kemiğin yeni şekli.	9
<b>Şekil 2.4</b>	Osteoporotik ve normal kemik. Normal sağlıklı kemik, yoğun ve güçlüdür ve büyük miktarda basınca dayanabilir. Ancak, osteoporoz geliştiğinde, kemikler incelik ve kırılma bir hal alır ki bu, kemiklerin kırılma olasılığını artırır.	11
<b>Şekil 2.5</b>	COL1A1 geni 17. Kromozom üzerinde 17q21.31-q22'de lokalize bulunmaktadır	28
<b>Şekil 2.6</b>	İnsan COL1A1 geni birinci intronundaki polimorfizmi incelemek için tasarlanan primerlerin pozisyonları	29
<b>Şekil 2.7</b>	ESR1 geni 6. Kromozom üzerinde q kolunun 25.1 bölgesinde yer almaktadır	30
<b>Şekil 2.8</b>	Vitamin D reseptör geni 12. Kromozom q kolu üzerinde yer almaktadır	33
<b>Şekil 2.9</b>	CTR geni ve Alu1 için tanıma bölgesi	35
<b>Şekil 2.10</b>	AT platform diagramı. Mikroarray alanının büyüklüğü 3x3 mm'dir spotlanan alan 120 probun yerleşmesine imkan sağlar.	40
<b>Şekil 2.11</b>	Görüntüleme metodu. Biotinli amplifikasyon ürünleri mikroarray alanındaki spesifik immobilize probalar ile yakalanır. Amplifikasyon kompleksindeki biotin ile sonradan eklenen konjugat (Streptavidin HorseRadish Peroxidase) reaksiyona girerek bağlanır. Son olarak hibridizasyon alanındaki çözünmez çökelti peroksidaz aktivitesiyle TMB'yi metabolize eder	40
<b>Şekil 4.1</b>	Amplifikasyon ürünleri ve marker DNA'ların elektroforez görüntüsü	61

## TABLÖLAR

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 2.1</b>	Kemik formasyonunu ve rezorpsiyonunu etkileyen faktörler 9
<b>Tablo 2.2</b>	Dünya sağlık örgütü kriterlerine göre osteoporoz tanımı 12
<b>Tablo 2.3</b>	Osteoporoz için kullanılan sınıflamalar 18
<b>Tablo 2.4</b>	KMY ve aday genlerle ilişkili yapılan çalışmalar 25
<b>Tablo 2.5</b>	Her bireyin gen bölgesi için aşağıdaki sonuçlardan biri elde edilmiştir 38
<b>Tablo 2.6</b>	Örneğin yeterli olduğu durumlar için cihazın sonuç raporu 41
<b>Tablo 2.7</b>	Sayısal sonucun, tekniğin görüntüleme limitinde okunamaması 41
<b>Tablo 2.8</b>	Genomik DNA'nın amplifikasyonu bulunmamaktadır 41
<b>Tablo 2.9</b>	Amplifikasyonun gerçekleştirildiği DNA miktarları 42
<b>Tablo 2.10</b>	COL1A1-SP1 genotipi için analitik hassasiyet 43
<b>Tablo 2.11</b>	VDRB-BSMI genotipi için analitik hassasiyet 43
<b>Tablo 2.12</b>	VDRF-FOKI genotipi için analitik hassasiyet 43
<b>Tablo 2.13</b>	ESR1X-XBAI genotipi için analitik hassasiyet 43
<b>Tablo 2.14</b>	ESR1P-XBAI genotipi için analitik hassasiyet 43
<b>Tablo 2.15</b>	CTR-ALUI genotipi için analitik hassasiyet 43
<b>Tablo 4.1</b>	Çalışmamızdaki 188 kişinin ölçülebilir klinik ve biyokimyasal özellikleri ile beraber, anketteki sorulara verdikleri cevaplara göre hazırlanan çalışma verileri 58
<b>Tablo 4.2</b>	Çalışmamızdaki 188 kişinin hastanın ölçülemeyen (tanımlayıcı) klinik özellikleri ile beraber, anketteki sorulara verdikleri cevaplara göre hazırlanan çalışma verileri 59
<b>Tablo 4.3</b>	Sistem monitöründe hasta sonucunun görüntüsü. 62
<b>Tablo 4.4</b>	Elde edilen sonuçların geçerliliği 62
<b>Tablo 4.5</b>	Çalışılan 6 gen bölgesinin özellikleri 63
<b>Tablo 4.6</b>	Çalışma kapsamındaki 188 kişinin 6 Gen Bölgesine göre genotipleri ve allel frekansları 64
<b>Tablo 4.7</b>	Çalışma kapsamındaki 118 postmenapozal kadının 6 Gen Bölgesine göre genotipleri ve allel frekansları 66
<b>Tablo 4.8</b>	Erkeklerde çalıştığımız 6 gen bölgesinin allel frekansları 67
<b>Tablo 4.9</b>	Çalışma kapsamındaki 188 kişinin farklı polimorfizmlerinin KMY üzerine etkilerinin regresyon analizi ile değerlendirilmesi. 68
<b>Tablo 4.10</b>	118 Postmenapozal kadında farklı polimorfizmlerinin KMY üzerine etkilerinin regresyon analizi ile değerlendirilmesi. 69
<b>Tablo 4.11</b>	Erkeklerde gen polimorfizmlerinin femoral ve lomber vertebral KMY üzerine etkileri 69
<b>Tablo 4.12</b>	Postmenapozal kadınlarda CTR geninin farklı genotiplerindeki femur ve lomber vertebral KMY ortalamaları 71
<b>Tablo 4.13</b>	VDR B gen polimorfizmleri BB, Bb, bb olanların femur KMY ortalamaları 72

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 4.14</b>	Erkeklerde VDRB geninin farklı genotiplerindeki bireylerin femur KMY ortalamaları 72
<b>Tablo 4.15</b>	VDR F gen polimorfizmleri Ff, Ff, ff olanların femur KMY ortalamaları 73
<b>Tablo 4.16</b>	VDRF geninin farklı genotiplerindeki bireylerin Femur KMY ortalamaları 73
<b>Tablo 4.17</b>	Çalışma kapsamındaki 188 kişinin gen dışı özelliklerinin KMY üzerine etkilerinin regresyon analizi ile değerlendirilmesi. 74
<b>Tablo 4.18</b>	Menapozdaki 118 hastanın KMY değerlerini genlerden başka etkileyebilecek faktörlerin etkileri 74
<b>Tablo 4.19</b>	Erkek hastanın KMY değerlerini gen dışı faktörlerinin etkileri 75
<b>Tablo 4.20</b>	Kadın ve erkeklerin ortalama femur ve lomber vertebral KMY değerleri 75
<b>Tablo 4.21</b>	Yaş gruplarının ortalama KMY değerleri 76
<b>Tablo 4.22</b>	Menapozdaki kadınların yaşlarına göre KMY değerleri 76
<b>Tablo 4.23</b>	Erkek yaş gruplarına göre femur KMY değerleri 77
<b>Tablo 4.24</b>	Vücut kitle indeksine göre ortalama KMY 77
<b>Tablo 4.25</b>	Menapozdaki kadınların vücut kitle indeksine göre KMY değerleri 78
<b>Tablo 4.26</b>	Ailesinde osteoporozlu bulunan ve bulunmayanların ortalama KMY değerleri 78
<b>Tablo 4.27</b>	Menapozdaki kadınlarda ailesinde osteoporozlu hasta bulunan ve bulunmayanların lomber vertebral KMY değerleri 79
<b>Tablo 4.28</b>	Düzenli spor yapan ve yapmayanların ortalama KMY değerleri 79
<b>Tablo 4.29</b>	Düzenli beslenen ve beslenmeyenlerin KMY değerleri 80
<b>Tablo 4.30</b>	Düzenli beslenmelerine göre menopozdaki kadınların femoral KMY değerleri 80
<b>Tablo 4.31</b>	Erkeklerde sigara faktörüne göre femoral KMY değerleri 80
<b>Tablo 4.32</b>	Alkol içen ve içmeyenlerin KMY değerleri 81
<b>Tablo4.33</b>	Alkol kullanımına göre menopozdaki kadınların femoral KMY değerleri 81
<b>Tablo5.1</b>	Bizim çalışma grubumuzun allel frekansları ile Bandres ve arkadaşlarının allel frekanslarının karşılaştırılması 88

# 1.GİRİŞ

Osteoporoz, kelime olarak osteon (kemik) ve poroz (gözenekli) kelimelerinin birleşimi ile oluşur. Dünya osteoporoz kongresinde de kabul edilen bir tanımlamaya göre osteoporoz, düşük kemik kütlesi, kemik mikro yapısındaki değişiklikler ve sonucunda kemik kırılabilirliği ve kırık riskinde artışla karakterize sistemik bir hastalıktır (Anon, 1993; Kanis ve ark., 1994; Ergün 2007). Kemik, yapım ve yıkım ile seyreden sürekli bir döngü durumundadır (Raisz, 2005; Akkaya 2006). Osteoporoz kemik mineral içeriği ve organik matriksinin azalmasıyla normal değerlerin altına inmesi, kemik kalitesinde bozulma ve kemik kırılabilirliğinde artışla karakterizedir (Eastell, 1998).

Osteoporoz en sık görülen metabolik kemik hastalığıdır. Ortalama yaşam süresinin uzaması ile osteoporoz önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir (Khosla ve ark., 2008). İnsanlarda doruk kemik yoğunluğu 30-35 yaşına kadar oluşmaktadır. Daha sonraki yaşlarda özellikle kadınlarda yavaş yavaş kemik kaybı başlamaktadır (Delmas ve ark., 2005). Osteoporozla ilgili kırıkların insidansı yaşla birlikte artar ve büyük oranda düşmeye bağlı olarak meydana gelir (Tosteson ve Hammond, 1995; Cauley ve ark., 2005). 70 yaşın üzerinde olan kadınların % 21'inde hiçbir belirti olmasa da, radyolojik olarak kırık yönünde değişiklikler gözlenir. 90 yaşında bir kadının kalça kırığı geçirmiş olma olasılığı % 20'dir. Bu kalça kırıklarının yaklaşık % 15'i ilk üç ayda ölümlerle sonuçlanacak kadar ağırdır (Tosteson ve Hammond, 1995; Johnell ve ark., 2003) .

Düşük kemik kütlesi ve artmış kırık riski ile karakterize, oranları giderek artan bir hastalık olan osteoporoz (Cummings ve ark., 1990; Seeley ve ark., 1991; Kelsey ve ark., 1992; Kroger ve ark., 1995; Bente ve ark., 1998) yaşamlarının bir noktasında kadınların % 30'unu ve erkeklerin % 12'si kadarını etkiler (Kanis ve ark., 1994). Bu nedenle hayatın daha erken dönemlerinde osteoporoz riskini tahmin etmek ve böylece önlenmesi olasılığını artırmak için önemli olacaktır (Bente ve ark., 1998). Tıp ve sağlık alanında baş döndürücü gelişmeler olmasına rağmen, yaşam şeklindeki olumsuzluklar osteoporozun daha erken yaşlarda görülmesine neden olmaktadır.

Kemik kütlesi ve mineral yoğunluğunun düzenlenmesinde rol alan genlerin bilinmesi, bunların rol oynadığı fonksiyon bozukluklarının düzeltilmesine yönelik tedbirlerin alınabilmesine ve eğitim yapılabilmesine olanak sağlayacaktır (Johnell ve ark., 2003).

Bugüne kadar osteoporozla ilişkili olan 7'den fazla aday genle ilgili araştırma yapılmıştır (Helen, 2006). Bazı toplumlarda osteoporoza neden olan gen başka bir toplumda etkisizdir. Ayrıca osteoporozlu hastaların genetik açıdan ilgili genlere ait polimorfizmlerinin birbiri ile olan fiziksel bağlantısını ve fonksiyonel olarak hangi allel kombinasyonlarının gen fonksiyonlarını azaltıp çoğalttığının bilinmesi bu konudaki çalışmalara önemli katkı sağlayacaktır.

Türk toplumunda aday genlerden VDR, ESR ve COL1A1 genleri araştırılmış ve postmenapozlu osteoporotik kadınlarda VDR Taq I, ESR Pvu II ve COL1A1 Sp1 polimorfizmleri ile Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY) arasında önemli bir ilişki olduğu saptanmıştır (Duman ve ark., 2004; Simsek ve ark., 2008, Bulca 2010). Bizim çalışmamızda, bazı toplumlarda osteoporozla bağlantısı olduğu saptanan aday genlerden COL1A1 Sp1, VDR BsmI, VDR FokI, ESR Pvu II, ESR XbaI ve CTR AluI gen polimorfizmlerinin Isparta bölgesindeki dağılımlarının ve bu genlerin Kemik Mineral Yoğunluğuna (KMY) etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kemik Doku

Kemik, hayati organları koruyan, kan hücrelerinin kaynağını oluşturan kemik iliğinin çatısı olan, vücuda destek veren, ağırlığı taşıyan, kasların yapışması ile hareketi sağlayan, başta kalsiyum olmak üzere, fosfor, magnezyum, sodyum gibi iyonlara depo görevi yapan bir dokudur. % 30-35'i organik ve % 65-70'lik kısmı inorganik yapıdadır (Roodman, 1996; Atik, 1998; Tüzün, 2003; Kutlu ve Odabaşı, 2004).

#### 2.1.1. İnorganik Kısım

Kemiğin kuru ağırlığının % 65-70'ini oluşturur (Atik, 1998). Temel olarak kalsiyum, fosfat, az miktarda bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum içerir. Büyük çoğunluğunu oluşturan kalsiyum ve fosforun büyük kısmı, hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) kristalleri şeklinde az bir kısmı da amorf kalsiyum fosfat formunda bulunur. Hidroksiapatit kristalleri Tip I kollajen boyunca belirli bir düzende yerleşir. Her kristal yaklaşık 400 Å uzunluğunda 100 Å genişliğinde ve 10-30 Å kalınlığında geniş yassı plaklar şeklindedir. Kemiğin sertliği ve sağlamlığı Hidroksiapatit kristalleri ile kollajen arasındaki ilişkiye bağlıdır. Kollajenin yapısındaki değişiklikler de kemiğin mekanik özelliğini değiştirip kırılabilirliğini artırır. Birçok çalışmada kemiğin kuvvetindeki farklılıkların büyük kısmının kollajen matriksin kalitesindeki değişikliklerle ilgili olduğu söylenmiştir. Kemik dekalsifiye edilirse orijinal şeklini korur fakat bir lastik gibi bükülebilir. Kemikteki organik kısım uzaklaştırılırsa kemik daha kırılabilir olur (Guyton, 2000; Tüzün, 2003; Viguet, 2006).

### 2.1.2. Organik Kısım

Yeni oluşan kemikte organik kısım daha fazla olmakla beraber organik kısım kemiğin kuru ağırlığının % 30-35'ini oluşturur. Bu bölüm kollajen ve kollajen dışı proteinlerden oluşan matriks ve kemik hücrelerinden meydana gelir. Organik bölümün % 98'ini matriks, % 2'sini hücreler oluşturur. Kollajen organik komponentin yaklaşık % 90'ını oluşturur. Kollajen lifleri geniş demetler halinde bulunur, kemiğin kuvvet çizgileri boyunca uzanır. Kollajen tendon ve derinin de majör yapısal proteindir. Organik matriksin geri kalan az miktardaki organik komponentleri ise proteoglikan, lipid, kollajen olmayan proteinler ve gama-karboksi glutamik asit kapsayan proteinler oluşturur. Bunların içinde osteokalsin, osteonektin, osteopontin, kemik siyaloproteini, kemik morfojen proteini, kemik proteolipidi ve kemik fosfoproteini bulunur. Matriks proteinlerinden osteopontin kemiğe özgü bir glikoproteindir. Vit D bu glikoproteinin sentezini uyarır. Siyaloprotein ise matriks bileşenlerine osteoblast ve osteoklastlar üzerindeki integrinlere bağlanma bölgeleri içerir. Organik kısmın % 2 kadarını oluşturan hücreler osteoprogenitor hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır (Audran ve Kumar, 1985; Rosenberg, 1991; Roodman, 1996; Guyton 2001; Tüzün, 2003; Kutlu ve Odabaşı, 2004).

### 2.1.3. Kemik Hücreleri

İskelet dokusu "Basic Multicellular Unit" (BMU) olarak adlandırılan hücrelerden oluşur (Parfitt, 1988; Peck ve Woods, 1988; Atik 1998). Bu hücreler Şekil 2.1'de gösterilmiştir. BMU, kemiğin yapım ve yıkımından sorumlu hücreler bütünüdür. Bu hücreleri iki gruba ayırmak mümkündür.

**Mezenşimal Hücreler:** Preosteoblast, osteoblast, kemik dōşeyici hücreler ve osteositler.

**Hematopoietik Hücreler:** Monosit, Proosteoklast ve osteoklastlar (Buckwalter ve ark, 1995).

### **2.1.3.1. Osteoblastlar**

Osteoblastlar kemiğin yüzeyinde lokalize küboidal-kolumnar hücrelerdir. Osteoblastlar osteoprogenitor hücrelerden, onlar da mezenkimal hücrelerden kaynaklanır. Osteoblastlar kemik matriksin organik komponentlerini oluşturan tip I kollajen ve diğer kollajen dışı proteinleri sentezleyen ve kemik mineralizasyonunu düzenleyen hücrelerdir (Atik, 1998; Tüzün, 2003; Kutlu ve Odabaşı, 2004).

Osteoblastlar aktif kemik oluşumu sırasında yüksek düzeylerde alkali fosfataz salgırlar. Kalsifiye kemik ile osteoblast hücreleri arasında osteoid denilen kalsifiye olmamış bir kemik matriks alanı vardır. Osteoblast salgılanan matriks tarafından tamamen çevrelendiğinde hücre osteosit olarak adlandırılır, doldurduğu boşluğa ise lakuna denir. Matriks üretimini tamamlayan hücre inaktif olur, bu inaktif osteoblastlara kemik döşeyici hücreler (bone lining cell) denir. Ancak uygun uyarılarla tekrar aktif hale geçebilirler. Osteoblastların bir fonksiyonu da osteoklast stimule edici faktör salgılamaktır. Parathormon (PTH) osteoblastların yüzeyindeki PTH reseptörlerine bağlanınca osteoblastlar osteoklast stimule edici faktör salgırlar. Bu faktör osteoklastları uyarak kemik rezorpsiyonuna yol açar (Atik, 1998; Tüzün, 2003).

### **2.1.3.2. Osteositler**

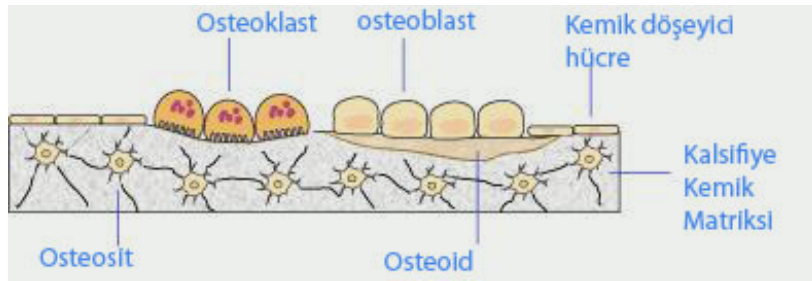
Osteositler osteoblast kaynaklı olgun kemik hücreleridir. Kemik biçimlenmesi süresince yeni doku oluşurken, osteoblastların bir kısmı daha az sekresyon yapmaya başlarlar ve ilerleyen zamanda dokunun içinde kalırlar. Daha sonra da bu doku içinde gömülmeğe başlarlar. Osteoblastlar mineralize matriks içinde kaldıklarında fonksiyonları, morfolojik özellikleri değişir ve osteosit adını alır. Osteositlerin içinde bulunduğu lakunalardan değişik yönlere uzanan Kanalikuli denilen tüneller osteositlerin sitoplazmik uzantılarını bulundurur. Bu uzantılar hücreler arası iletişimi ve küçük moleküllerin transferini sağlar. Daha önce osteositler kemik dokuda yer işgal eden elamanlar olarak düşünülürken 1970'li yılların sonuna doğru osteositler tarafından gerçekleştirildiği düşünülen osteolitik osteoliz kavramı ortaya atılmıştır.



Osteositler içinde bu olayı gerçekleştirecek enzim aktiviteleri halen araştırılmaktadır (Van Deer Plas, 1992; Tüzün, 2003; Kutlu ve Odabaşı, 2004).

### 2.1.3.3. Osteoklastlar

Kemik iliğinden köken alan Proosteoklastlar daha sonra osteoklast hücrelerine dönüşür. Tek hürelili osteoklastlar ( veya proosteoklastlar) osteoblast veya osteositlerin etkisi ile birleşerek çok hürelili osteoklastları oluşturur. Kemik rezorpsiyonunun olduğu bölgelerdeki Howship Lakunası denilen çukurcuklarda bulunurlar. Kemik rezorpsiyonunda görev alırlar. Rezorpsiyonda karbonik anhidraz (KA) aktivitesi ve katepsin türü proteazlar sorumludurlar (Parfitt, 1988; Agnusdei ve ark., 1992; Buckwalter ve ark., 1995; Atik, 1998; Kutlu ve Odabaşı, 2004; IOF, 2010).



Şekil 2.1. Kemığın hücresel yapısı (IOF, 2010)

### 2.1.4. Kemığın Şekillenmesi

#### 2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

Bir grup mezenkimal hücrenin osteoblasta dönüşmesinden sonra bu osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan mineralizasyonu ile olur. Birkaç kondensasyon (kemikleşme) merkezi birleşip süngerimsi yapıyı meydana getirir. Kemikleşme merkezleri büyüyerek kendinden önceki bağ dokusunun yerini alır. Klavikula,

mandibula ve kafatası gibi yassı kemiklerin oluşumunda intramembranöz kemikleşme vardır (Tüzün, 2003; IOF, 2010)

#### **2.1.4.2. Endokondral Kemikleşme**

Tüzün 2003'e göre daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksin çöküşü ile olur. Önce kondrositler hipertrofiye uğrayarak yıkılınca kıkırdak matriksinin aralarında geniş lakünalar kalır. Osteoprogenitör hücreler buralarda osteoblasta dönüşerek kıkırdak matriksin üzerini kemik matriks ile kapatırlar. Çocukluktan itibaren femur, tibia, humerus gibi uzun kemiklerin boylarının uzaması endokondral kemikleşme ile olur.

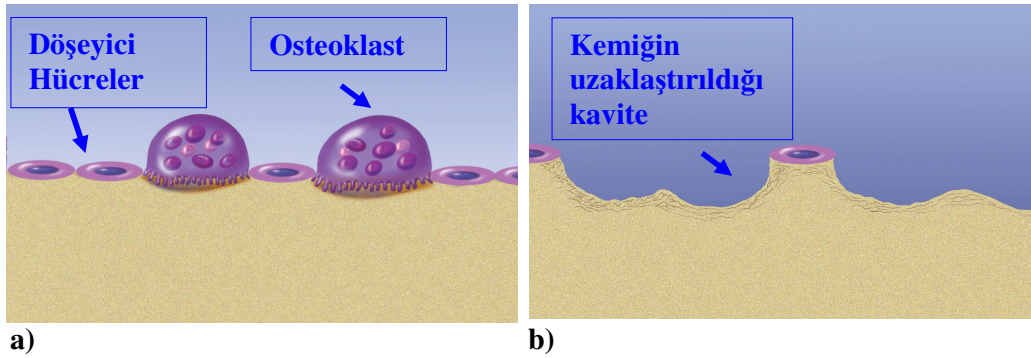
Yukarıda bahsedilen her iki yollada primer veya olgunlaşmamış kemik ortaya çıkar. Daha sonra primer kemiğin yerini sekonder kemik alır. Primer kemikte hücre oranı fazla iken sekonder kemikte matriks daha kalsifiye ve kollajen lifler daha düzenlidir (Tüzün, 2003; IOF, 2010).

#### **2.1.5. Kemiğin Yeniden Yapılanması (Remodeling)**

Kemikler işlerliğe uygun sağlam bir yapıda olmak için ömür boyu sürekli model değişimi içindedirler. Kemikte sürekli yıkım ve yeniden yapım vardır. Bu iki işlem Tüzün (2003)'e göre aynı hızda birbirini takip eder (Tüzün, 2003). Atik (1998)'e göre ise kemik yapım hızı gençlerde daha hızlı, ileri yaşlarda daha yavaş olur (Atik, 1998). Frost (1979); iskelet dokusunun BMU ile siklik olarak lokal veya sistemik belli bir aktivasyon sonucu yenilenmesini Quantum modeli ile açıklamıştır. Kabul gören bu görüşe göre kemiğin yeniden yapılanması beş fazda gelişir (Frost, 1979; Peck, 1998; Rubey ve ark., 1988; Taylor, 1994).

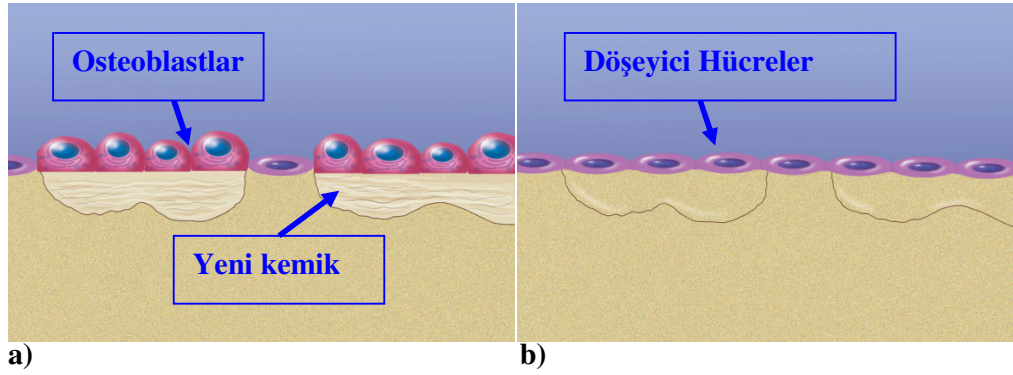
1. Dinlenme
2. Aktivasyon
3. Rezorpsiyon
4. Proliferasyon
5. Formasyon

Dinlenme fazında kemik döşeyici hücreler ve inaktif osteoblastlar korteks iç yüzeyinde lokal ve sistemik etkenlere (PTH, Kalsitriol) açık bekleme fazındadır. Aktivasyon fazında proosteoklastlar; osteopontin katkısı ile matrikse bağlanıp proteazları salgılayıp olgun aktif osteoklastlara dönüşürler (Taylor, 1994). Rezorpsiyon fazında proteazlar aktive olur, matris yıkılır, kollajenler parçalanır, hidroksiapatit yapısındaki Ca (kalsiyum) çözünür hale geçer. Kemik yüzeyinde kaviteler oluşur. (Atik 1998) (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2** a) Proosteoklastların aktifleşerek matrikse bağlanması. b) Rezorpsiyon sonrası kemik yüzeyinde kaviteler oluşması (LİLLY, 2010).

Rezorpsiyon sonrası oluşan boşlukta monositer seri, lenfositler ve osteoblastlar toplanır. Lokal ve sistemik büyüme faktörleri, düzenleyiciler yer alır. Osteoblastlar proliferer olur. Böylelikle kemik yapım fazı başlar. Osteoblastlar aktifleşerek osteoid (kollajen ve non kollajen proteinleri) salgılar, Matriks içinde yeniden Ca depolanır mineralizasyon başlar. Mineralizasyon sırasında Ca solid (hidroksiapatit) veya çözünük olarak depolanır. Kollajen varlığı mineralizasyon için gereklidir. Osteonektin ve osteoblastik alkalen fosfataz etkisi ile fosforilasyon hidroksiapatit yapısını solid hale getirip stabilize ederken, osteokalsin ise hidroksiapatit yapısını inhibe eder (Peck ve Woods, 1988; Riggs, 1988; Rubey ve ark.,1988; Heaney, 1988; Palmas, 1993; Taylor, 1994; Vaananen, 1991) (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3** a) Aktifleşen osteoblastlar formasyon gerçekleştirir. b) Formasyondan sonra kemiğin yeni şekli. (LİLLY, 2010).

Özetle kemiğin yeniden yapılanması kemik rezorpsiyonu matrisin yıkımı ve mineral komponentin çözünmesi, kemik formasyonu ise matrisin sentezi ve mineralizasyonu ile oluşur. Bu zincir hormonlar, sistemik ve lokal büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir. Bu faktörler aşağıda tablo halinde verilmiştir, (Bonewald ve Mundy, 1990; Kutlu ve Odabaşı, 2004).

**Tablo 2.1.** Kemik formasyonunu ve rezorpsiyonunu etkileyen faktörler (Kutlu ve Odabaşı, 2004).

• <b>Kalsiyum seviyesini düzenleyenler</b>
○ Paratiroid hormonu (PTH)
○ 1,25 (OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>
○ Kalsitonin
• <b>Sistemik hormonlar</b>
○ Glukokortikoidler
○ İnsulin
○ Büyüme hormonu (GH)
○ Seks hormonları
○ Tiroid hormonları
○ Dolasındaki büyüme faktörleri (IGF-I,II)
• <b>Lokal faktörler</b>
○ Prostaglandin E <sub>2</sub>
○ Kemik kökenli büyüme Fak.
○ TGF
○ Sitokinler
○ Kemik ile ilgili proteinler
○ Osteokalsin
○ Osteonektin
○ Kemik morfogenetik Pr.

## 2.2. Osteoporoz

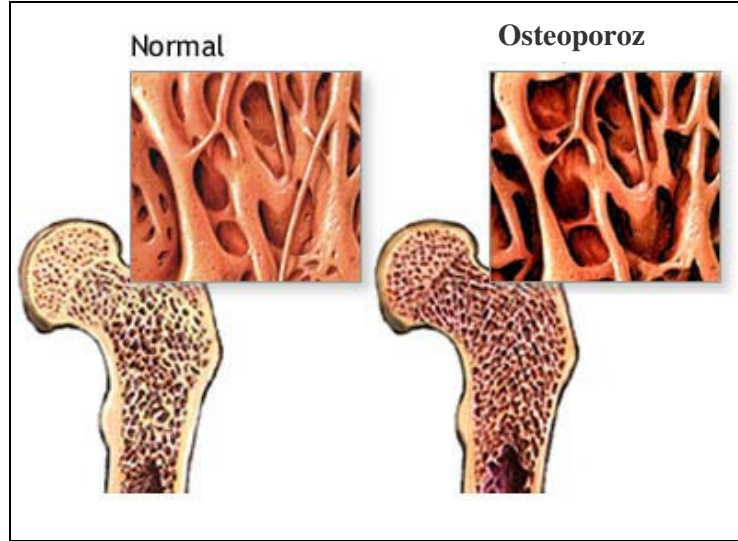
Osteoporoz düşük kemik kütlesi ve kemik mikromimarisinde bozulma ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Kemik kırılabilirliğinde ve kırık riskinde artışa yol açmaktadır. İnsan beklenen ömrünün uzama eğiliminde olması, osteoporotik hastaların sayısında artışa neden olacak bu da gelecekte daha büyük bir halk sağlığı sorunu haline gelebilecektir. Özellikle yaşlılarda mortalite ve morbititeyi etkilemesi ile yaşlıların önemli sağlık sorunlarından birini teşkil etmektedir. Osteoporozun bizi ilgilendiren en önemli özelliği Düşük Kemik Mineral Yoğunluğunun (DKMY) kırıklar için önemli bir risk faktörü olarak kabul ediliyor olmasıdır (Uitterlinden ve ark., 2001; Barros 2002; Adriana ve ark., 2008).

Osteoporoz batı dünyasındaki en yaygın metabolik kemik hastalığıdır (Deviren, 2003). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2004 yılında 320.000'den fazla kişi kalça kırığı nedeniyle hastanelere başvurmuştur (NCHS, 2008a; CDC, 2010). Kırıkların % 90'ından fazlası düşmelere bağlı meydana gelmektedir (Cummings, 1985). 1990'daki araştırmacıların tahminine göre 2040 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde meydana gelecek kalça kırığı 500.000 kişiyi geçecektir (Cummings, 1990). Kalça kırığı olan her beş kişiden birinin hayatını bu travmadan dolayı kaybettiği (Leibson ve ark., 2002), kalça kırıklı hastaların bir hafta civarında hastanede kaldıkları (NCHS, 2008b), daha önce bağımsız yaşayabilen kişilerin dörtte birinin bir yıl boyunca hemşirelik hizmetlerine ihtiyaç duyduğu (Magaziner, 2000), Haziran 1991 ile Temmuz 1992 arasında kalça kırıklarının yıllık maliyetininin 2.9 milyar dolar olduğu düşünülürse problemin boyutları daha iyi anlaşılacaktır (CDC, 2010).

Kemik kütlesi doğumdan sonra hem erkekte hem kadında artarak en yüksek seviyesine ulaşır. 40 yaşından sonra her iki cinsiyette de azalmaya başlar. Kadınlarda postmenapozal dönemde kemik kaybı hızlanır. 80 yaşında erkekler Doruk Kemik Kütesinin (DKK) % 25'ini kadınlar ise % 40'ını kaybederler (Atik, 1998).

Osteoporozu olan hastalarda hiç semptom görülememesi, ancak kırık oluştuktan sonra farkında olunması "Sessiz Hastalık" teriminin kullanılmasına neden

olmuştur. Osteoporozlu kişilerde basit bir düşme gibi minör yaralanmalardan sonra bile kırık olabilir. Kemik sürekli yeniden yapılanan canlı bir dokudur. Çocukluk çağından genç erişkinlik çağına kadar kemik formasyonu, kemik rezorpsiyonundan daha hızlıdır. Yıllar içinde kemikler büyür, ağırlaşır, sağlamlaşır ve 30 yaşlarında doruk kemik kütesine ulaşılır. 30'lu yaşların ortalarında çoğu insanda kemik gücü giderek azalmaya başlar. Kemik rezorpsiyonu ile formasyon arasındaki denge değişir, sonuç olarak kemik yapısal olarak zayıflar, kırıklara karşı yatkınlığı artar (Kutsal, 2005) (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4.** Osteoporotik ve normal kemik. Normal sağlıklı kemik, yoğun ve güçlüdür ve büyük miktarda basınca dayanabilir. Ancak, osteoporoz geliştiğinde, kemikler inceldiği ve kırılma olasılığının arttığı görülmektedir (CHIROPRACTIC, 2010; TİP2000, 2010).

Daha önceki osteoporoz tanımlamadan sonra 1994 yılında Avrupa Osteoporoz ve Kemik Hastalıkları Kurumunun, Amerikan Ulusal Osteoporoz Kurumunun ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) nün kabul ettiği kemik mineral yoğunluğu ve kırık oluşumunu kapsayan bir tanımlama kabul edilmiştir (WHO, 1994; Kanis, 1998; Tüzün, 2003), (Tablo2.2).

**Tablo 2.2.** Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre osteoporoz tanımı (Kanis, 1998).

<b>Normal</b>	Genç yetişkin ortalama değerine göre 1 SD'den fazla sapma göstermeyen KMY değeri ( $-1 < T$ skor)
<b>Osteopeni</b>	Genç yetişkin ortalama değerine göre -1 ve -2,5 SD arasında olan KMY değerleri ( $-2,5 < T$ skor $< -1$ )
<b>Osteoporoz</b>	Genç yetişkin ortalama değerine göre -2,5 SD'den daha düşük olan KMY değerleri ( $T$ skor $< -2,5$ )
<b>Ciddi osteoporoz (Yerleşmiş)</b>	Genç yetişkin ortalamalarına göre -2,5 SD'den daha düşük KMY değerleri ( $T$ skor $< -2,5$ ) ile birlikte en az bir tane osteoporotik kırık

WHO tarafından önerilen bu kriterlerin güçlü ve eksik tarafları sözkonusudur.

Güçlü taraflar;

- 1.Tanı için açıklık getirmiştir.
2. İlk kırıktan önce osteoporoz tanısı ortaya konabilir.
- 3.Terminolojide birliktelik sağlar.

Eksik Taraflar

- 1.Tanı için verilen eşik değer tedavide yanlış yorumlamalara neden olabilir.
2. Kırık riskinden çok dansite eşik değerini verir.
3. Patofizyoloji göz önüne alınmayarak düşük kemik kütlesi osteoporoz için yeterli kabul edilmektedir.
4. Postmenapozal beyaz kadınlardan elde edilen veriler temelinde önerilmiştir (Odabaşı, 2010).

### **2.2.1. Osteoporoz Risk Faktörleri**

Osteoporoz gelişmesinde bilinen ve bilinmeyen birçok risk faktörleri vardır. Bu risk faktörlerini bilmeden osteoporozla mücadele etmek önlemler almak mümkün değildir. Kemik mineral yoğunluğundaki azalma sonucu ortaya çıkan kırıklara sebep olabilen osteoporozun önlenmesi, yavaşlatılması ve tedavisinin daha düşük maliyetle ve daha başarılı yapılabilmesi için muhtemel risk faktörlerini tanımlamak gereklidir.

### **2.2.1.1. Doruk Kemik Kütlesi**

Kemik kütlesi kızlarda ve erkeklerde en hızlı artışı 12 yaşlarında yapar. Kemik kütlesi kadınlarda 25–35, erkeklerde ise 35–40 yaşlarında tepe noktasına ulaşır (Christiansen, 1993; Cummings, 1991; Gamle 1995; Garland, 1993; Haris, 1988; Parfitt Ma,1988,). Kemik kütesinin yaşam boyu ulaştığı en yüksek değere Doruk Kemik Kütlesi (DKK) denir. DKK'nın azlığı, osteoporoz riskini artırması yanında osteoporoz etyopatogenezinde de değerlendirilir. DKK genetik, nütrisyonel aktivite gibi faktörler nedeniyle farklılık gösterir (Ferrari ve ark., 1998; Atik, 1998).

### **2.2.1.2. Cinsiyet**

Osteoporoz kadınlarda özellikle menapoz sonrası kadınlarda daha fazla görülmektedir. Erkeklerin iskelet yüzeyi ve maksimum kemik kütlelerinin kadınlardakinden fazla olması, kemik kaybının daha geç başlaması ve daha yavaş ilerlemesi, menapoz ve buna eşlik eden hızlı kemik kaybının olmaması sebebiyle, osteoporoz erkeklerde daha az görülür. Puberteden önce kız ve erkeklerde kemik kütlesi artış hızı eşittir. Ergenlikten sonra erkeklerdeki kemik gelişimi daha fazladır. (Melton ve ark., 1998; Ergün, 2007). Osteoporoz kadınlarda sık görülse de kalça kırıklarının üçte birinin erkeklerde görüldüğü (Braga, 2002) unutulmamalıdır.

### **2.2.1.3. Yaşlanma**

Kemikteki mikromimari yaş ilerledikçe bozulmaya başlar. Trabeküler bağlantı zamanla bağlantı kaybına uğrar zayıflar. Yaşa bağlı osteosit ölümü ile oluşan boş lakunalardan kemik kalitesi olumsuz etkilenir. Boşalan lakuna ve kanaliküller kalsifiye bağ dokusu ile dolar ve mikropetrosis olarak da adlandırılan hipermineralizasyon ortaya çıkar, bu da kırılabilirliği artırır. Organik kemik matriksinde bozulmalar ve yaşlı osteoporozlu hastalarda proteoglikan bileşimlerin yerleşiminde değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişikliklerin yaşa bağlı mı yoksa osteoporozla mı bağlı olduğu tartışmalıdır (Tüzün, 2003).



#### **2.2.1.4. Irksal Farklılıklar**

Siyah ırkta kemik mineral yoğunluğu beyaz ırka kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Bu nedenle osteoporoza bağlı kırıklar siyah ırkta daha az görülmektedir. Örneğin Yeni Zelanda'da beyazlarda 100.000'de 178 iken, yerlilerde 88'dir. Güney Afrika'da ise beyazlarda 127, zencilerde 27 olduğu saptanmıştır (Baysal, 1999; Akkaya, 2006). Beyaz ırka mensup 50 yaş üstü bir kadında hayatında en az bir majör kırık geçirme riski %50'dir (Atik, 1986a; Atik1986b; Cummings, 1991; Haris, 1988; Atik, 1998).

KMY'nun güçlü genetik bileşenlere sahip olduğu bilinmektedir (Jouanny ve ark., 1995). VDR gen polimorfizmi için kemik kütlelerinde bazı varyasyonlara neden olduğu öne sürülmesine (Morrison ve ark., 1994) rağmen, bu ilişki farklı popülasyonlar arasında evrensel değildir (Cooper ve ark., 1996). Kim ve arkadaşları 2001'deki çalışmalarında, aynı etnik grupta ve homojen bir nüfusda (postmenapozal Koreli kadınlar) VDR FokI ve ESR PvuII ve XbaI RFLP'leri ile KMY arasındaki ilişkiyi incelemişler; KMY'nin VDR FokI RFLP ile ilişkili olmadığını ancak ESR RFLP ile ilişkili olduğu bulmuşlardır. Daha önceki bazı çalışmalarda (Gross ve ark., 1996; Gennari ve ark., 1999) kadınlar için ff genotipinde olanların daha düşük lumbar omurga KMY'sine sahip oldukları raporlansa da, bunun aksine Kim ve arkadaşlarının 2001'deki çalışmalarında VDR FokI polimorfizmi ile KMY arasında bir ilişki saptamamışlardır. Bu da postmenapozal kadınlarda FokI polimorfizmi ve KMY arasında bir ilişki bulunamayan Zmuda ve arkadaşlarının 1999'da Afrikalı-Amerikalılarda; Lucotte ve arkadaşlarının 1999'da Fransızlarda herhangi bir ilişki bulunamayan raporlar ile tutarlıdır (Kim, 2001).

#### **2.2.1.4. Vücut Ağırlığı**

Birçok çalışmada vücut ağırlığı KMY'yi yaştan daha fazla etkileyen temel belirleyicilerinden biri bulunmuştur (Reid, 2002). Düşük vücut ağırlığı osteoporoz riskinin ve kırıkların artmasıyla ilişkilidir (Korpelainen, 2006; Adriana ve ark., 2008). Özellikle fazla kilolu kadınların bağırsaklarından emilen kalsiyum verimi daha yüksektir (Tüzün, 2003).

### **2.2.1.5 Fiziksel Aktivite**

Tekrarlanan mekanik yüklenmenin KMY'nu belirgin olarak artırdığı bilinmektedir. Buna karşılık, immobilizasyona bağlı olarak kısa sürede önemli kemik kayıplarının görülebileceği birçok çalışmada gösterilmiştir. Düzenli yapılan egzersizin KMY artışı ile birlikte kalça kırığı riskini azalttığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Genel olarak ağırlık yükleyici egzersizlerin osteoporozdan korunmada önemli rolü olduğu kabul gören bir görüştür (Tüzün, 2003).

### **2.2.1.6. Beslenme**

Menapozdan sonra düşük kalsiyum içerikli diyet osteoporozu hızlandırmaktadır (Kanis, 1998). Osteoporozu bir kalsiyum eksikliği hastalığı olarak tanımlayanlar da vardır (Nordin ve Morris,1989). Ancak İskandinav ülkeleri ve Hollanda da yüksek kalsiyum alanlarda kalça kırığı riski, düşük kalsiyum alanlardan daha yüksek bulunmuştur (Kanis, 1998).

Çocukluk çağında belirgin protein enerji malnütrisyonu ve Vit D eksikliği kemik gelişimini olumsuz etkilemektedir. Kalça kırıklı hastalar yaşlarına göre daha kötü beslenmektedirler (Delmi ve ark., 1990). Ancak yüksek proteinli diyet de kalsiüriye neden olarak osteoporoz için risk oluşturur (Kanis, 1998).

Yapılan bir çalışmada (Diamond ve ark., 1989) alkoliklerde kemik yapımının belirgin olarak azaldığı bulunmuştur (Kanis, 1998). Aşırı alkol kullanımı özellikle erkeklerde osteoporoz için belirgin bir risk faktörüdür (Smith, 2007, Sundep ve ark., 2008). Kafein içeren içeceklerin alınması kalsiyumun idrarla atılmasını artırmaktadır (Heaney ve Recker, 1982; Kanis, 1998).

### **2.2.1.7. Gebelik ve Emzirme**

Emzirme dönemi ile ilgili prospektif çalışma az olmasına karşın, emzirme döneminde kemik turnoveri artar ve kemik mineral içeriği azalır (Hayslip ve ark., 1989). Sütten kesme döneminden sonra geri döner (Lopez ve ark., 1996).

Yapılan çalışmalarda hamilelik döneminde total vücut kalsiyumunda değişiklik olmadığını; Dual foton absorptometri ile ölçülen kalça ve önkol kemik dansitelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (Drinkwater ve Chesnut, 1991; Kanis, 1998).

### **2.2.1.8. Menapoz**

Menapoz yaşının fetal gelişme sırasında oluşan genetik olarak kontrol edilen ovarian foliküllerin sayısı ile ilişkisi vardır (Goecke, 1959). Toplumlar arasında farklılıklar olsa da batı dünyasında menopoz yaş ortalaması 51'dir. Yüksek sosyo ekonomik düzeylerde daha geç yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Menapoz östrojen, androjen ve progesterondaki major değişikliklerle ilişkilidir. Menapozda östrojen seviyesinde belirgin bir düşüş olur. Androstenedion'un östrona (başlıca 3 doğal östrojen; östradiol [E2], östron [E1] ve östriol [E3] tür) periferik aromatisasyonu devam eder. Bu dönüşüm büyük oranda yağ dokusunda olur. Bu kırık riskinin zayıflarda neden fazla olduğunu açıklayabilir (Özel, 2005; Kanis, 1998).

Menapoz ve hızlı kemik kaybı arasındaki nedensel ilişkiyi gösteren çok sayıda kanıt vardır. Oofektomi sonrası hızlı kemik kayıpları östrojen tedavisi ile önlenmektedir. Menapoz yakınlarında, kemik kaybı hızlanır ve ortalama yıllık % 2 iken sonraki 5-10 yıl içinde düşüşler azalır. Erken menopoz, düşük kemik kütlesi ile ilişkilidir. 20 yıl önce erken menapoza giren 50'li kadınların kemik kütlesi yaşına uygun adet gören kadınlardan önemli ölçüde daha azdır (Richelson ve ark., 1984).

Menapozdan sonra kemik kaybı tekdüze değildir. Kesitsel çalışmalara göre ortalama kayıp, yaklaşık her on yılda % 10'dur, ancak 75 yaşından sonra her on yılda yaklaşık % 3 düzeyinde olur. Kısa süreli prospektif çalışmalar ve diğer çalışmaların kesitsel nitelikte deseni çeşitli varsayımlar içerir ki genel olarak sonuçlar kemik kaybı oranı tahmin edemez, kemik kaybı paterninin karakterizasyonu uzun süreli prospektif çalışmalar gerektirir. Menapoz anında hemen ortaya çıkan erken kemik kaybının başlıca bileşeni kemik remodelling oranı artışı ve bundan ortaya çıkan sonuçlar ile ilgilidir. Rezorpsiyon ve formasyon arasındaki dengesizlikten olan kayıpların üstüne yaşa bağlı kayıplar da eklenir, böylece kemik kaybı yeni kararlı hal elde edildiğinde de kemik aktivasyonu sıklığında artış ile orantılı devam eder (Kanis, 1998).

Postmenapozal dönemde ilk 10 yıldaki kemik kaybı oranı çok değişkendir. Bu oran yıllık % 1 ile % 5'in arasında değişmektedir. Buna göre, postmenapozal kadınlar 'normal' ve 'hızlı kemik kaybedenler' olarak sınıflandırılabilir, bu ileri yaşlarda özellikle osteoporotik kırıklar için değerli olabilir (Hansen ve ark., 1991). Kemik kaybı kafa, kollar, eller, göğüs, omurga, pelvis ve bacaklar dahil olmak üzere tüm bölgelerde meydana gelmesine rağmen, kayıp miktarı değişkendir (Gotfredsen ve ark., 1990).

## 2.2.2. Osteoporozda Sınıflama

Osteoporoz için farklı sınıflamalar kullanılmaktadır (Kanis, 1998). Bunlar Tablo 2.3'te özetlenmiştir

**Tablo 2.3** Osteoporoz için kullanılan sınıflamalar ( Tüzün, 2003).

Yaşa Göre	Juvevil Osteoporoz
	Erişkin Osteoporoz
	Senil Osteoporoz
Lokalizasyona Göre	Genel Osteoporoz
	Bölgesel Osteoporoz
Tutulan Kemik Dokuya Göre	Trabeküler Osteoporoz
	Kortikal Osteoporoz
Etyolojiye Göre	Primer Osteoporoz
	Skonder Osteoporoz
Histolojik Görünüme Göre	Hızlı Döngülü Osteoporoz
	Yavaş Döngülü Osteoporoz

Etyolojiye göre yapılan sınıflandırma en yaygın kullanılan sınıflandırmadır; primer ve sekonder osteoporoz olarak ikiye ayrılır;

**Primer Osteoporoz** : Bir hastalığın sonucu değildir bir süreçtir (Atik 1998). Tip I ve Tip II olarak; iki grupta incelenir;

**Tip I** Postmenapozal Osteoporoz

**Tip II** Senil Osteoporoz

**Sekonder Osteoporoz:** Sistemik bir hastalık ya da başka sebeplere bağlı olarak ortaya çıkar, bu sebepler aşağıdadır (Atik, 1986a; Atik, 1986b; Christiansen, 1993a; Christiansen, 1993b; Heany, 1993; Nevitt, 1994; Vaananen, 1991):

#### Endokrin Nedenler

- Hipogonadizm
- Hiperkortizolizm
- Hipertiroidizm
- Hiperparatiroidizm
- Diabetes Mellitus

#### Hematolojik- Onkolojik Nedenler

- Lenfoma
- Multiple Myeloma

#### Gastrointestinal sistem bozuklukları

- Gastrektomi
- Malabsorbsiyon
- Primer bilier siroz
- Anoreksia Nervoza

#### Bağ Dokusu Hastalıkları

- Osteogenesis İmperfekta
- Marfan sendromu
- Ehler-Danlos Sendromu

#### İntoksikasyonlar

#### İlaç Kullanımı

#### Diğer

- İmmobilizasyon
- Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
- Romatoid Artrit

Radyasyon Tedavisi

Kronik Alkolizm

Sigara

İatrojenik (Atik, 1980, Atik, 1986a; Atik,1986b; Harris, 1988; Atik ve Telli, 1989; Cummings, 1991; Beary ve Lane 1993; Chiristiansen, 1993b; Heany, 1993; Gamble, 1995; Nevitt, 1994; Palmas, 1988; Seeman, 1993; Vaananen, 1991; Atik, 1998)

### **2.2.3. Osteoporozda Tanı**

Klinikte öncelikle hasta risk faktörleri açısından sorgulanmalı, geçirilmiş kırıklar ve ilaç kullanımı özellikle kaydedilmelidir (Gamble, 1995). Osteoporoz tanısı için kullanılan testler ise;

Biyokimyasal Laboratuar Testleri

Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçümleri

Kemik Biyopsisidir.

#### **2.2.3.1. Biyokimyasal Laboratuar Testleri**

Osteoporozda serum Ca ve P değerleri normal veya normale yakındır. 24 saatlik idrarda Ca atılımı hafifce artmış olabilir. Serumda bazı enzimler, substrat ve metabolitlerin değişeceği açıktır, bunlar Formasyon ve Rezorpsiyon ürünleridir (Akesson, 1995; Heaney, 1988; Palmas, 1993; Parviainen ve ark., 1991; Riggs, 1988; Riss, 1993; Ristel ve ark., 1991)

Formasyon Ürünleri

Alkalen Fosfataz (ALP)

Osteokalsin

Prokollajen Tip I Karboksi Terminalopeptit (PIPC)

Rezorpsiyon Ürünleri

Hidroksiprolin

Üriner Pridolin  
Telopeptitler  
Kemik Siyalaproteini

### **2.2.3.2. Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçümleri**

Kemik mineral ve hücre yoğunluğunu dansitometrik olarak indirek, noninvaziv yollarla ölçmek teknolojik imkânlar geliştikçe kolaylaşıp sensitifleşmektedir. (Alheva, 1991; Gamble, 1995; Genant, 1988; Mazess ve Wahmer, 1988; Nuti ve ark., 1993; Palmas, 1993) Tarif edilen yöntemler:

**Radiogrammetri, Radyografik Dansitometri, Radyografik Absorpsiometri:** Konvansiyonel radyografi ile metakarpal kemik kalınlığının dış kortekse oranı ile yorumlanır (Wahmer, 1988).

#### **Fotodansitometri**

**Tek Foton Absorbsiyometri; SPA (Single Photon Absorptiometry) :** İodin, Amerikanyum ile kemik tarafından tutulan fotonlar ölçülür ( Genant, 1988, Wahmer, 1988).

**Çift Foton Absorbsiyometri; DPA (Dual Photon Absorptiometry) :** Gadalyonyum ile iki enerji seviyesinde ölçüm yapılır (Atik, 1998).

**Nötron Aktivasyon Analizi NAA (Neutron Activation Analysis):** Kemikteki Ca elementlerinin nötron bombardımanına tutulması sonucu açığa çıkan gama ışınlarının ölçülmesi esasına dayanır. Noninvaziv yöntemlerin altın standardıdır. Çok pahalıdır ( Gamble, 1995).

**Kantitatif Komputere Tomografi QCT (Quantitative Computerized Tomography) :** Yüksek doz X ışını vermesi nedeni ile az tercih edilir.



**Ultrasonografik Yöntemler: Kantitatif Ultrason (QUS):** Kullanımı yaygın değildir.

**DXA Çift Enerjili X-Ray Absorbsiyometri (Dual-Energy X-Ray Absorptiometry):** Günümüzde kısa tarama süresi ve düşük radyasyon dozu vermesi nedeni ile en çok tercih edilen tanı yöntemidir. X ışını ile aktive edilen fotonlarla yapılan taramadır (Hagiwara ve ark., 1994; Nuti ve ark., 1993; Ostler ve Gold, 1991; Parfitt, 1993).

### **2.2.3.3. Kemik Biyopsisi**

Son derece spesifik ve sensitif bir yöntemdir. İnvaziv olması nedeni ile az kullanılır.

### **2.2.4. Osteoporozda Tedavi Yaklaşımları**

Osteoporozun tedavisinde amaç, morbitite ve mortaliteye neden olan kırıkların önlenmesi, azaltılmasıdır. Osteoporoz oluşmadan önlemler alınır veya hastalık başlar başlamaz tedavi edilirse ilerlemiş hastalığın tedavisinden daha kolay ve başarılı olacağı açıktır. Osteoporoz tedavisindeki yöntem ve kullanılan ilaçları birkaç ana başlık altında toplamak mümkündür.

#### **Kemik Yıkımını İnhibe Edenler:**

- Kalsiyum (Ca) ve D vitamini,
- Hormon Replasman Tedavileri ( HRT),
- Selektif Östrojen Rreseptör Modulatorleri (SERM),
- Bifosfanatlar,
- Kalsitoninler.

#### **Kemik Yapımını Uyarımlar**

- Paratiroid Hormon (PTH)
- Floridler

## **Farklı Etki Gösterenler**

Strontium Renalete (SR)

İpriflavonlar

Anabolizanlar (Kutsal 2005)

## **2.3. Osteoporoz ve Genetik**

Osteoporoz, hormonal ve çevresel, faktörlerinin etkisi altındaki genetik faktörlerin kontrol ettiği multifaktöriyel, poligenik bir hastalıktır (Gennari ve ark., 2002; Rizzoli ve ark., 2001; Ralston, 2002). KMY üzerine pek çok çevresel faktörün etkili olmasına rağmen kemik kütlesi bakımından bireyler arasında görülen farklılıkların % 50-80'i genetik kökenlidir (Gennari ve ark., 2002; Ferrari ve Rizzoli, 2005; Bulca, 2010).

Osteoporozun genetik bir hastalık olduğuna ilişkin pek çok yayın mevcuttur. Genetik epidemiyolojik çalışmalar maternal kırık aile hikâyesi olan kadınlarda kırık riskinin arttığını göstermektedir (Deviren, 2003).

Osteoporozun patogenezinde birçok çevresel risk faktörleri vardır. Kemik dayanıklılığında kalıtım tarafından yansıtılan birçok bileşen olsa da genetik risk faktörleri önemli bir rol oynamaktadır. Osteoporozu neden olan az sayıda sitogenetik (Bertelloni ve ark., 2000; Horowitz ve ark., 1992) tek gen (Prockop ve ark., 1993; Lubec ve ark., 1996; Goto, 1997; Smith ve ark., 199; Carani ve ark., 1997; Gong ve ark., 2001) hastalığı olsa da kalıtımın tek gen kalıbına uymaz. Osteoporoz polimorfik allel etkileşimden kaynaklanan, poligenik kalıtmı bir hastalık olarak kabul edilir (Peacock, 2002).

Son 30 yıl sağlıklı ikizler üzerinde çalışmalar (Pocock at al., 1987; Slemenda at al., 1991; Smith at al., 1973; Moller at al., 1978; Dequeker at al., 1987) genetiğin kemik kütlesine büyük bir katkısı olduğunu göstermektedir (Peacock, 2002).

Sağlıklı ebeveyn-çocuk çifti ile (Sowers ve ark.,1986; Lutz, 1986; Tylavsky ve ark., 1989; Lutz ve Tesar, 1990; Sowers ve ark., 1992; Gueguen ve ark., 1995) sağlıklı kardeş çiftleri (Koller at al., 2000) ve ebeveynleri osteoporoz olan ebeveyn-çocuk çifti (Seeman ve ark., 1989; Seeman ve ark., 1994; Danielson ve ark., 1999) ile yapılan çok sayıda aile çalışmaları kemik kütesini belirleyen genlerin önemli rolünü doğrulamıştır. Ayrıca, kemik kütesinin kalıtılabilirliği iskelet boyutu ve kütesinde büyük değişiklikler olsa da çocukluk çağında tespit edilebilir (Smith ve ark., 1973; Dequeker ve ark., 1987; Lonzer ve ark., 1996; Ferrari ve ark., 1998; Peacock, 2002).

Son on yılda aday genlerle ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Peacock, 2002). Matriksin major proteinlerinden olan  $\alpha_2$ HS-glikoprotein KMY ile ilişkisi gösterilen ilk aday gendir. KMY ve aday genlerle ilişkili yapılan çalışmalar Tablo 2.4'de gösterilmiştir (Eichner ve ark., 1990, Dickson ve ark., 1994; Peacock, 2002).

Kırık riskinin majör belirleyicilerinden olan KMY'de kişiler arası farklılığın % 75-80'i genetik etki altındadır (Jouanny, 1995). Kemik kütesini etkileyen genler henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Morrison, 1996; Kim, 2001).

Slemenda ve arkadaşları ile Gueguen ve arkadaşları osteoporozun önemli risk faktörü olan KMY'nin 0,5 ve 0,9 oranlarında güçlü genetik kontrol altında olduğunu gösterdiler (Slemenda ve ark., 1991; Gueguen ve ark., 1995; Helen, 2005).

Dual-foton absorptiometrinin kullanılması ile Seeman ve arkadaşları (1989) osteoporotik kompresyon kırıkları olan postmenapozal kadınların premenapozal kız çocuklarında lumbar vertebrada ve femur boynunda azalmış kemik kütesi olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular kemik kütesinin düşük zirvesi olarak ifade edilen postmenapozal osteoporozis gelişmesinde genetik faktörlerin rolü olduğunu düşündürmektedir (Seeman, ve ark., 1989). Pocock ve arkadaşları 1987 de bir ikiz çalışması ile kemik kütesinin lumbar vertebrada yaklaşık % 90 ve femur boynunda % 70 kalıtılabilirliğini göstermişlerdir (Pocock ve ark., 1987).

Armamento-Villareal ve arkadaşlarının 1992'deki 19-40 yaşlarındaki 63 premenapozal kadın üzerinde yaptıkları vertebral kemik dansitesi çalışmasında normal kemik dansiteli ile karşılaştırıldığında düşük vertebral kemik dansitesine sahip olanların içinde osteoporoz aile öyküsü bulunanların çok olduğunu bulmuşlardır (Armamento-Villareal ve ark., 1992). Bu bulgular menapoz öncesi büyük ihtimalle genetik yatkınlığın çevresel faktörlerden daha çok kemik kütlesinin major belirleyicilerinden olduğu sonucunu ortaya çıkarır (OMİM, 2010a).

**Tablo 2.4.** KMY ve aday genlerle ilişkili yapılan çalışmalar (Peacock, 2002).

Aday Gen	Protein	Kromozom	Referanslar
AHSG	$\alpha$ 2HS-glikoprotein	3q27	Eichner ve ark., 1990; Dickson ve ark., 1994
VDR	VDR	12q12-q14	Hustmyer ve ark., 1994*; Morrison ve ark., 1997; Peacock ve ark., 1995*; Morrison ve ark., 1994
ESR1	ER 1 ( $\alpha$ )	6q25.1	Bagger ve ark., 2000; Kobayashi ve ark., 1996; Han ve ark., 1997*; Sano ve ark., 1995*
ESR2	ER 2 ( $\beta$ )	14q23	Ogawa ve ark., 2000
COL1A1	Kollagen, tip 1, $\alpha$ 1	17q21.3-q22.1	Grant ve ark., 1996; Garnero ve ark., 1998; Willing ve ark., 1997*; Hustmyer ve ark.,
COL1A2	Kollagen, tip 1, $\beta$ 2	7q22.1	Willing ve ark., 1997*
IL6	IL-6	7p21	Ota ve ark., 1999; Murray ve ark., 1997; Takacs ve ark., 2000*
TGFB1	TGF $\beta$	19q13.2	Yamada ve ark., 1998; Langdahl ve ark., 1997;
CTR	Kalsitonin reseptör	7q21.3	Masi ve ark., 1998; Braga ve ark., 2000
IGFI	IGF-1	12q22-q23	Takacs ve ark., 1999; Miyao ve ark., 1998*; Rosen ve ark., 1998*
BGLAP	Bone $\gamma$ -carboxyglutamide protein (osteocalcin)	1q25-q31	Raymond ve ark., 1999; Dohi ve ark., 1998
MTHFR	Metiltetrahydrofolate redüktaz	1p36.3	Miyao ve ark., 2000
IL1RN	IL-1 $\beta$ reseptör antagonist	2q14.2	Keen ve ark., 1998; Takacs et l., 2000; Langdahl ve ark., 2000*
TNFRGF5	TNF receptor superfamily/ 1 $\beta$	1p36.3-p36.2	Spotila ve ark., 2000
CASR	Calcium-sensing receptor	3q21-q24	Tsukamoto ve ark., 2000
CYP19	Aromataz (cytochrome P450)	15q21.1	Masi ve ark., 2001
P57, KIP2	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1c	11p15.5	Urano ve ark., 2000
HLA DRB1	Major histocompatibility complex, class II, DR $\beta$ 1	6p21.3	Tsuji ve ark., 1998
APOE	Apolipoprotein E	19q13.2	Shiraki ve ark., 1997; Salamone ve ark., 2000*; Heikkinen, 2000*

\* Bağlantısı Bulunmayanlar

Giguere ve Rousseau 2000 yılındaki osteoporozun genetiği derlemelerinde, ikiz çalışmalarının genetik faktörlerin kemik mineral dansitesine % 80 e kadar etkili olabileceklerini belirtmişlerdir. Her bir aday genin etkili olabileceği beklentisinin hesaba katılmasını, birçok allel ilişki çalışmaları arasındaki farklılığın değişik populasyonların farklı genetik alt yapılarından ve farklı çevresel faktörlere maruz kalmalarından kaynaklanabileceğine işaret etmişlerdir. Osteoporoz için populasyon spesifik risk profillerinin gelişmesi birbirleri ile etkileşimleri kadar genetik çevresel faktörleri de içerdiğini öngörmüşlerdir (Giguere ve Rousseau, 2000).

Osteoporozla yatkınlığın genetik kontrollerinin aydınlatılması için Ralston 2002 yılındaki derlemesinde kemik mineral dansitesi, kemiğin ultrason özellikleri, iskelet geometrisi, kemik turnover ve osteoporotik kırıkların patogenesinin birçok genin ve çevresel etkilerini birlikte belirlediğine dikkati çekmiş, fakat bazen osteoporoz veya nadiren yüksek kemik kütlelerinin tek bir gen mutasyonu sonucu ortaya çıktığını belirtmiştir (Ralston, 2002).

### **2.3.1. Kollajen1 $\alpha$ 1 Geni (COL1A1)**

Minimum 17 gen tarafından kodlanan zincirlerden oluşan kollajen protein ailesi 9 tip kollajenden oluşur (Ninomiya ve Olsen, 1984; OMİM, 2010b). Kollajen 3 katlı ip benzeri sarmal bir yapıya sahiptir. Deri, tendon ve kemiklerin major kollajeni olan, 2 alfa1 ve 1 alfa2 polipeptid zinciri içeren, aynı proteindir (Lazarides ve Lukens, 1971). Bu üç dokudaki kollajenin farkı, prolin ve lisin residülerinin hidrosilasyon, aldehit formasyonu için çapraz bağlanmaların ve glikozilasyonun derecelerinin fonksiyonu bir şekilde oluşur (Boedtker ve ark., 1983).

COL1A1 ve COL1A2 iskeletin başlıca yapısal proteinleridir. COL1A1 ve COL1A2'deki mutasyonlar dominant tek gen hastalığı olan osteogenesis imperfektaya sebep olur (Prockop ve ark., 1993) .

COL1A1 geninin sağlıklı kişilerde kodlama bölgesi dışında Sp1 bağlanma bölgesindeki polimorfizmin kemik kırılabilirliği ile ilişkisi rapor edilmiştir (Grant, 1996; Garnero, 1998).

McGuigan ve arkadaşları COL1A1 geninin Sp1 bölgesinin osteoporotik kırıklar üzerine etkilerinin daha önceki çalışmalarda bildirilmesine rağmen bunun direkt mi yoksa yakınındaki polimorfizmlerle bağlantı dengesizliğinin sonucu mu olduğunu açıklamak için COL1A1 geninin dört polimorfizmini (Sp1, Msp1, RsaI ve MnlI) çalışmışlar. Sp1 ve RsaI polimorfizmlerini içeren haplotiplerin kırıklarla ilişkili olduğunu Msp1, MnlI polimorfizmlerini içeren haplotiplerin kırıklarla ilişkili olmadığını bulmuşlardır. Lojistik regresyon analizinde ise Sp1 polimorfizminin daha güçlü olarak osteoporotik kırıkları etkilediğini bulmuşlardır (McGuigan ve ark., 2000).

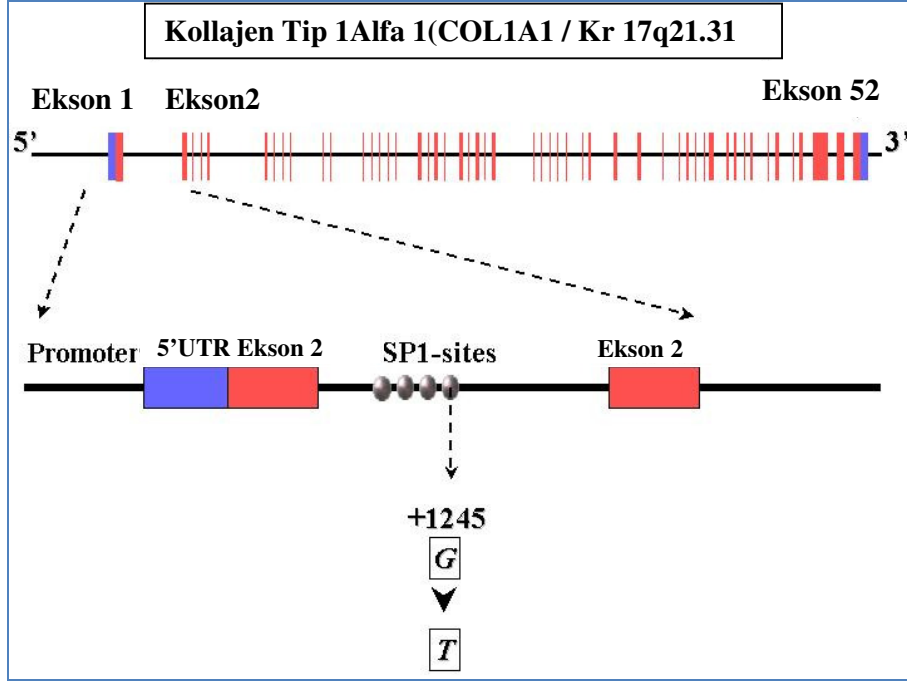
### **COL1A1 haritalama çalışmaları**

Hind III restriksiyon bölge polimorfizmi alfa 1 (I) geninde Driesel ve arkadaşları (1982) tarafından tanımlanmış, muhtemelen yanlışlıkla geni kromozom 7 üzerinde olduğu belirtilmiştir. In situ hibridizasyon ile Retief ve ark. (1985) alfa1 (I) ve alpha 2 (I) genlerinin sırasıyla 17q21.31-q22.05 ve 7q21.3-q22.1 bantlarında yer aldıkları sonucuna varmışlardır (OMİM, 2010b).

Sundar Raj ve ark. (1977) kollajen 1 genini kromozom 17'de tesbit etmek üzere hücre hibridizasyon ve mikro hücre (mikrocell) hibridizasyon yöntemlerini kullanmıştır (Sundar Raj ve ark., 1977). Huerre ve arkadaşları (1982)'de cDNA probu kullanarak yaptıkları hibridizasyon çalışmaları bu genin 17. kromozomun uzun kolunun orta üçte birlik kısmında, muhtemelen 17q21 veya 17q22'de yer aldığını göstermiştir (Huerre ve ark., 1982).

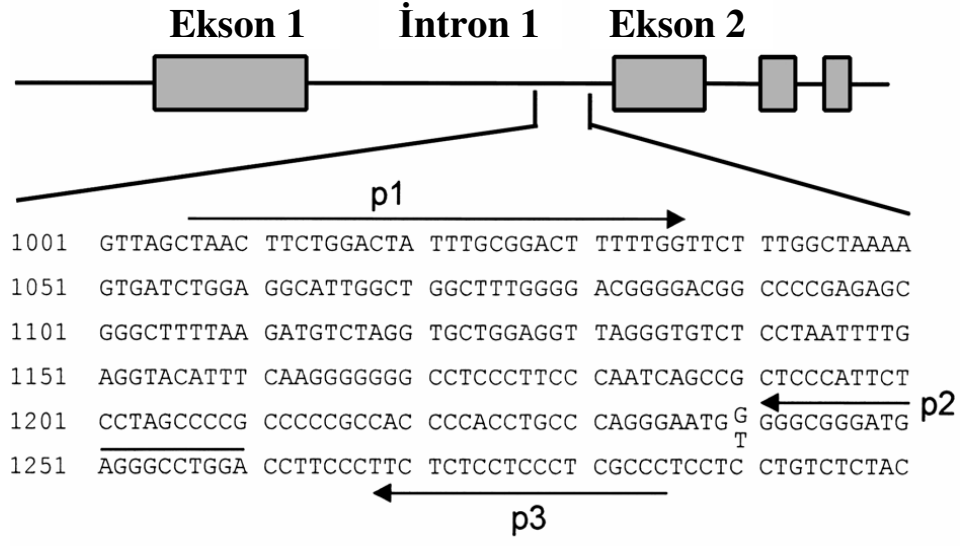
Col1a1 geni 17. kromozom üzerinde 17q21.31-q22'de lokalize bulunmaktadır. COL1A1 geni yaklaşık 18kb (17.544 baz) büyüklüğünde ve 52 ekzondan oluşmaktadır. Bu ekzonların çoğunluğu 45bp, 54bp veya 45 ile 54 ün katları olan baz

çifti uzunluğundadır (GENOMOS, 2010). Bizim çalıştığımız Sp1 polimorfizm bölgesi intron 1 deki Sp1 in dördüncü bağlanma bölgesi Şekil 2.5 te gösterilmiştir.



**Şekil 2.5.** COL1A1 geni 17. Kromozom üzerinde 17q21.31-q22'de lokalize bulunmaktadır (GENOMOS, 2010).

İnsan COL1A1 geni birinci intronunda Sp1 bölgesi polimorfizmini incelemek için tasarlanan primerlerin pozisyonları şekil 2.6'da gösterilmiştir (Val Mann ve ark., 2001).



**Şekil 2.6.** İnsan COL1A1 geni birinci intronundaki polimorfizmini incelemek için tasarlanan primerlerin pozisyonları (Val Mann ve ark., 2001).

### 2.3.2. Östrojen Reseptör 1 Geni (ESR1)

Östrogen adolesan kızlarda epifizlerin kapanmasından (MacGillivray ve ark., 1998) ve kadınlarda kemik kütlelerinin devamından sorumludur (Lindsay,1998). Erkeklerdeki ER mutasyonları iskelet gelişiminin uzamasına ve osteoporozu neden olur (Smith,1994). Büyük sib pair çalışmalarında ESR1 ve ESR2 nin bağlantısı kanıtlanamamıştır (Koller, 2000; Peacock 2002).

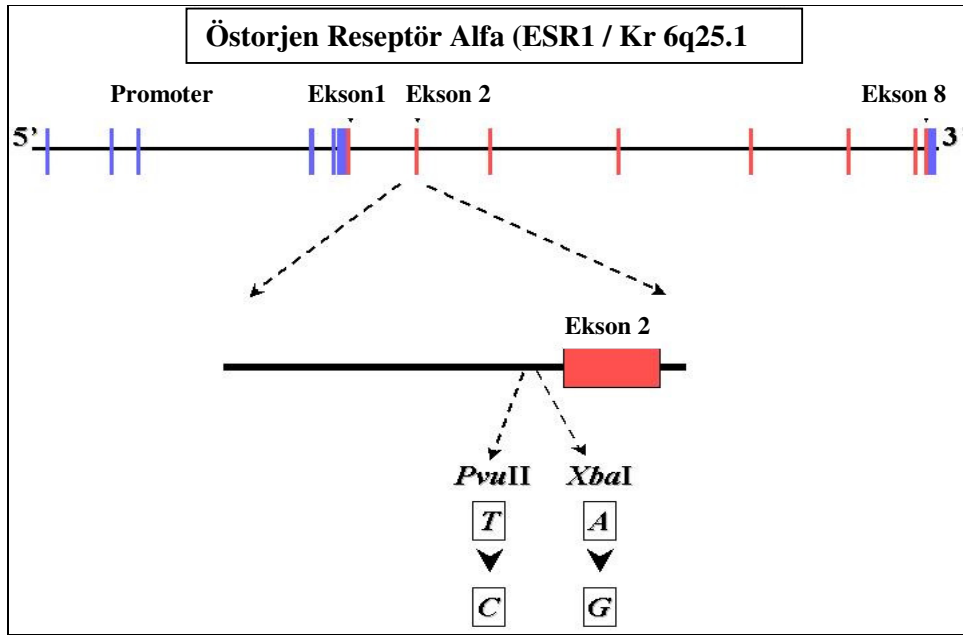
ESR1 geni 6. Kromozom üzerinde q kolunun 25.1 bölgesinde yer almaktadır. ESR1 geni 450 kilobaz büyüklüğünde ve sekiz kodlayıcı ekson ve dokuz kodlamayan (non-coding) 5'UTR ekson dan (A, B, C, D, E1, E2, F, T1 ve T2,) oluşur. Estrojen reseptör proteini 597 amino asit büyüklüğündedir. Östrojen reseptörü bir nükleer hormon reseptörüdür. Östrojen reseptör izoformları osteoblastlar, osteoklastlar ve kemik iliği stromal hücrelerinde ekspresse olurlar (GENOMOS, 2010).



ESR $\alpha$  genindeki polimorfizmler ve çeşitli klinik fenotipler arasındaki ilişkileri araştıran çalışmalarda PvuII, XbaI ve kontrol bölgesindeki TA (timin-adenin) tekrar polimorfizmleri üzerine yoğunlaşmıştır (Pollak ve ark., 2004).

Biz östrojen reseptör geninin iki polimorfizmini çalıştık.

- a) XbaI (IVS2-351A>G)
- b) PvuII (IVS2-397T>C)



Şekil 2.7. ESR1 geni 6. Kromozom üzerinde q kolunun 25.1 bölgesinde yer almaktadır (GENOMOS, 2010).

Östrojenin postmenapozal kadınlardaki önemi göz önüne alınarak kemikteki ve osteoporoz etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. ESR $\alpha$  ve ESR $\beta$  genlerinin polimorfizmlerinin KMY ve kırık riski üzerine etkilerini araştırmışlardır (Kobayashi ve ark., 1996; Lau ve ark., 2002; Ogawa ve ark., 2000; Sano ve ark., 1995; Albagha ve ark., 2001; Qin ve ark., 2003; Khosla ve ark., 2004; Ioannidis ve ark.; 2002, 2004, Arko ve ark., 2002; Shearman ve ark., 2004; Helen ve ark., 2005).

Lorentzon ve arkadaşları (1999) ESR gen polimorfizmi ve östradiolün puberte ve sonrasındaki erkeklerde boy ve kemik yoğunluğu üzerine etkilerini araştırmışlardır. 90 Kafkas erkekte XbaI ve PvuII restriksiyon enzimleri kullanarak XX, Xx, xx, PP, Pp ve pp allel varyantlarını saptamışlar. Ergenlik gelişimi fiziksel aktivite ve vücut ağırlığı dahil olmak üzere çok değişkenli analizde XbaI genotipi bağımsız olarak, total vücut KMY, baş KMY ve omurga volumetrik KMY'yi etkilediğini ( $P < 0.05$ ); PvuII genotip bağımsız olarak omurga volumetrik KMY yi etkilediğini; PP allele sahip 20 erkeğin diğer 70 erkekten daha uzun boylu olduğunu bulmuşlardır. 2 yıllık takip sonunda da XbaI genotipi total vücut KMY, baş KMY ve omurga volumetrik KMY ile ilgili bulunmuştur. Yazarlar, ESRA polimorfizmlerinin geç ergenlik döneminde kemik yoğunluğu ve boyla ve genç erkeklerde zirve kemik yoğunluğuna ulaşmayla ilgili olduğuna karar vermişlerdir (Lorentzon ve ark., 1999; OMİM, 2010c).

Güçlü genetik komponenti olan KMY osteoporotik kırık riskinin major belirleyicisidir. ESR1 gen inaktivasyonunun düşük KMY ile ilişkili olduğunun bulunması ile ESR1'in osteoporoz için bir aday gen olduğunun göstergesidir (OMİM, 2010c). Becherini ve arkadaşları (2000), 610 postmenapozal kadında 3 ESR1 gen polimorfizmi genotipleme yapılmıştır (intron 1 RFLPs PvuII ve XbaI, ve ekson1 de (TA)<sub>n</sub> tekrarları). Her ne kadar intron1 RFLP'ler ve KMY arasında anlamlı ilişki saptanmasa da en düşük KMY değerleri gösteren düşük tekrar sayısı olan bireylerde (TA 15'den az ) (TA) n tekrar allelik varyant türevleri ile lumbar KMY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (Becherini ve ark., 2000).

Colin ve arkadaşları (2003), 55 ve daha yaşlı 634 kadında ESR1 ve VDR polimorfizmlerinin osteoporotik vertebral kırığa yatkınlık üzerine birlikte kombine etkileri hakkında bir çalışma yapmışlardır. BsmI, ApaI ve TaqI RFLP'nin oluşturduğu 3VDR haplotipi (1, 2 ve 3) ve PvuII ile XbaI'nin oluşturduğu 3 ESR1 haplotipi (1, 2 ve 3) tanımlanmıştır. ESR1 haplotip 1 ile vertebral kırık riski arasında riskli allelin her bir kopyası ile doza bağlı bir ilişki bildirilmiştir. VDR haplotip 1 vertebral kırıklı vakalarda daha fazla bulunmaktadır. Vertebral kırık riskini

belirlemede ESR1 haplotip 1 ile VDR haplotip 1 arasında anlamlı bir ilişki vardır. ESR1 haplotip 1 ile vertebral kırık arasında ilişki sadece VDR1 haplotip 1 homozigotlarda vardır. Yazarlar ESR1 ile VDR polimorfizmleri arasında kemik mineral yoğunluğundan bağımsız olarak kadınlarda osteoporotik vertebral kırıklara yol açan bir ilişki olduğu sonucuna varmışlardır (Colin ve ark., 2003).

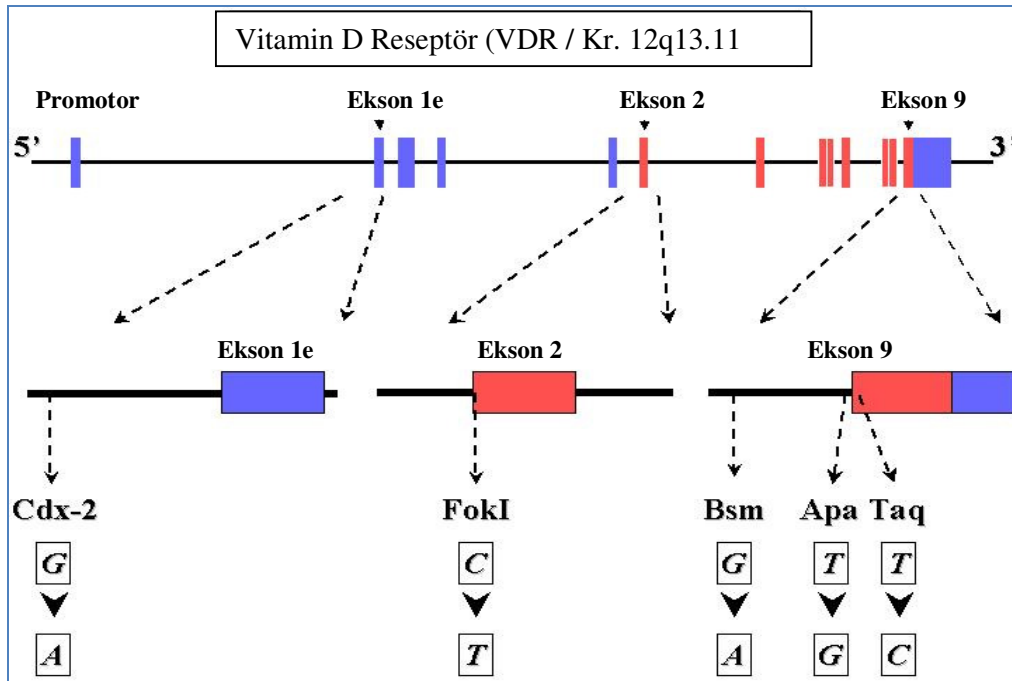
Van Meurs ve arkadaşları 2003 yılında Rotterdam'da yaptıkları bir çalışma ile 2042 kişide ESR1 varyasyonlarının çeşitli kemik parametreleri üzerine etkisini araştırmışlardır. ESR1 geni üzerinde promotor bölgede (TA)<sub>n</sub> tekrarları, intron 1'deki PvuII ve XbaI RFLP'lerinin moleküler haplotipleri olmak üzere 3 polimorfik bölge analiz etmişler. PvuII-XbaI haplotipleri ve (TA)<sub>n</sub> tekrarları arasında bağlantı analizi yapılmış ve ikisi arasında güçlü bir bağlantı dengesizlik ilişkisi görülmüştür. Kadınlarda 'px' haplotipi ve düşük (TA)<sub>n</sub> tekrarları ile düşük lumbar vertebral kemik yoğunluğu ve düşük femoral kemik yoğunluğu arasında allel doz etkisi ilişkisi görülmüştür. Ayrıca allel dozuna bağlı olarak 'px' haplotipi ile ve düşük sayıdaki (TA)<sub>n</sub> tekrarları ile vertebral kırık riskini artırdığına ait kanıtlar bulmuşlardır. ESR1 genotipine bağlı kırık riskinin büyük oranda KMY ve kemik alanından bağımsız olarak ortaya çıktığını söylemişlerdir ( Van Meurs ve ark., 2003).

Albagha ve arkadaşları (2005) 945 postmenapozal HRT almamış İskoç kadında femur boynu kemik kaybı çalışmışlar, ESR1 px haplotipin femur boynu kemik yoğunluğu düşüklüğü ve artmış femur boynu kemik kaybı ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Albagha ve ark., 2005).

Kemik mineral dansitesini etkileyecek sekans varyasyonları tüm genom boyunca araştırılırken Styrkarsdottir ve arkadaşları (2008) 6q25 bölgesi ile kemik mineral yoğunluğu arasında karmaşık bir ilişki buldular. Buldukları sonuca göre kemik mineral yoğunluğunu etkilemek için tek bir SNP değil en az 3 SNP gerekli idi. Bunların biri ESR1'in intronunda, diğer ikisi yakındaki C6ORF97 geninde idi (Styrkarsdottir ve ark., 2008).

### 2.3.3. Vitamin D Reseptör Geni (VDR)

Vitamin D Reseptör geni 12. kromozomun q kolu üzerinde yer almaktadır (12q12-q14). 14 ekson yaklaşık 75 kb büyüklüğündedir. 5' ucunda 1A'dan 1F'ye kadar kodlamayan (non koding) eksonlar yer alırken bunlardan başka 8 ekson tarafından gen ürünleri kodlanır. Ekson 1A'daki DNA dizisi GC den zengindir ve TATA kutusu ihtiva etmez. Vitamin D3 reseptörü kalsiyum fosfat hemostazisinde temel bir rol oynar ayrıca iskelet metabolizmasındaki rolü için osteoblastlarda eksprese olurlar. FokI RFLP, VDR geninin kodlayan bölgesinde yer alır ve reseptör aktivitesinde etkisi vardır. BsmI genin 3' ucunda yer alır (GENOMOS, 2010) (Şekil 2.3).



Şekil 2.8. Vitamin D Reseptör geni 12. kromozom q kolu üzerinde yer almaktadır (GENOMOS, 2010; OMİM, 2010d)

VDR büyük ölçüde 1,25-(OH)<sub>2</sub> D vitamininin kalsiyum transportu ve homeostazis dahil olmak üzere kemik rezorpsiyonundan sorumludur (Haussler, 1997). Genin mutasyonları D vitamini dirençli raşitizme neden olur (Hughes, 1998). İkizlerde yapılan başlangıçtaki VDR intronlarındaki çalışmalar polimorfizmlerin

kemik kütlesini etkilediğini göstermiştir (Morrison ve ark., 1994). Sonradan yapılan çalışmalar bağlantıyı desteklemiştir (Hustmyer, 1994, Peacock, 1995). Bundan sonra yapılan 50'den fazla çalışmanın hiç birinde ilişki olduğu gösterilememiştir (Peacock, 2002). Son zamanlarda değişik toplumlarda yapılan çalışmalarda (Cooper, 1996) farklı sonuçlara ulaşılmıştır, bu sonuçlar hala tartışmalıdır (Kim, 2001).

VDR polimorfizmlerinin kemik mineral yoğunluğunu belirlemedeki etkileri hakkındaki çalışmalar çelişkilidir. Vitamin D'nin aktif formu kalsitrol, kemikteki kollajen dışı proteinlerin en fazla olanı osteokalsinin sentezini sağlar (OMİM, 2010d).

En son olarak VDR geninin translasyon başlama (initiation) bölgesinde yeni bir FokI polimorfizmi tanımlanmıştır (Saijo ve ark., 1991). FokI polimorfizmi VDR proteininin değişik bir izoformunun üretilmesini sağlamaktadır (Arai ve ark., 1997), dolayısıyla daha önceki 3' ucundaki polimorfizmlerden daha önemlidir. VDR başlangıç (start) kodon polimorfizminin postmenapozal Meksikalı Amerikalılarda (Gross ve ark., 1996), postmenapozal İtalyanlarda (Gennari ve ark., 1999) KMY ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak son çalışmalarda Afrikalı kadınlarda (Zmuda ve ark., 1999), postmenapozal Fransızlarda (Lucotte ve ark., 1999) FokI ile KMY arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (Kim ve ark., 2001).

İkiz çalışmaları serum osteokalsin seviyesi farklılıklarının genetik bir temeli olduğunu (Kelly ve ark., 1991), bununda kemik yoğunluğu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Pocock ve ark., 1987). Morrison ve arkadaşları (1992) VDR polimorfizmlerinin serum osteokalsin seviyesini etkilediğini göstermişlerdir. (Morrison ve ark., 1992)

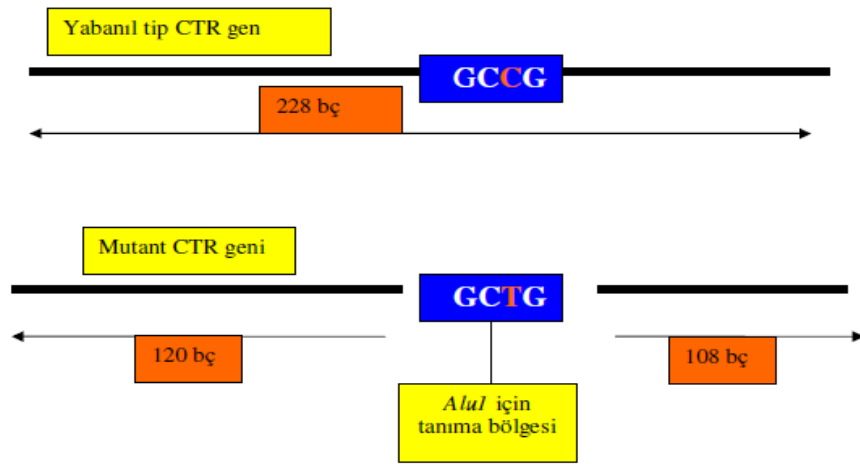
Morison ve arkadaşları (1997) VDR BB genotipinin düşük kemik mineral yoğunluğu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Morrison ve ark., 1997). Ancak Hustmyer ve arkadaşları (1994) yaptıkları ikiz çalışmalarında kemik mineral yoğunluğu ile VDR polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (Hustmyer ve ark., 1994).

Lim ve arkadaşları (1995) Kore’de osteoporozlu hastaların BB genotipine sahip olmadıklarını bulmuşlardır (Lim, ve ark., 1995). Houston ve arkadaşları (1996) Morison ve arkadaşlarının (1994) bulduklarının tersine BB genotiplilerin bb genotiplilerden daha yüksek femoral kemik mineral yoğunluğuna sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Diğer taraftan vertebral kompresyon kırığı olan ciddi osteoporozlu hastalarda VDR ile ilişkisi bulunamamıştır (Houston ve ark., 1996).

#### 2.3.4. Kalsitonin Reseptör Geni (CTR)

Otuz iki aminoasitlik bir peptid hormonu olan kalsitonin osteoklastların yüzeyinde yerleşen kalsitonin reseptörlerini (CTR) uyarmakla, kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (Copp ve ark., 1962; Copp, 1992). Bu etki osteoklastların yüzeyinde yer alan bir 7-transmembran reseptör olan CTR’nin aktivasyonunun bir sonucudur. CTR aktivasyonu adenilsiklazı uyarır ve osteoklastik kemik rezorpsiyonunda bir düşüşe yol açar (Reynolds, 1968; Kallio ve ark., 1972; Feldman ve ark., 1980; Chambers ve Moore, 1983; Chambers ve Dunn, 1983; Öztürk, 2008).

Perez Jurado ve arkadaşları (1995) CTR genini somatik hücrelerde PCR analizi ve FISH (Flouresans In Situ Hybridization) kullanarak 7q21.3 te haritalamıştır.



Şekil 2.9. CTR geni ve Alu1 için tanıma bölgesi (Öztürk, 2008)

Nakamura ve arkadaşları (1997); AluI restriksiyon enzimini kullanarak CTR geninin bir polimorfizmini tanımlamışlardır. Pozisyon 463'teki CCG kodonu CTG kodonuna dönmesi ile prolin amino asiti, leusine dönmüştür (Nakamura ve ark. 1997). CTR geni Şekil 2.9'da gösterilmiştir. Masi ve arkadaşları (1998); TT genotipinin CC genotinden anlamlı derecede düşük lomber kemik yoğunluğuna sahip olduklarını bulmuşlardır (Masi ve ark., 1998).

Taboulet ve arkadaşları (1998); CTR geni polimorfizmi ile osteoporotik kırığı olan ve olmayan kadınları karşılaştırmış heterozigotlarda femoral KMY'nin diğer iki homozigottan da anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca heterozigotlarda kırık riski de düşük bulunmuştur. Sonuç olarak heterozigozitenin osteoporoza karşı koruyucu olduğunu söylemişlerdir. Diğer taraftan Japonya'da Nakamura ve arkadaşları (1997); homozigotları % 70 bulurken, Taboulet ve arkadaşları (1998) % 6,5 bulmuşlardır (Taboulet ve ark., 1998; Nakamura ve ark., 1997; OMİM, 2010e).

### 2.3.5. Diğer Genler

**İnterleukin-6 (IL6) Geni:** Ota ve arkadaşlarının (1999) çalışmaları; bu loküsündeki varyasyonların niceliksel özellik olarak ölçülen kemik mineral yoğunluğunun azalması ile bağlantılı olduğunu ( $P = 0,02$ ) göstermiştir (Ota ve ark., 1999). Ota ve arkadaşları (2001); IL6 varyasyonlarının osteoporozla ilişkisine dair daha fazla kanıt sunmuşlardır. 634'üncü pozisyonadaki GG, GC ve CC genotip polimorfizmlerinden KMY değeri GG homozigotlarda en düşük; CC homozigotlarda en yüksek ve heterozigotlarda ikisinin arasındadır (Ota ve ark., 1999).

Premenapozal kadınlarda Chung ve arkadaşları (2003) IL6'nın promotor bölgesinde yüksek KMY ile gen doz bağımlı pozitif ilişki gösteren bir varyasyon tanımlamıştır (Chung ve ark., 2003).

**RIL Geni:** Omasu ve arkadaşları (2003) RIL gen varyasyonları ile osteoporoz arasında bir ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir (Omasu ve ark., 2003; OMİM, 2010a).

**ITGB3 Geni:** Tofteng ve arkadaşları (2007) ITGB3 geninin L33P polimorfizmini incelemişler, L33P polimorfizmi homozigot taşıyıcılarının kalça kırığı ve osteoporozda daha yatkın olduğunu bulmuşlardır (Tofteng ve ark., 2007; OMİM, 2010a).

#### **2.4. Yöntem (Chip Array Yöntemi)**

DNA üzerindeki genlerle yapılacak Moleküler Genetik çalışmalar genomik DNA'nın elde edilmesi ile başlar. Genomik DNA'daki dizisi bilinen bir bölgenin PCR yöntemiyle *in vitro* olarak çoğaltılması işlemi PCR veya amplifikasyon olarak tanımlanır. PCR'da amplifiye edilen ürünlerin tanımlanması yeni teknoloji platformu, ArrayTüp (AT) ile gerçekleştirilmiştir.

Clinical Arrays® MetaBone ile kollajen tip1, vitamin D reseptör, östrojen reseptör ve kalsitonin reseptör genleri taranmaktadır. Bu genler nokta mutasyonları ya da spesifik gen pozisyonları SNPs (single nucleotide polymorphisms, Tek nükleotid polimorfizmleri) şeklinde bulunabilir. Clinical Arrays® MetaBone metabolik kemik hastalıkları ile ilişkili bu bir seri polimorfizmleri eşzamanlı olarak taramaktadır.

Birçok olguda, klinik tanıya varmak ve kesin tedavi desteği için bu tip genler hakkında bilgiler çok önemli rol oynamaktadır. Böylece tedavide hastaya kişisel tedavi seçeneği sunulabilir. Bu yakın zamanda tanımlanan "kişiyeye özgü tedavi" yoludur ve modern tıpta yeni bir basamaktır.

Aşağıda belirtilen kemik yoğunluğunu etkileyen klinik tablolarda, bu analizler sayesinde elde edilen bilgiler klinisyene yol gösterici olabilir;

- ailesinde osteoporoz öyküsü bulunan hastalar,
- erken yaşlarda çoklu kırığı olan hastalar,
- hormonal problemleri olan hastalar,
- uzun zamanlı steroid ve antikonvulsif alımı,
- kemik metabolizması hastalıklarının transplantasyon öncesi değerlendirilmesi,
- transplantasyon sonrası kemiğin korunması.



Her hastanın 6 gen bölgesi için hedeflenen SNP'leri için Clinical Array Metabone kit paneli kullanılarak elde edilen sonuçlar Tablo 2.5'de tanımlanmıştır.

**Tablo 2.5.** Her bireyin 6 gen bölgesi için aşağıdaki sonuçlardan biri elde edilmiştir.  
(Genomica Clinical Array Metabone, 2006)

GEN	SNP	Normal Varyant (Homozigot)	Polimorfik Varyant (Homozigot)	İki Varyant (Heterozigot)
<b>Collajen TipI</b>	COL1A1-SpI	SS	ss	Ss
<b>Vitamin D Reseptor</b>	VDRF-FokI	FF	ff	Ff
<b>Vitamin D Reseptor</b>	VDRB- BsmI	BB	bb	Bb
<b>Calsitonin Reseptor</b>	CTR-AluI	AA	aa	Aa
<b>Estrojen Reseptor</b>	ESR1X -XbaI	XX	xx	Xx
<b>Estrojen Reseptor</b>	ESR1P- PvuII	PP	pp	Pp

Bu kit insan genomunda spesifik fragmentlerin amplifikasyonu ve ardından polimorfizme-spesifik proplarla yakalanarak hibridizasyon yolu ile görüntüleme esasına dayanan in vitro tanı sistemidir. Kullanıcılara aşağıda belirtilen bir seri avantaj sağlamaktadır:

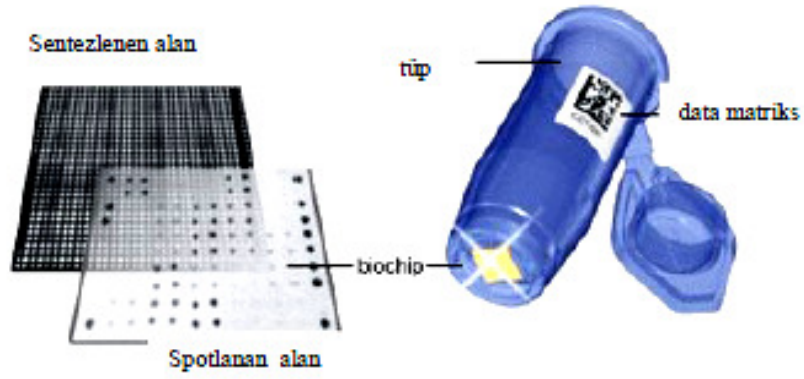
- Yüksek Hassasiyet: Çok az miktardaki insan genomik materyali ile tanımlama imkânı sağlar.
- Yüksek Özgüllük: Spesifik bir genom bölgesine karşılık gelen sekansların kullanması ve her bir gene spesifik proplar ile yakalanması.
- Hastane laboratuvarlarında standardizasyonunun kolay olması.
- Hız: 10 saat içerisinde analizin sonuçlanması

Clinical Arrays® MetaBone kiti kullanılarak, tam kan örneklerinden kemik metabolizmalarında SNP'lere bağlı major ya da minör risklerin varlığı tanımlanabilir. Bu kit ile sağlanan bilgiler ışığında hastanın kemik metabolizması patolojilerine yatkınlığının belirlenmesine olanak sağlar. Tanı 150-250 bp

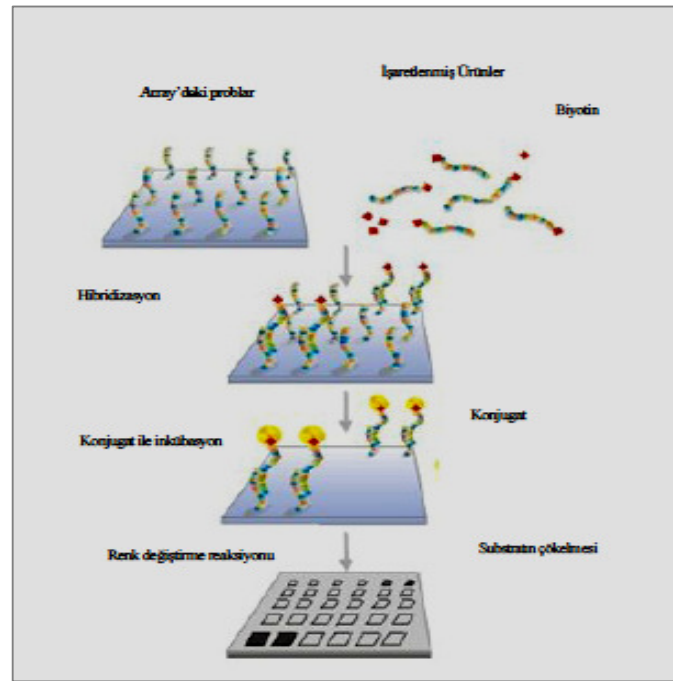
uzunluğunda 6 hedef SNP barındıran 5 genom bölgesinin eşzamanlı amplifikasyonu ile yapılır.

AT platformu klasik 2 ml tüpün tabanında düşük dansiteli mikroarray işleminin kolay ve etkin bir şekilde gerçekleştirilmesi esasına dayanan bir teknolojidir (Şekil 2.9). Mikroarray teknolojisi çoklu diagnostik moleküler markırların eş zamanlı taramasına imkân sağlar. Bu kitede iki muhtemel varyant ya da ortak gen bölgeleri her SNP (Single Nükleotide Polimorphism) ile ilgili en az üç proplarla taranmaktadır. Bununla birlikte ArrayTüp klasik mikroarray sistemleri ile karşılaştırıldığında işlemleri hatırı sayılır bir şekilde basitleştirmiştir, böylece hızlı, etkin ve kullanımı kolay sonuçlar elde edilmiştir. Amplifiye olan SNP, PCR ürünlerinin hibridizasyonu amplifiye ürünlerin proplar ile yakalandığı mikroarray alanında çözülmez çökeltilerin oluşması ile görüntülenir. Bu işlem PCR sırasında ürünlerin biotin ile işaretlenmesi ile başılır. Biotinlenen ürünler mikroarray alanında bağlanmış spesifik proplar ile hibridize edilir ve array alanında immobilize olur. Bu immobilize biotinlenmiş ürünler streptavidin-peroksidaz konjugatının streptavidin parçası tarafından tanınır. Sonrasında peroksidaz aktivitesi ile 3, 3', 5, 5'- tetrametilbenzidin (TMB) metabolize edilecektir ve hibridizasyonun olduğu alanlarda çöken ürünler oluşacaktır (Şekil 2.10).

Böylece çiftli amplifikasyon (Nested PCR) uygulanmasına gerek yoktur, dolayısıyla kontaminasyon riskinden kaçınılmış olur. Yalancı negatiflik genomik amplifikasyon sonrası görüntüleme yetersiz DNA kalitesinden dolayı (yetersiz örnekleme, düzgün olmayan saklama koşullarına bağlı DNA degradasyonu ya da ekstraksiyon sırasındaki DNA kayıpları) ya da örnekte DNA polimeraz inhibitörlerin (hemoglobin) varlığına bağlı oluşmaktadır. Clinical Arrays® MetaBone kiti; bu tip yalancı negatiflikleri 5 farklı amplifikasyon bölgesine ait spesifik propların kullanılması ile elimine eder. Böylece kesin bölgelere ait propların varlığı amplifikasyon reaksiyonunun ve örnek kalitesinin kontrolünü sağlamış olur.



**Şekil 2.10.** AT platform diagramı. Mikroarray alanının büyüklüğü 3x3 mm'dir. Spotlanan alan 120 probun yerleşmesine imkân sağlar (Genomica Clinical Array Metabone, 2006).



**Şekil 2.11.** Görüntüleme metodu. Biotinli amplifikasyon ürünleri mikroarray alanındaki spesifik immobilize problemler ile yakalanır. Amplifikasyon kompleksindeki biotin ile sonradan eklenen konjugat (Streptavidin HorseRadish Peroxidase) reaksiyona girerek bağlanır. Son olarak hibridizasyon alanındaki çözünmez çökeltili peroksidaz aktivitesiyle TMB'yi metabolize eder (Genomica Clinical Array Metabone, 2006).

### 2.4.1. Sonuçları Okuma

Her analizde elde edilen verinin değerlendirilmesi tamamen otomatiktir. Cihazın okuma ve analiz etme özelliği sayesinde sonuçlar bir rapor haline getirilmektedir. Sistem monitöründe Tablo 2.6’da görüldüğü gibi 3 sütunlu bir tablo görülür; soldaki sütun analiz edilen genler, orta sütunda her spesifik genin genotip sonucu, sağ sütunda da DNA ve amplifikasyon kontrolleri ile belirlenen geçerlilik sonucu gösterilmektedir.

**Tablo 2.6.** Örneğin yeterli olduğu durumlar için cihazın sonuç raporu

Gen / SNP	Sonuçlar	Kontroller
Vitamin D Receptor VDRB-BSMI	BB/bb/Bb	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)
Estrogen receptor ESR1P-PVUII	PP/pp/Pp	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)
Vitamin D receptorVDRF-FOKI	FF/ff/Ff	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)
Calcitonin receptor CTR-ALUI	AA/aa/Aa	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)
Estrogen receptorESR1X-XBAI	XX/xx/Xx	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)
Collagen Type ICOL1A1-SP1	SS/ss/Ss	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)

Örneğin yetersiz olduğu durumlarda cihazın verdiği sonuçlar Tablo 2.7 ve Tablo 2.8 de gösterilmiştir.

**Tablo 2.7.** Sayısal sonucun, tekniğin görüntüleme limitinde okunamaması

Gen / SNP	Sonuçlar	Kontroller
Vitamin D Receptor VDRB-BSMI	Inconclusive	Valid/Invalid (Geçerli/Geçersiz)

**Tablo 2.8.** Genomik DNA’nın amplifikasyonu bulunmamaktadır

Gen / SNP	Sonuçlar	Kontroller
Vitamin D Receptor VDRB-BSMI	Invalid	Invalid

#### **Bilinen olumsuzluk koşulları:**

Clinical Arrays® Metabone kitinin kullanımında belli başlı koşullar olumsuzluk yaratabilir. Bunlar çoğunlukla DNA polimerazı ve dolayısıyla amplifikasyon reaksiyonunu inhibe eden koşullardır. En sık rastlanan koşullar şu şekilde sıralanır:

- **Yetersiz örnek kullanılması:** Hatalı alınmış örneklerin yanı sıra kitin kullanım kılavuzunda belirtilenlerin dışında her hangi bir örnek yorumlanamayan analiz sonuçlarına neden olabilir (Örneğin klinik örneğe heparin eklenmesi durumunda).
- **Örneklerin iyi korunmaması analizlerin sonuçlarını etkiler:** Eğer örnekler DNAlarını degrade edebilecek koşullarda saklanırsa analiz sonucunu yetersiz örneklerin sonucuna benzer bir şekilde çıkacaktır.

#### 2.4.2. Teknik Özellikler

##### Analitik parametreler:

- **Analitik hassasiyet.** Clinical Arrays® MetaBone kitinin hassasiyeti DNA dilüsyon serileri içeren klinik örnekler ve ticari DNA (K562 hattı) kullanılarak belirlenmiştir. Amplifikasyonun gerçekleştirildiği DNA miktarları Tablo 2.9’da verilmiştir.

**Tablo 2.9.** Amplifikasyonun gerçekleştirildiği DNA miktarları

Örneğin içerdiği insan genomik DNA miktarı (ng)	İnsan hücrelerinin ekuvalan genom sayısı
200	12.539
20	1.254
2	125
0,2	12

Bu hassasiyet çalışmasında kullanılan tüm klinik örneklerin genotipi kitte bulunan her SNP’ye ilişkin olarak alternatif teknolojiler (sekanslama ve kesim enzimleri) yoluyla daha önce tanımlanmıştır.

200 ng (kullanılması önerilen miktar) DNA’nın görüntüleme testinin analitik hassasiyetinin 1276 genotipin analizi sonrasında yapılan hesaplama göre %97,4 olduğu gösterilmiştir. Çalışma, %86,5’lik hassasiyet ile 2 ng’a kadar DNA tespit etmiştir, bu da örnekte bulunan 125 ekuvalan genom molekülüne eşittir.

Özellikle, 200 ng DNA içeren örneklerde (kitte önerilen miktar) Clinical Arrays® MetaBone kitinin analitik hassasiyeti COL1A1-Sp1 genotipi için Tablo 2.10’da; VDRB-BsmI genotipi için Tablo 2.11’de; VDRF-FokI genotipi için Tablo 2.12’de;

ESR1X-XbaI genotipi için Tablo 2.13’de; ESR1P-PvuII genotipi için Tablo 2.14’ de; CTR-AluI genotipi için Tablo 2.15’de sunulduğu gibi bulunmuştur (burada “n” analiz edilen örnek sayısını gösterir).

**Tablo 2.10.** COL1A1-Sp1 genotipi için analitik hassasiyet

COL1A1-Sp1 genotip	% Hassasiyet (n)
SS	%94,5 (126)
Ss	%96,4 (56)
Ss	%93 (28)
Toplam	%95 (210)

**Tablo 2.11** VDRB-BsmI genotipi için analitik hassasiyet

VDRB-BsmI genotip	% Hassasiyet (n)
BB	%100 (70)
Bb	%94 (84)
bb	%98,3 (58)
Toplam	%97,2 (212)

**Tablo 2.12.** VDRF-FokI genotipi için analitik hassasiyet

VDRF-FokI genotip	% Hassasiyet (n)
FF	%100 (95)
Ff	%100 (57)
ff	%100 (62)
Toplam	%100 (214)

**Tablo 2.13.** ESR1X-XbaI genotipi için analitik hassasiyet

ESR1X-XbaI genotip	% Hassasiyet (n)
XX	%98.2 (56)
Xx	%96.3 (82)
xx	%97.2 (72)
Toplam	%97.1 (210)

**Tablo 2.14.** ESR1P-PvuII genotipi için analitik hassasiyet

ESR1P-PvuII genotip	% Hassasiyet (n)
PP	%100 (70)
Pp	%93 (71)
pp	%100 (71)
Toplam	%97,6 (212)

**Tablo 2.15.** CTR-AluI genotipi için analitik hassasiyet

CTR-AluI genotip	% Hassasiyet (n)
AA	%100 (54)
Aa	%97,1 (68)
aa	%100 (84)
Toplam	%99 (206)

**Analitik özgüllük:**

Çip üzerine nokta olarak yerleştirilmiş problemlerin özgüllüğü, bunların eşleniği olan biotin-işaretli problemlerin hibridizasyonu yoluyla test edilmiştir. Clinical Arrays® MetaBone kiti kullanıldığında ne genomik DNA'nın başka bir gen bölgesi saptanır, ne de testi oluşturan problemlerin arasında çapraz hibridizasyon görülür.

**Diagnostik hassasiyet:**

Belirlenen bir allelin varlığı, osteoporoz septomlarının görülmesi ve uygulanan tedavinin etkinliği ile ilişkili bulunmuştur. Diagnostik hassasiyet aşağıdaki çalışmalara dayanır:

**Vitamin D reseptörünün genetik profiline ilişkin sonuçların yorumlanması:  
VDRB-BsmI**

- a) Osteoporozlu 64 post-menapozal kadının bulunduğu bir çalışmada, 12 aylık Alendronate (10mg/gün) tedavisinden sonra, bb genotipine sahip olanlarda BB genotipine sahip olanlara göre lumbar kolonda daha fazla ( $p<0,004$ ) bir kemik yoğunluğu (KMY) artışı olduğu saptanmıştır. Bu, Alendronate tedavisinin bb genotipi taşıyıcılarında BB genotipi taşıyıcılarına göre daha yararlı olduğu demektir. (Palomba ve ark., 2003a)
- b) Osteoporozlu 75 postmenapozal kadının bulunduğu bir çalışmada, 12 aylık Raloxifen (60mg/gün) tedavisinden sonra, bb genotipine sahip olanlarda BB genotipine sahip olanlara göre lumbar kolonda daha fazla ( $p<0,0001$ ) bir kemik yoğunluğu (KMY) artışı olduğu saptanmıştır. Bu, Raloxifen tedavisinin bb genotipi taşıyıcılarında BB genotipi taşıyıcılarına göre daha yararlı olduğu demektir. (Palomba ve ark., 2003b)
- c) İkizlerin ve postmenapozal kadınların üzerinde yapılan bir çalışmada BB genotipi taşıyıcıları düşük lumbar KMY ile, Bb heterozigot taşıyıcıları orta düzey lumbar KMY ile, bb genotip taşıyıcıları ise yüksek düzey lumbar KMY ile

ilişkilendirilmiştir. Böylece, BB genotipi kemik erimesine genetik yatkınlık göstermektedir (Morrison ve ark., 1994).

- d) Bir çalışmada, günlük kalsiyum alımının 800-1700 mg'a çıkartıldığında bb genotip taşıyıcılarına KMY artışına hiçbir etki göstermezken, Bb ve BB genotip taşıyıcılarında bu artışın önemli derecede etkili olduğu görülmüştür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p<0,05$ ). Çalışmanın devamında, BB ve Bb taşıyıcılarında kalsiyum alımının arttırılmasıyla bb taşıyıcılarındaki KMY oranlarına eşitlendiği görüldü. Böylece, BB genotipi taşıyanlarda ince bağırsaklarda kalsiyum emilimi düşük düzeyde olduğu ve sonucunda osteoporoz riskinin açığa çıkabileceği düşünülmektedir (Ferrari ve ark., 1995).

#### **Vitamin D reseptörünün genetik profiline ilişkin sonuçların yorumlanması : VDRF-FokI**

Tedavi uygulanmayan 109 postmenapozal kadının 2 yıl boyunca izlenerek yapılan bir çalışmada, ff genotipi taşıyıcılarında femoral kemik yoğunluğu kaybı yüksek olduğu, bunun karşılığında Ff genotipi taşıyıcıları ve FF genotipi taşıyıcılarının yüksek kemik yoğunluğuna sahip olduğu gözlenmiştir ( $p=0,005$ ). Bu veriler f allelinin kemik yoğunluğu kaybı yatkınlığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Coleman ve ark., 1996).

#### **Collagen 1A1 geninde Sp1 polimorfizm genetik profil sonuçlarının yorumlanması:**

##### **COL1A1-Sp1**

Toplam 7.849 katılımcı ile yapılan çalışmaların sonuçlarının yayınlandığı 26 farklı makalede ss allel varlığı osteoporotik kemik kırıkları ile ilişkilendirilmiştir (Mann ve Ralston, 2003).



**Estrogen reseptörün (ESR) genetik profil sonuçlarının yorumlanması:  
(ESR1X-XbaI ve ESR1P-PvuII polimorfizimleri)**

- a) 238 postmenapozal kadının üzerinde yapılan bir çalışmada, PPxx genotipi taşıyan kadınların geri kalan tüm genotip kombinasyonuna sahip kadınlara göre lomber kolon ve tüm vücuttaki kemik yoğunluğu (KMY) değerlerinin önemli ölçüde düşük olduğu gözlenmiştir. ( $p=0,02$  lomber kolonda,  $p=0,002$  tüm vücutta) (Kobayashi ve ark., 1996). Bu veriler PPxx genotipinin kemik yoğunluğu kaybına predispozisyon sağladığını göstermektedir.
- b) 232'si hormonal tedavi alan grup ile kalan 232'si tedavi görmeyen 464 postmenapozal kadının 5 yıl boyunca izlenerek yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlara göre ESR1P-PvuII polimorfizmine göre PP ve Pp genotipi taşıyıcılarının, pp genotiplerine göre hormonal tedaviye daha iyi yanıt verdiği gözlenmiştir (Salmen ve ark., 2000).

**Kalsitonin reseptörünün (CTR) genetik profiline ilişkin sonuçlarının yorumlanması :**

**CTR-AluI polimorfizimleri**

307 postmenapozal kadının üzerinde AluI restriksiyon enzimi ile yapılan CTR polimorfizmlerinin tanımlanması üzerine yapılan bir çalışmada, aa genotipi taşıyıcılarında lomber kolonda kemik yoğunluğunun AA genotipi taşıyıcılarına göre önemli derecede düşük olduğu gözlenmiştir ( $p=0,01$ ) ancak bu farklılık femoral bölgede bulunmamıştır (Masi ve ark., 1998). 663 postmenapozal ve 52 perimenapozal kadın üzerinde yürütülen diğer bir çalışmada, AA genotipi taşıyıcıları kemik yoğunluğunun önemli derecede düşük olduğu görülmüştür (lomber omur yaş ve kilo göz önüne alınarak hesaplanmıştır). Çalışmada genotip etkisinin genç bayanlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bilim adamları bu sonuçları yaşa bağlı kemik erimesinden ziyade genin kemik yoğunluğu pikine ulaşmasındaki etkisine bağlamışlardır (Braga ve ark., 2000).

## 2.5. İstatistik Yöntem

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS 16.0 (PASW 16.0) ve SPSS 18.0 (PASW 18.0) paket programları kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma olarak özetlendi. Hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları arasındaki farkın anlamlılık düzeyini belirlemede bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanıldı. KMY ölçüm değerlerini etkileyen parametreleri belirlemek için ve gen polimorfizmleri ile sayısal ölçümler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Regresyon Analizi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi  $p \leq 0,05$  alındı. Değerlendirme sonucunda  $p \leq 0,05$  ise majör etkili,  $0,05 < p \leq 0,1$  ise minör etkili olarak kabul edildi. Polimorfizmlere göre allel frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesinin hesaplanmasında Scienceforall (<http://scienceforall.org/2010/06/20/hardy-weinberg-equilibrium-calculator>) sitesindeki hesaplayıcıdan yararlanıldı. Allel frekanslarının Hardy-Weinberg dengesine uygunluğu ise  $X^2$  testi ile değerlendirildi.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Çalışmamız Isparta Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi Görüntüleme Merkezine Kemik Mineral Yoğunluk (KMY) ölçümü için başvuran hastalarda Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA) ile ölçülen lumbar ve femur KMY değerlerinin COL1A1, CTR, VDRF, VDRB, ESR1X ve ESR1P genleriyle ve bunların çalışmaya alınan kişilerin diğer özellikleriyle olan ilişkisini belirlemek üzere planlanarak 49 erkek ve 139 kadın toplam 188 kişi üzerinde gerçekleştirildi.

Çalışma için numunelerin alınacağı Isparta yerel etik kurulundan izin alındı. Her hasta, çalışmayı yürüten pratisyen hekim tarafından değerlendirilerek bilgilendirildi ve aydınlatılmış onam formu hasta veya hasta yakınına imzalatıldı. İlgili hekim veya gözetimindeki görevliler tarafından daha önceden belirlenen anket formu uygulandı.

Anket ve hekimin değerlendirmesi sonucuna göre kemik mineral yoğunluğunu etkileyecek hastalığı (malabsorpsiyon, karaciğer veya böbrek hastalığı, hiperparatiroidizm ve hipertiroidizm gibi endokrin hastalık varlığı yada metabolik anormallik, cerrahi menapoz) olanlarla ölçüm değerlerini etkileyecek ilaç kullananlar (Glukokortikoid veya hormon replasman tedavisi) kapsam dışına alındı. 1000'den fazla kişi başvurmuş fakat 212 kişi kabul edilmiştir.

Kadın erkek ve akraba olup olmadıklarına bakılmaksızın çalışma kapsamına kabul edilen 212 hastadan lumbar omurga (L1-L4) ve femur boynu kemik mineral yoğunlukları, Dual Energy X-ray absorptiometry (DEXA) yöntemi ile Lunar DPX (GE Lunar Corporation, Madison, WI, USA) kullanarak ölçüldü. WHO (World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü) kriterlerine göre osteoporoz olup olmadıkları belirlendi.

WHO'nun önerdiği osteoporoz tanı kriterlerinde KMY değerlerinin T skoru kullanılmaktadır. T skoru hastanın KMY değerinin genç yetişkin KMY değer ortalamasından ne kadar sapma gösterdiğini göstermektedir.

### **3.2. Metot**

Her hastadan incelenecek DNA'yı izole etmek amacı ile kan alındı. Alınan numune kanları -20°C de saklanarak uygun koşullarda bölümümüz genetik laboratuvarına getirildi.

#### **3.2.1. Kullanılan kimyasal malzemeler**

- EDTA'lı tüpte 2 cc periferik venöz kan
- Distile su
- Tek kullanımlık eldiven
- Filtreli pipet ucu
- Buz
- Otoklavlanmış eppendorf tüpleri (1,5 ml)
- Rak 1,5 ml tüp için
- Rak 0,2 ml tüp için
- Etidiyum bromide (Sigma, Germany)
- Agaroz (Biobasic Inc., USA)
- Marker DNA( $\Phi$ X174 DNA/BsuRI (HaeIII) (Fermentas, USA)
- Etil alkol (Tekin, Türkiye)
- DNA izolasyon kiti ve içeriği  
Clinical Arrays® MetaBone (Genomica, Spain) DNA ekstraksiyon ve purifikasyon kiti malzemeleri
  - o 2 ml tüplere adapte edilmiş purifikasyon kolonları
  - o 2 ml toplama tüpleri
  - o Buffer B1

- Buffer B2
- Buffer B5
- Buffer BW
- Buffer BE
- Buffer B3 için etiket
- Proteinase K, liyofilize (Sulandırıldıktan sonra 4°C’de saklanılmıştır)
- Kullanıma hazır 45 µl reaksiyon karışımı içeren (-20°C’de transfer edilen) 0,2 ml amplifikasyon tüpleri.
- Görüntüleme Reaktifleri (4°C’de transfer edilen)
  - Array Tüpleri (spesifik propları ihtiva eden).
  - SH (Hibridizasyon Solüsyonu).
  - RE (Renklendirici).
  - DC (Konjugat Eritici).
  - CJ (Konjugat).
  - TL (Yıkama Solüsyonu).

### 3.2.2. Kullanılan cihazlar

- Dual X-ray absorptiometry (DEXA) Cihazı. Lunar DPX (GE Lunar Corporation). Cihaz En CORE 2005 software ile çalışmış hastalara ölçüm yapılmadan önce günlük sistem testi uygulaması yapılmıştır.
- ATS Çalışma istasyonu. CLONDIAG Çip Teknolojileri tarafından Genomica vücut dışı tanı kitleri için üretilmiştir. Okuyucu GENOMICA tarafından temsil edilmektedir. Clinical Arrays® MetaBone-spesifik program, GENOMICA tarafından üretilmiştir. Bu program ATS okuyucusuna önceden yüklenmiştir ve kullanıma hazırdır.
- Mikrosantrifüj (Kendro Biofuge Pico, Germany )
- PCR cihazı (Eppendorf Mastercycler Personal, Germany)
- Üç çeşit her birinden ikişer adet ayarlanabilir otomatik pipet 1-20 µl, 20-200 µl, 200-1000 µl aralığında. (Eppendorf, Germany)

- Ayarlanabilir alkalayıcı ısı bloğu (37°C, 50°C ve 100°C) ependorf tüplere uyumlu (Eppendorf, Germany)
- Vorteks (Nüve NM 110, Türkiye)
- Vakum ünitesi (VWR, UK)
- Spektrofotometre (Nanodrop ND-1000, USA)
- Elektroforez güç kaynağı (Biolab Apelex PS 520, France)
- Yatay elektroforez sistemi (Thermo, Italy; Cleaver, GB)
- Buzdolabı (Bosch, Germany)
- Deepfreez (Profilo, Germany)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik MD 584, Türkiye)
- UV Transilliminator (Biolab M-20E, USA)

### **3.2.3. Genomik DNA Ekstraksiyon Protokolü**

DNA üzerindeki genlerle yapılacak Moleküler Genetik alışmaları genomik DNA'nın elde edilmesi ile başlar. Genomik DNA insanda nükleuslu hücrelere sahip, başta kan olmak üzere bütün dokulardan elde edilebilir. Clinical Arrays® MetaBone (Genomica, Spain) kitini kullanarak, periferik venöz tam kan örneklerinden DNA elde edilmiştir.

#### **DNA Ekstraksiyon Hazırlık Aşaması**

- Buffer B1'i (içeriği 12 ml) Buffer B2'ye (içeriği 3 ml) ekleyip pipet ile dikkatlice karıştırarak Buffer B3 hazırlandı.
- Kullanımdan önce liyofilize Proteinaz K, PB buffer'ı içersinde çözüldü, 4°C'de saklandı.
- 8 ml % 100 etanol Buffer B5 içeren şişeye eklenerek Buffer B5 hazırlandı.
- Kullanımdan önce BE solüsyonu 70°C'de ısıtıldı.

Tüm santrifüj adımlarının oda ısısında uygulandığı DNA ekstraksiyonuna geçildi.

1. 200 µl kan örneğine 25 µl proteinase K eklendi. Ardından 200 µL B3 Solusyonu eklenerek, 20 saniye vorteks yapıldıktan sonra 70°C’de 30 dakika inkübe edildi. (inkübasyon sırasında birkaç saniye iki kez vorteks uygulandı).
2. 210 µl % 96 etanol her örneğe eklenip hemen vortekslendi.
3. Örnek için bir purifikasyon kolonu hazırlanarak 2 ml’lik örnek tüplerine konuldu. Örnek eklendi ve 12,000 rpm.’de 1 dakika santrifüj uygulandı. Eğer sıvı tamamen membranı terk etmez ise, santrifüj adımı tekrarlanıp arta kalan sıvı atıldı.
4. 500 µl BW Solüsyonu kolona eklenip 12,000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi, kalan sıvı tekrar atıldı.
5. 600 µl B5 Solüsyonu kolona eklenip 12,000 rpm’de 1 dk santrifüjlendi, kalan sıvı atıldı.
6. Kolon tekrar örnek tüpüne eklendi ve bir kez daha kalan B5 solüsyonu elimine etmek için 12,000 rpm’de 1 dk santrifüjlendi.
7. Kolona temiz bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüpü konuldu. 60 µl solüsyon BE ile (70°C’de önceden ısıtılmış) 3 dak. inkübe edildi ve sonrasında 1 dk 12,000 rpm’de santrifüj yapıldı.
8. 1,5 ml mikrosantrifüj tüpünde DNA içeren tüp (yaklaşık 60 µl) alındı.
9. Ekstrakte edilen DNA’nın miktarı ve kalitesi Nanodrop ND 1000 kullanılarak ölçüldü.
  - Minimum final konsantrasyonu 40 ng/µl
  - Ürün miktarı 0,1 µl ila 0,5 µl arasında (A260)

- protein kontaminasyonu olmaması için A260/280: 1.7 ile 2.0 arasında olmasına dikkat edildi.

10. Kullanılincaya kadar +4°C de muhafaza edilen DNA örneklerinin 5 µl'si amplifikasyon için kullanıldı (200 ng total DNA) ve kalanı -20°C'de saklandı.

11. Anket ve muayene sonucu çalışma kapsamına alınan Kemik Mineral Yoğunluğu ölçümü yapılan 212 hastadan DNA konsantrasyonu ürün miktarı ve/veya protein kontaminasyonu nedeniyle 16 hasta çalışma dışı bırakıldı. 196 hasta ile amplifikasyona devam edildi.

### **3.2.3. Amplifikasyon Reaksiyonu**

Genomik DNA'daki dizisi bilinen bir bölgenin PCR yöntemiyle in vitro olarak çoğaltılması işlemi PCR veya amplifikasyon olarak tanımlanır. Amplifikasyon adımı 150-250 bp uzunluğunda (154, 157, 211, 225, 246) 5 genom bölgesindeki 6 hedef SNP'nin eşzamanlı amplifikasyonu yapılmıştır. Marker olarak kullanılan DNA ΦX174 DNA/BsuRI (HaeIII)'dır. Kullandığımız marker içinde 1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118 ve 72 bp'lik DNA'ların bulunması nedeniyle bizim 154 ile 246 arasındaki DNA fragmanlarını rahatlıkla izleyebilmemizi sağlamıştır.

#### **Amplifikasyon adımları**

1. Her örnek için kullanıma hazır 45 µl reaksiyon karışımı içeren bir reaksiyon tüpü oda ısısında çözülüp buza konuldu.
2. Tüm sıvılar tabana gitmesi için reaksiyon tüpü kısa süreli santrifüj yapıldı.
3. 5 µl örnekten ekstrakte edilen DNA (200 ng total DNA) reaksiyon tüpüne onuldu ve birkaç kez pipetaj yapıldıktan sonra tüp tekrar buza konuldu.
4. Aşağıdaki sıcaklık döngüleri PCR cihazında programlandı. Evaporasyonu engellemek için ilk döngü ısıtıcı kapak 95°C'ye ulaştığında başlayacak şekilde programlandı.



- 1 döngü 95°C 12 dk (ön denatürasyon)
  - 40 döngü
    - 95°C 30 sn denatürasyon
    - 55°C 40 sn yapışma (annealing)
    - 72°C 1 dk sentez (Extention)
  - 1 döngü 60°C 30 dk final uzama (Elongation)
  - Tüpler çıkarılana kadar 4°C’de sürekli bekleme
5. Reaksiyon tüpleri PCR cihazına yerleştirildi ve program başlatıldı. Amplifikasyon süreci yaklaşık 4 saat sürdü.
  6. PCR ürünleri agoroz jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edildi. Amplifikasyon sonrası jel elektroforezinde 4 kişide amplifikasyon olmadığı anlaşıldı, görüntülemeye 192 kişinin PCR ürünleri ile devam edildi.

#### **3.2.4. Görüntüleme**

Teste başlamadan yapılacak hazırlıklar:

1. PCR cihazı 95°C’de 10 dakikalık bir döngüye ayarlandı. Böylece 5 dakikalık örnek denatürasyonu tamamlandı ve amplifiye edilmiş ürünler 95°C’de denatüre halde kalmaya devam etmesi sağlandı.
2. Presipite kristaller yok oluncaya kadar hibridizasyon solüsyonunu (SH)50°C’ye kadar ısıtıldı.
3. Isıtıcı bloğu 50°C’ye ayarlanıp çalıştırıldı.
4. Örneğin hazırlanması: 1.5 ml’lik ependorf tüpünün içinde 5 µl amplifiye ürün ile 95 µl SH solüsyonu karıştırıldı.
5. 27 ml distile suya 3 ml TL solüsyonu eklenerek TL solüsyonu dilüe edildi.

#### **Görüntüleme prosedürü:**

1. Daha önce SH solüsyonunda (95 µl ) dilüe edilmiş PCR ürünleri (5 µl) tüpleri 95°C’de 5 dakika boyunca PCR cihazında inkübe edildi.

2. Her AT tüpüne (Array Tüpü) 300 µl dilüe TL ekleyip 4-5 kez aşağı yukarı çevrildi, bu solüsyon bir vakum sistemi kullanarak çekildi. Böylece örnekler eklenmeden önce AT tüpünün ön yıkaması yapıldı. Tüplerde yıkama solüsyonu kalmamasına kapakların da kuru olmasına dikkat edildi, ancak bu tüpler uzun süre kuru bırakılmadı.
3. **Hibridizasyon:** Denatürasyon tamamlanmadan hemen önce önceden yıkanmış AT tüpleri 50°C'ye ayarlı ısı bloğuna yerleştirildi. Her bir AT tüpüne tüpün dibinde bulunan çipe dokunmamaya dikkat ederek 100 µl bir önceki adımda denatüre edilmiş örnekler eklendi. (Bu adım, örneklerin soğumasına izin vermeden hızlı bir şekilde yapıldı.) Örneklerin eklendiği AT tüpleri 550 rpm'de çalkalanarak 50°C'de 1,5 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, tüpler çıkarılıp SH solüsyonunu bir vakum sistemi yardımıyla çekildi. 6. adımda kullanıma hazır olması için ısı bloğunu 30°C'ye ayarlayıp çalışır durumda bırakıldı. Cihazın kapağını açık bırakarak daha hızlı soğuması sağlandı.
4. **Yıkama:** Her AT tüpüne 300 µl dilüe TL solüsyonu eklendi ve 10 kez ters düz edildi. Bir pipet veya vakum sistemi kullanarak TL solüsyonu çekildi. Bu adıma gelindiğinde ısı bloğu 30°C'ye düşmemiş ise ısı bloğu gerekli sıcaklığa ulaşana kadar tüpleri içinde TL solüsyonu olduğu halde bekletildi.
5. **Bloklama ve konjugatın eklenmesi:** CJ solüsyonunun kullanılmadan önce 10 saniye santifüj edildi. Sonra, buz üzerinde dilüe CJ solüsyonunu hazırlandı. Bu amaçla ve her AT tüpü için 0,72 µl CJ solüsyonu ve solüsyonları 99,28 µl DC solüsyonu bir tüp içerisinde karıştırıldı. Pipetleme hatalarının önüne geçmek için her 10 AT tüpü için fazladan bir tüplük solüsyon hazırlandı. Dilüe CJ solüsyonu hazırlanmasından sonra 4 saati geçtiği takdirde kullanılmadı yenisi hazırlandı. 550 rpm'de çalkalayarak 30°C'de tam olarak 15 dakika boyunca inkübe edildi. Bu inkübasyon sonrasında bir vakum sistemi kullanarak AT tüpünden solüsyonu hızlıca çekildi. AT tüpüne 100 µl dilüe solüsyonu eklendi. Sekizinci adımda kullanılmak üzere ısı bloğu 25°C'ye düşürüldü. Her AT

tüpüne 300 µL dilüe TL solüsyonu eklenip 10 kez ters düz edildi; sonrasında, solüsyonu bir vakum sistemiyle çekildi. Eğer bu yıkama adımı hızlı bir şekilde yapılmaz ise okuma sırasında hatalı sinyallerin ortaya çıkmasına neden olabilir.

6. **Yıkama:** Bu en önemli yıkama adımıdır. Her AT tüpüne 300 µl dilüe TL solüsyonu ekleyip ve 10 kez ters düz edildi; sonrasında, solüsyon bir pipet ya da vakum sistemiyle çekildi. RE solüsyonu ve CJ solüsyonu reaksiyona girip spesifik olmayan sinyal oluşturabileceği için hiç CJ solüsyonu kalıntısı bırakılmamaya dikkat edildi. Tüpün dibindeki çipe dokunmamaya çok dikkat edildi.
7. **RE solüsyonu kullanılarak renk değişimi:**
  - a. AT tüpünden TL solüsyonunu çekildi.
  - b. 100 µl RE solüsyonu eklendi.
  - c. Kronometre çalıştırıldı.
  - d. AT tüplerini çalkalamadan termomikserde 25°C’de inkübe edildi.
  - e. İkinci tüp için aynı işlemler tekrar edildi: TL solüsyonu çekildi, 100 µl RE solüsyonu eklendi, 25°C’de inkübe edildi. Aynı adımları her tüp için tekrarlandı.
  - f. 10 dakika sonra, RE solüsyonu eklediğiniz sıra ile okumaya başlandı. Termomikser çalkalama yapmadan kullanıldı ve örnekler inkübasyonun hemen ardından okutuldu.
8. **Okuyucuyu “Batch analysis (çoklu okuma)” moduna ayarlandı.** (Bu mod ile okuyucu 24’e kadar AT tüpünü birlikte okuyabilmekte ve analiz etmektedir). Okutulan örnekler gruplar halinde analiz edildi.

### **Analiz ve yorumlama**

Her analizde elde edilen verinin değerlendirmesi Cihazın okuma ve analiz etme özelliği sayesinde sonuçlar bir rapor haline getirilmektedir. DNA ve amplifikasyon kontrolleri ile belirlenen geçerlilik sonucu gösterilmektedir. 4 hastanın sonuçları tamamen geçersiz olduğu için 188 hasta sonucu geçerli kabul edilerek istatistiki çalışmalar 188 hasta üzerinden yapılmıştır. PCR’da amplifiye edilen ürünlerin tanımlanması yeni teknoloji platformu, ArrayTüp (AT) ile gerçekleştirilmiştir.

## 4. BULGULAR

Çalışmamız, Isparta Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi Görüntüleme Merkezine kemik mineral yoğunluk ölçümü için başvuran kişilerden 49 erkek 139 kadın toplam 188 i üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmaya katılanların tümünün DEXA ile ölçülen lomber (L1-L4) ve femur (femur boyun) kemik mineral yoğunluğu analizleri yapıldı. WHO kriterlerine göre osteoporoz olup olmadıkları belirlendi. Çalışmaya dahil edilen kişilerin, yaşı, boyu, kilosu, eğitim durumu, mesleği, menapoz yaşı, doğum sayısı, ailede osteoporoz öyküsü, eşlik eden hastalıkları, ilaç kullanımı, fiziksel aktivite düzeyi, kahve tüketimi, alkol ve sigara kullanımı, güneşe maruz kalma süresi yapılan anketlerle sorgulandı. Kişilerin kanlarından elde edilen DNA'lar PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünleri tüp microarray yöntemi ile değerlendirilerek çalışmaya katılanların 6 gen bölgesi açısından genotipleri belirlendi.

### 4.1. Klinik ve Tanımlayıcı Özellikler

Tablo 4.1'de gösterildiği gibi 188 kişiden oluşan çalışma grubumuzun 49 (% 26,1) u erkeklerden, 139 (% 73,9)'u kadınlardan oluşmaktadır. Kadınların 118'i postmenapozal geri kalan 21'i ise menopozda olmayan kadınlardır. Çalışmaya katılanların tümü WHO kriterlerine göre değerlendirilerek osteoporozda olan 78 (% 41,5) kişinin dışındaki 110 (% 58,5) kişi kontrol grubu olarak belirlendi. Çalışma grubumuzun bazı ölçülebilir klinik ve biyokimyasal özellikleri ile anketteki cevapları analiz edildiğinde yaş ortalamasının erkeklerde (51,4±10,7); kadınlarda (58,2±10,2) ve menapozda olan kadınlarda (60,4±9,3) olarak bulunmuştur. Erkek, kadın ve postmenapozal kadınlardan oluşan grupların her üçünde de hastaların yaşları kontrol gruplarından belirgin şekilde yüksektir. Erkeklerde boy ve kilo daha fazla iken vücut kitle indeksi kadınlarda daha fazladır. Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında ise kontrol gruplarında her üç parametrenin de hasta gruplarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Lomber vertebra kemik mineral yoğunluğu

ortalaması belirgin şekilde erkekte en yüksek ( $1,12 \text{ g/cm}^2$ ), menopozdaki kadında en düşük ( $0,95 \text{ g/cm}^2$ ) olduğu Tablo 4.1’de görülmektedir. Femur KMY erkeklerde ( $0,98 \text{ g/cm}^2$ ) menopozdaki kadınlardan ( $0,85 \text{ g/cm}^2$ ) daha yüksek bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları açısından değerlendirildiğinde beklenildiği gibi KMY değerleri kontrol gruplarında hasta gruplarından belirgin şekilde yüksektir.

**Tablo 4.1.** Çalışmamızdaki 188 kişinin ölçülebilir klinik ve biyokimyasal özellikleri ile beraber, anketteki sorulara verdikleri cevaplara göre hazırlanan çalışma verileri

ÖZELLİK		Erkek (n=49) (%26,1)	Menopoz (n=118)	Kadın (n=139) (%73,9)	TOPLAM (n=188) (%100)
Yaş (Yıl), Ortalama±SD	Kontrol	49,6±10,8 (n=39)	55,3±7,8 (n=53)	53,0±8,2 (n=71)	51,8±9,3 (n=110)
	Hasta	58,4±7,4 (n=10)	64,6±8,3 (n=65)	63,7±9,2 (n=68)	63,1±9,1 (n=78)
	<b>Toplam</b>	<b>51,4±10,7 (n=49)</b>	<b>60,4±9,3 (n=118)</b>	<b>58,2±10,2 (n=139)</b>	<b>56,5±10,8 (n=188)</b>
Ağırlık (kg), Ortalama±SD	Kontrol	80,3± 12,1 (n=39)	72,0±12,4 (n=53)	71,8±12,5 (n=71)	74,8±13,0 (n=110)
	Hasta	72,7±11,1 (n=10)	66,2±11,7 (n=65)	65,7±11,6 (n=68)	66,6±1,7 (n=78)
	<b>Toplam</b>	<b>78,8±12,2 (n=49)</b>	<b>68,8±12,3 (n=118)</b>	<b>68,8±12,4 (n=139)</b>	<b>71,4± 13,1 (n=188)</b>
Boy (cm), Ortalama±SD	Kontrol	171,8± 5,5 (n=39)	159,8±4,9 (n=53)	159,8±5,1 (n=71)	164,1±7,6 (n=110)
	Hasta	169,7±5,8 (n=10)	156,0±5,4 (n=65)	156,3±5,5 (n=68)	158,0±7,1 (n=78)
	<b>Toplam</b>	<b>171,4±5,6 (n=49)</b>	<b>157,7±5,5 (n=118)</b>	<b>158,1±5,6 (n=139)</b>	<b>161,6±8,1 (n=188)</b>
VKİ (kg/m <sup>2</sup> ), Ortalama±SD	Kontrol	27,2±3,7 (n=39)	28,2±4,4 (n=53)	28,1±4,3 (n=71)	27,8±4,1 (n=110)
	Hasta	25,3±4,0 (n=10)	27,2±4,8 (n=65)	26,9±4,8 (n=68)	26,7±4,8 (n=78)
	<b>Toplam</b>	<b>26,8±3,8 (n=49)</b>	<b>27,6±4,6 (n=118)</b>	<b>27,5±4,6 (n=139)</b>	<b>27,3±4,4 (n=188)</b>
L. Vertebra KMY(g/cm <sup>2</sup> ) Ortalama±SD	Kontrol	1,17±0,13 (n=39)	1,12±0,16 (n=53)	1,11±0,21 (n=71)	1,13±0,19 (n=110)
	Hasta	0,91±0,13 (n=10)	0,81±0,19 (n=65)	0,81±0,18 (n=68)	0,83±0,18 (n=78)
	<b>Toplam</b>	<b>1,12±0,17 (n=49)</b>	<b>0,95±0,23 (n=118)</b>	<b>0,96±0,25 (n=139)</b>	<b>1,00±0,24 (n=188)</b>
Femur KMY(g/cm <sup>2</sup> ) Ortalama±SD	Kontrol	1,02±0,12 (n=39)	0,97±0,12 (n=53)	0,98±0,12 (n=71)	0,99±0,12 (n=110)
	Hasta	0,80± 0,20 (n=10)	0,75±0,11 (n=65)	0,76±0,11 (n=68)	0,76±0,13 (n=78)
	<b>Toplam</b>	<b>0,98±0,17 (n=49)</b>	<b>0,85±0,16 (n=118)</b>	<b>0,87±0,16 (n=139)</b>	<b>0,90±0,17 (n=188)</b>

Çalışmamızdaki 188 kişinin ölçülemeyen (tanımlayıcı) klinik özellikleri ile beraber, anketteki sorulara verdikleri cevaplara göre hazırlanan çalışma verileri Tablo 4.2.’de gösterilmiştir. Bu tablodaki verilerin değerlendirilmesinde; ailesinde

osteoporozlu bulunan 40 kişinin toplam katılımcı sayısının % 21,3 ünü oluşturduğu saptanmıştır. Erkeklerin ailelerinde osteoporoz olanların oranı (% 16,3) kadınlardan (% 23,0) daha azdır. Daha da önemlisi hasta ve kontrol gruplarındaki oranların birbirine yakın olması dikkat çekicidir.

**Tablo 4.2.** Çalışmamızdaki 188 kişinin ölçülemeyen (tanımlayıcı) klinik özellikleri ile beraber, anketteki sorulara verdikleri cevaplara göre hazırlanan çalışma verileri

ÖZELLİK		Erkek n=49 (% 26,1)	Menopoz n=118	Kadın n=139 (% 73,9)	TOPLAM n=188 (% 100)
Ailesinde Osteoporoz olanlar	Kontrol	7(%17,9) (n=39)	11(%20,8) (n=53)	16 (%22,5) (n=71)	23(%20,9) (n=110)
	Hasta	1(%10) (n=10)	16 (24,6) (n=65)	16 (%23,5) (n=68)	17(%21,8) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>8 (% 16,3)</b> <b>(n=49)</b>	<b>27(% 22,9)</b> <b>(n=118)</b>	<b>32(% 23,0)</b> <b>(n=139)</b>	<b>40(% 21,3)</b> <b>(n=188)</b>
Düzenli spor Yapanlar	Kontrol	6(%15,4) (n=39)	9 (%17,0) (n=53)	12 (%16,9) (n=71)	18(%16,4) (n=110)
	Hasta	2(%20) (n=10)	8 (%12,3) (n=65)	8 (%11,8) (n=68)	10(%12,8) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>8 (% 16,3)</b> <b>(n=49)</b>	<b>17(% 14,4)</b> <b>(n=118)</b>	<b>20(% 14,4)</b> <b>(n=139)</b>	<b>28(% 14,9)</b> <b>(n=188)</b>
Düzenli Beslenme	Kontrol	4(%10,3) (n=39)	16 (%30,2) (n=53)	21 (%29,6) (n=71)	25(%22,7) (n=110)
	Hasta	4(%40) (n=10)	8 (%12,3) (n=65)	8 (%11,8) (n=68)	12(%15,4) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>8 (% 16,3)</b> <b>(n=49)</b>	<b>24(% 20,3)</b> <b>(n=118)</b>	<b>29(% 20,9)</b> <b>(n=139)</b>	<b>37(% 19,7)</b> <b>(n=188)</b>
Sigara İçme	Kontrol	14(%35,9) (n=39)	3 (%5,7) (n=53)	7 (%9,9) (n=71)	21(%19,1) (n=110)
	Hasta	4(%40) (n=10)	2 (%3,1) (n=65)	2 (%2,9) (n=68)	6(%7,7) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>18 (% 36,7)</b> <b>(n=49)</b>	<b>5(% 4,2)</b> <b>(n=118)</b>	<b>9(% 6,5)</b> <b>(n=139)</b>	<b>27(% 14,4)</b> <b>(n=188)</b>
Alkol Alma	Kontrol	13(%33,3) (n=39)	1(%1,9) (n=53)	1 (%1,4) (n=71)	14(%12,7) (n=110)
	Hasta	0 (%0,0) (n=10)	0 (%0,0) (n=65)	0 (%0,0) (n=68)	0(%0,0) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>13 (% 26,5)</b> <b>(n=49)</b>	<b>1(% 0,8)</b> <b>(n=118)</b>	<b>1(% 0,7)</b> <b>(n=139)</b>	<b>14(% 7,4)</b> <b>(n=188)</b>
Kahve İçme	Kontrol	7(%17,9) (n=39)	6(%11,3) (n=53)	8 (%11,3) (n=71)	15(%13,6) (n=110)
	Hasta	2(%20) (n=10)	2 (%3,1) (n=65)	2 (%2,9) (n=68)	4(%5,1) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>9 (% 18,4)</b> <b>(n=49)</b>	<b>8(% 6,8)</b> <b>(n=118)</b>	<b>10(% 7,2)</b> <b>(n=139)</b>	<b>19(% 10,1)</b> <b>(n=188)</b>
Gün Işığına Maruziyet (>10dak)	Kontrol	24(%61,5) (n=39)	35 (%66) (n=53)	46 (64,8) (n=71)	70(%63,6) (n=110)
	Hasta	7(%70) (n=10)	37 (%56,9) (n=65)	39 (%57,4) (n=68)	46(%59,0) (n=78)
	<b>TOPLAM</b>	<b>31 (% 63,3)</b> <b>(n=49)</b>	<b>72(% 61,0)</b> <b>(n=118)</b>	<b>85(% 61)</b> <b>(n=139)</b>	<b>116(61,7)</b> <b>(n=188)</b>

Düzenli spor yapma oranı erkeklerde (% 16,3) daha yüksek olmakla beraber kadınların spor yapma oranı (% 14,4) ile benzerlik göstermektedir. Kadınlarda kontrol gruplarında spor yapanların oranı daha yüksekken erkeklerde hasta grubunda spor yapanların oranı daha yüksektir. Düzenli beslenme oranları erkeklere göre kadınlarda ve hasta grubuna göre kontrol grubunda daha yüksektir.

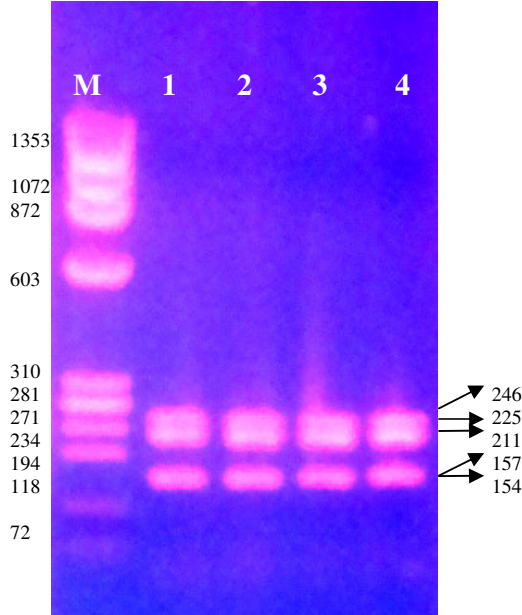
Sigara alkol ve kahve içme oranları erkeklerde daha yüksektir. Ancak burada beklenilenin tersi sigara alkol ve kahve kullanma oranları kontrol grubunda daha yüksektir. Çalışmaya katılanların büyük kısmının günlük 10 dakikadan fazla gün ışığına maruz kaldığı ve hasta ile kontrol grubu arasında belirgin bir fark olmadığı Tablo 4.2’de görülmektedir.

Klinik ve tanımlayıcı özelliklerin KMY üzerine etkilerinin anlamlılık testleri 4.5. nolu “KMY değerlerine gen dışı faktörlerin etkileri” başlığı altında incelenmiştir.

## **4.2. Genomik DNA Analiz Sonuçları**

DNA üzerindeki genlerle yapılacak Moleküler Genetik çalışmaları genomik DNA’nın elde edilmesi ile başlar. Çalışmaya kabul edilen 212 kişiden Clinical Arrays® MetaBone (Genomica, Spain) kitini kullanarak, periferik venöz tam kan örneklerinden DNA elde edildi. DNA konsantrasyonu ürün miktarı ve/veya protein kontaminasyonu nedeniyle 16 kişi çalışma dışı bırakıldı. 196 kişi ile amplifikasyona devam edildi. Amplifikasyon adımında 150-250 bp uzunluğunda (154, 157, 211, 225, 246) 5 genom bölgesindeki 6 hedef SNP nin eşzamanlı amplifikasyonu yapıldı. Amplifikasyonun olmadığı elektroforezdeki kontrolde anlaşılan 4 kişi daha çalışma dışı bırakıldı böylece toplam 20 kişi çalışma dışı bırakıldı 192 hasta ile sonraki adımlara devam edildi. Şekil 4.1’de baştaki sütunda marker DNA sonraki 1, 2, 3 ve 4 nolu sütunlarda ekstrakte edilen DNA’dan amplifiye olan ürünlerin elektroforezdeki görüntüleri gösterilmektedir. Marker olarak kullanılan DNA ΦX174 DNA/BsuRI (HaeIII)’dir. Kullandığımız marker içinde 1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234,

194, 118 ve 72 bp lik DNA ların bulunması nedeniyle bizim 154 ile 246 arasındaki DNA fragmanlarını rahatlıkla izleyebilmemizi sağlamıştır. DNA amplifikasyon kontrolleri elektroforez ile yapılmıştır.



**Şekil 4.1.** Amplifikasyon ürünleri ve Marker DNA'ların elektroforez görüntüsü

PCR da amplifiye edilen ürünlerin tanımlanması yeni teknoloji platformu, ArrayTüp (AT) ile gerçekleştirilmiştir. Her analizde elde edilen veriler cihazın okuma ve analiz etme özelliği sayesinde bir sonuç raporu haline getirilmektedir. Sistem monitöründe Tablo 4.3'da görüldüğü gibi 3 sütunlu bir tablo görülür; soldaki sütun analiz edilen genler, orta sütunda her spesifik genin genotip sonucu, sağ sütunda da DNA ve amplifikasyon kontrolleri ile belirlenen geçerlilik sonucu gösterilmektedir. Burada sonucu görülen hastanın VDRB için sonucu geçersiz kabul edilmiştir. Diğer 5 gen bölgesi sonucu değerlendirmeye alınırken VDRB geninin sonucu değerlendirme dışı bırakılmıştır.



**Tablo 4.3.** Sistem monitöründe hasta sonucunun görüntüsü.

<b>RESULT VIEW</b> MetaBone		Analysis code: 040304
Test reference:	hll6	
AT Code:	24129580040304	
Type of analysis:	tmb endpoint	
Date and time:	2009-05-15 12:35	
<b>&amp;nbsp;Gene - Polymorphism&amp;nbsp;</b>	<b>&amp;nbsp;Result&amp;nbsp;</b>	<b>&amp;nbsp;Controls&amp;nbsp;</b>
Col1A1 - Sp1	SS	Passed
CTR - AluI	AA	Passed
ESRalfa - PvuII	PP	Passed
ESRalfa - XbaI	Xx	Passed
VDR - BsmI	Uncertainty	Failed
VDR - FokI	FF	Passed
<b>SYSTEM INFORMATION</b>		
Last verification date:	2009-05-13	
Last verification result:	Ok	
Temperature status:	Ok	
System:	ATS	

192 hastadan elde edilen amplifikasyon ürünlerinin cihazdan elde edilen sonuçları değerlendirilmiş 4 hastanın bütün sonuçları geçersiz olduğu için 188 hasta sonucu geçerli kabul edilerek istatistikî çalışmalar 188 hasta üzerinden yapılmıştır. Hastaların genlere göre geçerli ve geçersiz sonuçları Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.4.** Elde edilen sonuçların geçerliliği

GEN ADI	Geçerli Sonuç	Geçersiz Sonuç
COL1A1	184	8
VDR-B	167	25
VDR-F	182	10
ESRX	184	8
ESRP	180	12
CTR	186	6

### 4.3.Çalışılan Genler ve Çalışma Gruplarının Allel Frekansları

Çalıştığımız 6 gen bölgesinin yer aldığı kromozom lokalizasyonları, her bir gen bölgesinin genotip isimlendirmeleri, ilgili gen bölgelerine özgü restriksiyon enzimleri ile elde edilen DNA fragmanı baz çifti uzunlukları hakkında ayrıntılı bilgi Tablo 4.5.de verilmiştir.

**Tablo 4.5.**Çalışılan 6 gen bölgesinin özellikleri

GEN ADI	Kromozom Lokalizasyonu	Genotipler	Baz çifti (bp)
COL1A1	17q21.31	SS, Ss, ss	211bp
VDR-B	12q13.11	BB, Bb, bb	246bp
VDR-F	12q13.11	FF, Ff, ff	154bp
ESRX	6q25.1	XX, Xx, xx	225bp
ESRP	6q25.1	PP, Pp, pp	225bp
CTR	7q21.3	AA, Aa, aa	157bp

#### 4.3.1. Hardy-Weinberg Hesaplamasına Göre Çalışma Grubundaki 188 kişiye ait 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları

Çalışma kapsamındaki 188 kişinin genotipleri belirlenmiş allel frekansları <http://scienceforall.org> sitesindeki hesaplayıcıdan yararlanılarak Hardy-Weinberg eşitliğine göre hesaplanmıştır. Bulunan allel frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğine göre beklenen allel frekansları ile karşılaştırması  $X^2$  testi ile yapılmış bulunan p değerleri Tablo 4.6 da verilmiş, P1 olarak gösterilmiştir. P1 değerinin 0,05 ten büyük ( $p>0,05$ ) olması çalışma için seçilen örneklemin Hardy-Weinberg hesaplamasına göre uygun olduğunun göstergesidir (SCIENCEFORALL, 2010). ESR1P nin P değerleri 0,05'ten küçük ( $p<0,05$ ), ESR1X için hasta ve kontrol gruplarının p değerleri ayrı ayrı 0,05'ten büyük ( $p>0,05$ ) ancak toplam çalışma grubunun p değeri 0,05'ten küçüktür ( $p<0,05$ ). Diğer genler için hem hasta hem de kontrol gruplarının p değerleri 0,05'ten büyüktür ( $p>0,05$ ). Bu da bize seçilen çalışma grubunun genotip dağılımının Hardy-Weinberg yasasına uygun olduğunu

göstermektedir.

Hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu testle hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları arasındaki farkın önemliliği için elde edilen p değeri Tablo 4.6’da P2 olarak gösterilmektedir. COL1A1, CTR, ESR1P, ESR1X, VDRB ve VDRF gen polimorfizmlerinin tamamında P2 değerleri 0,05’ten büyüktür. Buna göre hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları arasında anlamlı bir fark yoktur.

**Tablo 4.6.** Çalışma kapsamındaki 188 kişinin 6 gen bölgesine göre genotipleri ve allel frekansları

COL1A1	Genotipler			Allel frekansları		P Değerleri	
	SS	Ss	ss	S	s	P1	P2
Kontrol (107)	74	28	5	0,822	0,178	0,282	0,264
Hasta (77)	57	18	2	0,857	0,143	0,690	
<b>Toplam (184)</b>	<b>131</b>	<b>46</b>	<b>7</b>	<b>0,837</b>	<b>0,163</b>	<b>0,255</b>	
CTR	AA	Aa	aa	A	a	P	
Kontrol (109)	19	46	44	0,385	0,615	0,255	0,299
Hasta (77)	9	33	35	0,331	0,669	0,775	
<b>Toplam (186)</b>	<b>28</b>	<b>79</b>	<b>79</b>	<b>0,363</b>	<b>0,637</b>	<b>0,267</b>	
ESR1P	PP	Pp	pp	P	p	P	
Kontrol (106)	39	37	30	0,542	0,458	0,002	0,225
Hasta (74)	35	22	17	0,622	0,378	0,002	
<b>Toplam (180)</b>	<b>74</b>	<b>59</b>	<b>47</b>	<b>0,575</b>	<b>0,425</b>	<b>0,001</b>	
ESR1X	XX	Xx	xx	X	x	P	
Kontrol (109)	23	43	43	0,408	0,592	0,055	0,331
Hasta (75)	19	30	26	0,453	0,547	0,095	
<b>Toplam (184)</b>	<b>42</b>	<b>73</b>	<b>69</b>	<b>0,427</b>	<b>0,573</b>	<b>0,010</b>	
VDR B	BB	Bb	bb	B	b	P	
Kontrol (95)	12	49	34	0,384	0,616	0,380	0,398
Hasta (72)	12	31	29	0,382	0,618	0,455	
<b>Toplam (167)</b>	<b>24</b>	<b>80</b>	<b>63</b>	<b>0,383</b>	<b>0,617</b>	<b>0,863</b>	
VDR F	FF	Ff	ff	F	f	P	
Kontrol (107)	63	36	8	0,757	0,243	0,377	0,338
Hasta (75)	48	23	4	0,793	0,207	0,575	
<b>Toplam (182)</b>	<b>111</b>	<b>59</b>	<b>12</b>	<b>0,772</b>	<b>0,228</b>	<b>0,285</b>	

Çalıştığımız genlerin KMY üzerine etkilerini belirlemede hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları karşılaştırılmasından daha önemli olduğunu düşündüğümüz genotiplerin femoral ve lumbar vertebral KMY ölçüm değerleri ile ilişkisi regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Genotiplerin KMY üzerine etkilerinin anlamlılık testleri (regresyon analizi) sonuçları 4.4 numaralı “Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri” başlığı altında incelenmiştir.

#### **4.3.2. Hardy-Weinberg Hesaplamasına Göre Postmenapozal Kadınlarda Çalıştığımız 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları**

Çalışma grubundaki 188 kişinin 118 (% 62,7) i menapoza girmiş kadınlardan oluşmaktadır. Bunların genotip dağılımları ve allel frekansları Hardy-Weinberg eşitliğine göre hesaplanarak Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Allel frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğine göre karşılaştırması  $X^2$  testi ile yapılmış bulunan p değerleri Tablo 4.7 de, P1 olarak gösterilmiştir. Buradaki P değerlerine bakıldığında ESR1P’nin p değerlerinin 0,05’ten küçük ( $p < 0,05$ ), ESR1X’in p değerleri ise kontrol grubunda 0,05’ten küçük iken hasta grubunda büyüktür. COL1A1, CTR, VDRB ve VDRF genleri için hem hasta hem de kontrol gruplarının p değerleri 0,05’ten büyüktür ( $p > 0,05$ ).

Postmenapozal kadınlarda hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanılarak karşılaştırıldığında elde edilen P değerlerinin (P2) 0,05’ten büyük olması aralarında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. Genotiplerin femur KMY ve lumbar vertebral KMY üzerine etkileri 4.4 numaralı “Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri” başlığı altında incelenmiştir.

**Tablo 4.7.** Çalışma kapsamındaki 118 postmenapozal kadının 6 gen bölgesine göre genotipleri ve allel frekansları

	Genotipler			Allel frekansları		P Değerleri	
	SS	Ss	ss	S	s	P1	P2
<b>COL1A1</b>							
Kontrol (51)	37	14	0	0,863	0,137	0,256	0,397
Hasta (64)	48	15	1	0,867	0,133	0,889	
<b>Toplam (115)</b>	<b>85</b>	<b>29</b>	<b>1</b>	<b>0,865</b>	<b>0,135</b>	<b>0,384</b>	
<b>CTR</b>	<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>aa</b>	<b>A</b>	<b>a</b>	<b>P</b>	
Kontrol (53)	8	22	23	0,358	0,642	0,478	0,375
Hasta (64)	8	26	30	0,328	0,672	0,529	
<b>Toplam (117)</b>	<b>16</b>	<b>48</b>	<b>53</b>	<b>0,342</b>	<b>0,658</b>	<b>0,340</b>	
<b>ESR1P</b>	<b>PP</b>	<b>Pp</b>	<b>pp</b>	<b>P</b>	<b>p</b>	<b>P</b>	
Kontrol (51)	22	15	14	0,578	0,422	0,005	0,320
Hasta (61)	30	18	13	0,639	0,361	0,005	
<b>Toplam (112)</b>	<b>52</b>	<b>33</b>	<b>27</b>	<b>0,612</b>	<b>0,388</b>	<b>0,001</b>	
<b>ESR1X</b>	<b>XX</b>	<b>Xx</b>	<b>xx</b>	<b>X</b>	<b>x</b>	<b>P</b>	
Kontrol (52)	13	18	21	0,423	0,577	0,036	0,368
Hasta (63)	17	24	22	0,460	0,540	0,064	
<b>Toplam (115)</b>	<b>30</b>	<b>42</b>	<b>43</b>	<b>0,443</b>	<b>0,557</b>	<b>0,005</b>	
<b>VDR B</b>	<b>BB</b>	<b>Bb</b>	<b>bb</b>	<b>B</b>	<b>b</b>	<b>P</b>	
Kontrol (45)	3	26	16	0,356	0,644	0,080	0,271
Hasta (59)	10	23	26	0,439	0,561	0,743	
<b>Toplam (104)</b>	<b>13</b>	<b>49</b>	<b>42</b>	<b>0,361</b>	<b>0,639</b>	<b>0,824</b>	
<b>VDR F</b>	<b>FF</b>	<b>Ff</b>	<b>ff</b>	<b>F</b>	<b>f</b>	<b>P</b>	
Kontrol (53)	32	18	3	0,774	0,226	0,824	0,364
Hasta (62)	42	16	4	0,806	0,194	0,172	
<b>Toplam (115)</b>	<b>74</b>	<b>34</b>	<b>7</b>	<b>0,791</b>	<b>0,209</b>	<b>0,261</b>	

#### 4.3.3 Hardy-Weinberg Hesaplamasına Göre Erkeklerde Çalıştığımız 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları

Çalışma grubundaki 188 kişinin 49 (%26,1)'u erkeklerden oluşmaktadır. Bunların genotipleri ve allel frekansları Tablo 4.8'de çıkarılmıştır. Allel frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğine göre karşılaştırması  $X^2$  testi ile yapılmış bulunan p değerleri Tablo 4.8'de, P1 olarak gösterilmiştir. ESR1P ve ESR1X genleri de dahil COL1A1, CTR, VDRB ve VDRF genleri için hem hasta hem de kontrol gruplarının p değerleri 0,05'ten büyüktür ( $p>0,05$ ). Erkek çalışma grubunda bütün genlerin genotip dağılımı ve allel frekansları Hardy-Weinberg eşitliğine uygundur.

Erkek çalışma grubunda hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanılarak karşılaştırıldığında elde edilen P değerlerinin (P2) 0,05'ten büyük olması aralarında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. Genotiplerin femur KMY ve lomber vertebral KMY üzerine etkileri 4.4 numaralı "Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lomber Vertebral KMY Üzerine Etkileri" başlığı altında incelenmiştir.

**Tablo 4.8.** Erkeklerde çalıştığımız 6 gen bölgesinin allel frekansları

	Genotipler			Allel frekansları		P Değerleri	
	SS	Ss	ss	S	s	P1	P2
<b>COL1A1</b>							
Kontrol(39)	24	12	3	0,769	0,231	0,405	0,388
Hasta (10)	7	2	1	0,800	0,200	0,236	
<b>Toplam</b>	<b>31</b>	<b>14</b>	<b>4</b>	<b>0,776</b>	<b>0,224</b>	<b>0,209</b>	
<b>CTR</b>	<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>aa</b>	<b>A</b>	<b>a</b>	<b>P</b>	
Kontrol(38)	6	18	14	0,395	0,605	0,957	0,397
Hasta (10)	1	6	3	0,400	0,600	0,429	
<b>Toplam</b>	<b>7</b>	<b>24</b>	<b>17</b>	<b>0,396</b>	<b>0,604</b>	<b>0,753</b>	
<b>ESR1P</b>	<b>PP</b>	<b>Pp</b>	<b>pp</b>	<b>P</b>	<b>p</b>	<b>P</b>	
Kontrol(37)	11	15	11	0,500	0,500	0,250	0,381
Hasta (10)	4	3	3	0,550	0,450	0,213	
<b>Toplam</b>	<b>15</b>	<b>18</b>	<b>14</b>	<b>0,511</b>	<b>0,489</b>	<b>0,109</b>	
<b>ESR1X</b>	<b>XX</b>	<b>Xx</b>	<b>xx</b>	<b>X</b>	<b>x</b>	<b>P</b>	
Kontrol(39)	5	18	16	0,359	0,641	0,986	0,354
Hasta (9)	2	4	3	0,444	0,556	0,764	
<b>Toplam</b>	<b>7</b>	<b>22</b>	<b>19</b>	<b>0,375</b>	<b>0,625</b>	<b>0,878</b>	
<b>VDR B</b>	<b>BB</b>	<b>Bb</b>	<b>bb</b>	<b>B</b>	<b>b</b>	<b>P</b>	
Kontrol(34)	4	20	10	0,412	0,588	0,211	0,387
Hasta (10)	2	5	3	0,450	0,550	0,975	
<b>Toplam</b>	<b>6</b>	<b>25</b>	<b>13</b>	<b>0,420</b>	<b>0,580</b>	<b>0,271</b>	
<b>VDR F</b>	<b>FF</b>	<b>Ff</b>	<b>ff</b>	<b>F</b>	<b>f</b>	<b>P</b>	
Kontrol(37)	20	13	4	0,716	0,284	0,409	0,388
Hasta(10)	5	5	0	0,750	0,250	0,292	
<b>Toplam</b>	<b>25</b>	<b>18</b>	<b>4</b>	<b>0,723</b>	<b>0,277</b>	<b>0,768</b>	

#### 4.4. Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar vertebral KMY Üzerine etkileri

Burada yapılan değerlendirmelerde çalışma kapsamındaki bireylerin ölçülebilen KMY değerleri (g/cm<sup>2</sup>) ile analiz yapıldığı için çalışma grubundaki kontrol ve hasta gruplandırması yapılmamıştır. Çalışma kapsamındaki 188 kişinin Gen polimorfizmlerinin femoral ve lumbar vertebral KMY üzerine etkileri için 188 kişiden elde edilen sonuçlar istatistiksel değerlendirilmiştir. Bireylerin her gen için 3 farklı polimorfizminden hangisine sahip oldukları belirlenerek, farklı polimorfik yapıdakilerin kemik mineral yoğunlukları arasındaki farklılığın olup olmadığı Regresyon Analizi ile değerlendirilmiştir. Bu analiz sonucu elde edilen p değerleri Tablo 4.9’da belirtilmiştir. Değerlendirme sonucunda  $p \leq 0,05$  ise majör etkili  $0,05 < p \leq 0,1$  ise minör etkili olarak kabul edilmiştir. VDR B gen polimorfizmlerinin Femur kemik yoğunlunu yüksek derecede anlamlı olarak etkilediği ( $p \leq 0,05$ ), yani majör faktörlerden olduğu; VDR F polimorfizminin ise sınırda anlamlı olarak etkilediği ( $0,05 < p \leq 0,1$ ), yani minör faktörlerden olduğu görülmüştür. VDR B ve VDR F gen polimorfizmlerinin vertebral kemik yoğunluna etkilerinin anlamlı olmadığı görülmüştür.

**Tablo 4.9.** Çalışma kapsamındaki 188 kişinin farklı polimorfizmlerinin KMY üzerine etkilerinin regresyon analizi ile değerlendirilmesi.

Gen Adı	Farklı genotiplerin Femoral KMY değerleri için P	Farklı genotiplerin Lumbar vertebral KMY değerleri için P
Col1A1 (SS, Ss, ss)	0,597	0,758
CTR (AA, Aa, aa)	0,291	0,272
ESR1P (PP, Pp, pp)	0,223	0,444
ESR1X ( XX, Xx, xx)	0,500	0,144
VDRB (BB, Bb, bb)	<b>0,013</b>	0,142
VDRF (FF, Ff, ff)	<b>0,082</b>	0,132

Postmenapozal kadınlarda gen polimorfizmlerinin femoral ve lumbar vertebral KMY üzerine etkileri için menapozdaki 118 kadından farklı polimorfik yapıdakilerin kemik mineral yoğunlukları arasındaki farklılığın olup olmadığı regresyon analizi ile değerlendirilerek p değerleri Tablo 4.10’da belirtilmiştir. Değerlendirme sonucunda  $p \leq 0,05$  ise majör etkili  $0,05 < p \leq 0,1$  ise minör etkili

olarak değerlendirilmiştir. CTR ve VDRF gen polimorfizmlerinin femur kemik yoğunlunu sınırda anlamlı olarak etkilediği ( $0,05 < p \leq 0,1$ ), yani minör faktörlerden olduğu CTR polimorfizminin vertebral kemik yoğunluna sınırda anlamlı olarak etkilediği ( $0,05 < p \leq 0,1$ ), yani minör faktörlerden olduğu görülmüştür. Diğer genlerin femur ve vertebral KMY üzerine anlamlı etkilerinin olmadığı görülmüştür.

**Tablo 4.10.** 118 Postmenapozal kadında farklı polimorfizmlerinin KMY üzerine etkilerinin regresyon analizi ile değerlendirilmesi.

Gen Adı	Farklı genotiplerin Femoral KMY değerleri için P	Farklı genotiplerin Lumbar vertebral KMY değerleri için P
Col1A1 (SS, Ss, ss)	0,987	0,758
CTR (AA, Aa, aa)	<b>0,068</b>	<b>0,062</b>
ESR1P (PP, Pp, pp)	0,186	0,511
ESR1X (XX, Xx, xx)	0,238	0,302
VDRB (BB, Bb, bb)	0,433	0,339
VDRF (FF, Ff, ff)	<b>0,100</b>	0,140

Erkeklerde gen polimorfizmlerinin femoral ve lumbar vertebral KMY üzerine etkileri için 49 erkekte farklı polimorfik yapıda olanların kemik mineral yoğunlukları arasındaki farklılığın olup olmadığı regresyon analizi ile değerlendirilerek p değerleri Tablo 4.11’de belirtilmiştir. Değerlendirme sonucunda  $p \leq 0,05$  ise majör etkili,  $0,05 < p \leq 0,1$  ise minör etkili olarak kabul edilmiştir. VDRB gen polimorfizmlerinin femur kemik yoğunluğunu anlamlı olarak etkilediği ( $p \leq 0,05$ ) yani majör faktörlerden olduğu görülmüştür. Diğer genlerin femur ve vertebral KMY üzerine anlamlı etkilerinin olmadığı görülmüştür.

**Tablo 4.11.** Erkeklerde gen polimorfizmlerinin femoral ve lumbar vertebral KMY üzerine etkileri

Gen Adı	Farklı genotiplerin Femoral KMY değerleri için P	Farklı genotiplerin Lumbar vertebral KMY değerleri için P
Col1A1 (SS, Ss, ss)	0,559	0,386
CTR (AA, Aa, aa)	0,718	0,918
ESR1P (PP, Pp, pp)	0,124	0,964
ESR1X (XX, Xx, xx)	0,445	0,669
VDRB (BB, Bb, bb)	<b>0,033</b>	0,790
VDRF (FF, Ff, ff)	0,413	0,660

#### 4.4.1. COL1A1 Geninin KMY Üzerine Etkisi

Çalışmamızda COL1A1 geninin çalıştığımız toplam populasyonda postmenapozal kadınlarda ve erkeklerde ne femur KMY ne de lumbar vertebral KMY üzerine



istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. P değerleri 0,1 den büyük ( $p>0,1$ ) bulunmuştur.

#### **4.4.2. CTR Geninin KMY Üzerine Etkisi**

CTR Geninin 188 kişiden oluşan toplam çalışma grubu ve 49 kişilik erkek çalışma grubunda ölçüm yapılan KMY değerlerine etkisi anlamlı bulunmamıştır. Ancak postmenapozal kadınlarda hem femur hem de lumbar vertebra üzerinde anlamlı derecede etkili bulunmuştur.

Postmenapozal kadınlarda femur KMY değerleri üzerine minör etkisi ( $p=0,068$ ) olan CTR geninin farklı genotiplerindeki bireylerin femur KMY ortalamaları Tablo 4.12’de gösterilmiştir. AA genotipine sahip bireylerin KMY değerleri en yüksek ve aa genotipindekilerin en düşük ve heterozigotlarınkiler her ikisinin arasındadır. Dolayısıyla a alleleline sahip olmak osteoporozu karşı yatkınlığı göstermektedir.

Spinal (lumbar vertebra) KMY değerleri üzerine minör etkisi ( $p=0,062$ ) olan CTR geninin AA ve aa genotipine sahip bireylerin KMY değerleri heterozigot genotipe sahip olanlardan düşük olduğu Tablo 4.12’da görülmektedir. Dolayısıyla heterozigot olmak bireyleri osteoporozu karşı koruyucu hale getirmektedir. Diğer taraftan AA genotipindekilerin KMY değerlerinin aa olanlardan daha yüksek olması da A alleleline sahip olmanın da osteoporozdan koruyucu olduğu söylenebilir.

**Tablo 4.12.**Postmenapozal kadınlarda CTR geninin farklı genotiplerindeki femur ve lomber vertebral KMY ortalamaları

<b>Genotip</b>	<b>Femur KMY Ortalama <math>\pm</math>SD</b>	<b>Lomber Vertebra KMY Ortalama <math>\pm</math>SD</b>
AA (16)	0,881 $\pm$ 0,132	0,955 $\pm$ 0,169
Aa (48)	0,850 $\pm$ 0,153	0,996 $\pm$ 0,245
aa (53)	0,840 $\pm$ 0,171	0,908 $\pm$ 0,241
Total (117)	0,849 $\pm$ 0,174	0,950 $\pm$ 0,236

#### **4.4.3. ESR1P ve ESR1X Gen bölgesi Polimorfizmlerinin KMY Üzerine Etkisi**

Çalışmamızda ESR1P ve ESR1X gen bölgesi polimorfizmlerinin; çalıştığımız toplam popülasyonda, postmenapozal kadınlarda ve erkeklerde ne femur KMY ne de lomber vertebral KMY üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. P değerleri 0,1 den büyük ( $p>0,1$ ) bulunmuştur.

#### **4.4.4. VDRB ve VDRF Geninin KMY Üzerine Etkisi**

VDR B gen polimorfizmi 188 kişilik toplam çalışma grubu ve 49 kişilik erkek çalışma grubunda femur KMY değerlerini anlamlı olarak etkilerken bu iki grupta lomber vertebral KMY değeri üzerine ve Postmenapozal kadınlarda ise ne femur ne de lomber vertebral KMY üzerine anlamlı bir etkisi bulunamamıştır.

VDRF polimorfizmi 188 kişilik toplam çalışma grubunda ve postmenapozal 118 kadında femur KMY değerlerini sınırda anlamlı olarak etkilediği bulunmuştur. Erkeklerde p değeri 0,1’den büyük bulunmuştur.

#### **188 Kişilik Toplam Çalışma Grubunda VDRB Geninin KMY Üzerine Etkisi**

188 kişilik toplam çalışma grubunda Femur kemik yoğunlunu yüksek derecede anlamlı olarak etkileyen ( $p=0,013$ ) VDR B gen polimorfizmlerinden her birine (BB, Bb, bb) sahip olanların femur KMY ortalamaları Tablo 4.13’de gösterilmiştir. Buna göre BB veya bb homozigot olanların femur KMY değerleri düşük iken heterozigot

olanlarda yüksektir. VDRB geni heterozigositesi osteoporozaya karşı koruyucu bir faktördür.

**Tablo 4.13.** VDR B gen polimorfizmleri BB, Bb, bb olanların femur KMY ortalamaları

Genotip	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD
BB (24)	0,873 $\pm$ 0,195
Bb (80)	0,915 $\pm$ 0,152
bb (63)	0,888 $\pm$ 0,192
Total (167)	0,899 $\pm$ 0,174

### Erkek Çalışma Grubunda VDRB geninin KMY üzerine Etkisi

Erkeklerde Femur KMY değerleri üzerine majör etkisi ( $p=0,033$ ) olan VDRB geninin farklı genotiplerindeki bireylerin Femur KMY ortalamaları Tablo 4.14’de gösterilmiştir. bb genotipine sahip bireylerin KMY değerleri en yüksek (0,995 gr/cm<sup>2</sup>) ve BB genotipine sahip olanların KMY değerleri en düşük (0,888 gr/cm<sup>2</sup>) ve Bb heterozigotları her ikisinin arasındadır (0,986 gr/cm<sup>2</sup>). Dolayısıyla B alleleline sahip olmak osteoporozaya karşı yatkınlığa neden olurken b alleleline sahip olmak osteoporozaya karşı direnç oluşturmaktadır.

**Tablo4.14.** Erkeklerde VDRB geninin farklı genotiplerindeki bireylerin femur KMY ortalamaları

Genotip	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD
BB (6)	0,888 $\pm$ 0,298
Bb (25)	0,986 $\pm$ 0,145
bb (13)	0,995 $\pm$ 0,167
Total (44)	0,975 $\pm$ 0,176

### 188 Kişilik Toplam Çalışma Grubunda VDRF Geninin KMY Üzerine Etkisi

188 kişilik Toplam Çalışma grubunda Femur kemik yoğunluğunu sınırdan anlamlı olarak etkileyen yani minör faktörlerden olan ( $p=0,082$ ) VDRF polimorfizmlerinden FF genotipine sahip homozigot bireylerin, heterozigotlardan (Ff) ve ff homozigotlardan daha düşük femur KMY değerlerine sahip oldukları Tablo 4.15’de görülmektedir. Ayrıca ff homozigotlarla heterozigotların (Ff) femur KMY

değerlerinin birbirlerine çok yakın oldukları da önemlidir. Bu sonuçlar bize F allelini homozigot olarak taşıyanlarda osteoporozu yatkınlık olduğunu göstermiştir.

**Tablo 4.15.** VDR F gen polimorfizmleri Ff, Ff, ff olanların femur KMY ortalamaları

Genotip	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD
FF (111)	0,880 $\pm$ 0, 171
Ff (59)	0, 930 $\pm$ 0, 172
ff (12)	0, 928 $\pm$ 0, 141
Total (182)	0, 900 $\pm$ 0, 170

### Postmenapozal kadınlarda VDRF Geninin KMY Üzerine Etkisi

Postmenapozal kadınlarda Femur KMY değerleri üzerine minör etkisi ( $p=0,100$ ) olan VDRF geninin farklı genotiplerindeki bireylerin Femur KMY ortalamaları tablo 4.16'da gösterilmiştir. FF ve ff genotipine sahip bireylerin KMY değerleri heterozigotlarından düşüktür. Dolayısıyla heterozigot olmak bireyleri osteoporozu karşı koruyucu hale getirmektedir.

**Tablo 4.16.** VDRF geninin farklı genotiplerindeki bireylerin femur KMY ortalamaları

Genotip	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD
FF (74)	0,829 $\pm$ 0,168
Ff (34)	0,902 $\pm$ 0,139
ff (7)	0,843 $\pm$ 0,103
Total (115)	0,852 $\pm$ 0,159

### 4.5. KMY Değerlerine Gen Dışı Faktörlerin Etkileri

Toplam 188 kişiden oluşan çalışma grubunda KMY değerlerine gen dışı faktörlerin etkilerini değerlendirmek için çalışma kapsamındaki kişilerin KMY değerlerini genlerden başka etkileyebilecek faktörlerinin kemik mineral yoğunluklarını etkileyip etkilemediği regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Tablo 4.17'de yer alan cinsiyet ( $p=0,013$ ), yaş ( $p=0,004$ ), vücut kitle indeksi ( $p\leq 0,001$ ), ailede osteoporozlu kişinin bulunması ( $p=0,015$ ) ve düzenli beslenme ( $p=0,011$ ) lomber vertebral KMY

değerlerini anlamlı olarak etkilediği gösterilmiştir. Femoral KMY değerlerini ise yaş ( $p \leq 0,001$ ), vücut kitle indeksi ( $p \leq 0,001$ ) ve düzenli beslenme ( $p = 0,019$ ) anlamlı olarak etkilerken alkol içme ( $p = 0,099$ ) ve spor yapma ( $p = 0,058$ ) sınırda anlamlı ya da minör faktör olarak etkilediği bulunmuştur.

**Tablo 4.17.** Çalışma kapsamındaki 188 kişinin gen dışı özelliklerinin KMY üzerine etkilerinin regresyon analizi ile değerlendirilmesi.

Faktör	Farklı özelliklerin femoral KMY değerleri için P	Farklı özelliklerin lomber vertebral KMY değerleri için P
Cinsiyet	0,330	<b>0,013</b>
Yaş	<b>0,000</b>	<b>0,004</b>
Vücut Kitle İndeksi	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Ailede OP'li Varlığı*	0,589	<b>0,015</b>
Spor Yapma	<b>0,058</b>	0,116
Düzenli Beslenme	<b>0,019</b>	<b>0,011</b>
Sigara İçme	0,972	0,780
Alkol İçme	<b>0,099</b>	0,842
Gün Işığına Maruziyet	0,555	0,854

\*:OP: Osteoporoz

Menapozdaki 118 kişinin KMY değerlerini genlerden başka etkileyebilecek faktörlerin kemik mineral yoğunluklarını etkileyip etkilemediği regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Tablo 4.18'de yer alan yaş ( $p \leq 0,001$ ), vücut kitle indeksi ( $p \leq 0,001$ ) düzenli beslenme ( $p = 0,020$ ) ve alkol içme ( $p = 0,012$ ) femoral KMY değerlerini anlamlı olarak etkilerken, lomber vertebral KMY değerlerini yaş ( $p = 0,003$ ), vücut kitle indeksi ( $p \leq 0,001$ ) ve ailede osteoporozlu kişinin bulunması ( $p = 0,038$ ) anlamlı ve majör faktör olarak etkilediği bulunmuştur.

**Tablo 4.18.** Menapozdaki 118 kadının KMY değerlerini genlerden başka etkileyebilecek faktörlerin etkileri

Faktör	Farklı özelliklerin femoral KMY değerleri için P	Farklı özelliklerin Lomber vertebral KMY değerleri için P
Yaş	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>
Vücut Kitle İndeksi	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>
Ailede OP'li Varlığı*	0,486	<b>0,038</b>
Spor Yapma	0,295	0,578
Düzenli Beslenme	<b>0,020</b>	0,155
Sigara İçme	0,474	0,748
Alkol İçme	<b>0,012</b>	0,676
Gün Işığına Maruziyet	0,535	0,905

\*:OP: Osteoporoz

Kırkdokuz erkeğin KMY değerlerini genlerden başka etkileyebilecek faktörlerinin kemik mineral yoğunluklarını etkileyip etkilemediği regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Tablo 4.19’da yer alan yaş (p=0,029) ve sigara içme (p=0,050) Femoral KMY değerlerini anlamlı olarak etkilerken, lomber vertebral KMY değerlerini sadece ailede osteoporozlu olmasının sınırda anlamlı olarak etkilediği bulunmuştur.

**Tablo 4.19.** Kırkdokuz Erkeğin KMY değerlerine gen dışı faktörlerinin etkileri

Faktör	Farklı özelliklerin femoral KMY değerleri için P	Farklı özelliklerin lomber vertebral KMY değerleri için P
Yaş	<b>0,029</b>	0,626
Vücut Kitle İndeksi	0,477	0,802
Ailede OP’li Varlığı*	0,972	<b>0,079</b>
Spor Yapma	0,985	0,703
Düzenli Beslenme	0,508	0,692
Sigara İçme	<b>0,050</b>	0,416
Alkol İçme	0,306	0,658
Gün Işığına Maruziyet	0,423	0,916

\*:OP: Osteoporoz

#### 4.5.1. Cinsiyetin KMY Üzerine Etkisi

Regresyon analizinde cinsiyetin lomber vertebral KMY’yi etkilediği Tablo 4.20’de gösterilmişti (p=0,013). Kadın ve erkeklerin femur ve lomber vertebral KMY değerlerine bakıldığında erkeklerin hem lomber vertebral KMY ortalamalarının hem de femoral KMY ortalamalarının kadınlardan yüksek olduğu görülmektedir. Kadınla erkek arasında böyle bir fark olsa da regresyon analizinde lomber vertebral KMY arasındaki fark anlamlı iken femoral KMY farkı anlamlı olmadığı (p=0,330) ortaya çıkmıştır.

**Tablo 4.20.** Kadın ve erkeklerin ortalama femur ve lomber vertebral KMY değerleri

Cinsiyet	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lomber Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
Erkek (n=49)	0,976 $\pm$ 0,133	1,115 $\pm$ 0,170
Kadın (n=139)	0,871 $\pm$ 0,166	0,963 $\pm$ 0,246
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

#### 4.5.2. Yaşın KMY Üzerine Etkisi

##### Yaşın Toplam Çalışma Grubunda KMY Üzerine Etkisi

Yaş osteoporozda önemli bir faktördür. Hem femur hem de vertebral KMY değerlerini anlamlı olarak etkilemektedir [femur için ( $p=0,000$ ) vertebra için ( $p=0,004$ )]. Tablo 4.21’de görüldüğü gibi yaş ilerledikçe KMY değerleri düşerek osteoporoz riski artmaktadır.

**Tablo 4.21.** Yaş gruplarının ortalama KMY değerleri

Yaş Grubu	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
-49 Yaş (n=51)	1,000 $\pm$ 0,133	1,079 $\pm$ 0,219
50-59 Yaş (n=66)	0,926 $\pm$ 0,166	1,016 $\pm$ 0,180
60+ Yaş (n=71)	0,800 $\pm$ 0,141	0,936 $\pm$ 0,279
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

##### Yaşın Postmenapozal Kadınlarda KMY Üzerine Etkisi

Menapozdaki kadınların yaşı femur ( $p=0,000$ ) ve vertebral ( $p=0,003$ ) KMY değerlerini anlamlı olarak etkilemektedir. Menapozdaki kadınların yaşlarının artışı ile beraber KMY değerlerinde ciddi bir düşüş olduğu Tablo 4.22’de açıkça görülmektedir.

**Tablo 4.22.** Menapozdaki kadınların yaşlarına göre KMY değerleri

Yaş Grubu	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
-49 Yaş (n=15)	0,986 $\pm$ 0,120	1,075 $\pm$ 0,132
50-59 Yaş (n=43)	0,902 $\pm$ 0,147	0,977 $\pm$ 0,177
60+ Yaş (n=60)	0,779 $\pm$ 0,137	0,899 $\pm$ 0,275
TOPLAM (n=118)	0,850 $\pm$ 0,158	0,950 $\pm$ 0,235

##### Yaşın Erkeklerde KMY Üzerine Etkisi

Özellikle yaş faktörünün femoral KMY’yi etkilerken ( $p=0,029$ ) lumbar KMY’yi etkilememesi ( $p=0,626$ ) önemlidir. Tablo 4.23’e baktığımızda beklenildiği gibi yaş ilerledikçe KMY değerlerinin azaldığı görülmektedir.

**Tablo 4.23.** Erkek yaş gruplarına göre femur KMY değerleri

Yaş Grubu	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD
<49 Yaş (n=21)	1,026 $\pm$ 0,138
50-59 Yaş (n=17)	0,953 $\pm$ 0,216
60+ Yaş (n=11)	0,914 $\pm$ 0,109
TOPLAM (n=49)	0,976 $\pm$ 0,168

#### 4.5.3. Vücut Kitle indeksinin KMY Üzerine Etkisi

Vücut Kitle indeksi erkeklerde KMY değerlerini anlamlı olarak etkilemezken ( $p>0,05$ ), toplam çalışma grubunda ve postmenapozal kadınlarda anlamlı olarak etkili olmaktadır ( $p<0,05$ ).

#### Vücut Kitle indeksinin Toplam Çalışma Grubunda KMY Üzerine Etkisi

Vücut Kitle indeksi de KMY yi etkileyen faktörlerden biridir. Femoral ( $p=0,000$ ) KMY ve lomber vertebral KMY değerlerinin ( $p=0,000$ ) her ikisi de VKİ'den anlamlı şekilde etkilenmektedir. Tablo 4.24'ye bakıldığında VKİ arttıkça KMY değerlerinin de arttığı görülmektedir.

**Tablo 4.24.** Vücut kitle indeksine göre ortalama KMY

Vücut Kitle İndeksi	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lomber Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
<25(n=58)	0,859 $\pm$ 0,152	0,910 $\pm$ 0,282
25-30(n=79)	0,906 $\pm$ 0,172	0,998 $\pm$ 0,168
30+ (n=51)	0,933 $\pm$ 0,176	1,116 $\pm$ 0,233
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

#### Vücut Kitle indeksinin Postmenapozal Kadınlarda KMY Üzerine Etkisi

Menapozdaki kadınlarda Vücut Kitle indeksi KMY'yi anlamlı [femur için ( $p=0,001$ ) vertebra için ( $p=0,000$ )] olarak etkilemektedir. Vücut kitle indeksi arttıkça KMY'nin de artış gösterdiği Tablo 4.25'de görülmektedir.



**Tablo 4.25.** Menapozdaki kadınların vücut kitle indeksine göre KMY değerleri

Vücut Kitle İndeksi	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
<25(n=34)	0,798 $\pm$ 0,141	0,831 $\pm$ 0,255
25-30(n=49)	0,852 $\pm$ 0,149	0,942 $\pm$ 0,171
30+ (n=35)	0,897 $\pm$ 0,174	1,076 $\pm$ 0,234
TOPLAM (n=118)	0,850 $\pm$ 0,158	0,950 $\pm$ 0,235

#### 4.5.4. Ailesinde Osteoporozlu Bulunması

Ailesinde osteoporozlu bireyin bulunması erkeklerin KMY değerlerini minor faktör olarak etkilerken ( $0,05 < p < 0,1$ ), toplam çalışma grubunda ve postmenapozal kadınlarda major faktör olarak etkili olmaktadır ( $p < 0,05$ ).

#### Ailesinde Osteoporozlu Bulunması Toplam Çalışma Grubunda KMY Üzerine Etkisi

Ailesinde osteoporozlu bulunan ve bulunduğunu bilen 40 kişinin femur KMY değerleri ailesinde osteoporoz olmayanların değerleri birbirine yakın iken lumbar vertebralarının KMY değerleri ailesinde osteoporoz olanlarda anlamlı derecede düşüktür ( $p=0,018$ ). Bu durum Tablo 4.26’da görülmektedir.

**Tablo 4.26.** Ailesinde osteoporozlu bulunan ve bulunmayanların ortalama KMY değerleri

Ailede OP’li Varlığı*	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
Yok (n=148)	0,894 $\pm$ 0,175	1,021 $\pm$ 0,244
Var (n=40)	0,915 $\pm$ 0,146	0,934 $\pm$ 0,202
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

\*:OP: Osteoporoz

#### Ailesinde Osteoporozlu Bulunması Postmenapozal Kadınlarda KMY Üzerine Etkisi

Tablo 4.27’de görüldüğü gibi ailesinde osteoporozlu birey bulunan 27 kişinin lumbar vertebral KMY değerleri ailesinde osteoporozlu hasta bulunmayanlardan anlamlı derecede düşüktür ( $p=0,038$ ).

**Tablo 4.27.** Menapozdaki kadınlarda ailesinde osteoporozlu hasta bulunan ve bulunmayanların lumbar vertebral KMY değerleri

Ailede OP'li Varlığı	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
Yok (n=91)	0,967 $\pm$ 0,237
Var (n=27)	0,890 $\pm$ 0,222
TOPLAM (n=118)	0,950 $\pm$ 0,235

\*:OP: Osteoporoz

#### 4.5.5. Düzenli Spor Yapma

Düzenli spor yapma femur KMY değerlerini etkileyen minör ( $p=0,058$ ) faktörlerdendir. Tablo 4.28'de görüldüğü gibi bizim çalışmamızda düzenli spor yapanların KMY değerleri daha düşük olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.28.** Düzenli spor yapan ve yapmayanların ortalama KMY değerleri

Düzenli Spor Yapma	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
Hayır (n=160)	0,899 $\pm$ 0,176	1,005 $\pm$ 0,250
Evet (n=28)	0,895 $\pm$ 0,123	0,992 $\pm$ 0,156
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

#### 4.5.6. Düzenli Beslenme

Ailesinde osteoporozlu bulunması erkeklerin KMY değerlerini anlamlı olarak etkilemezken ( $p>0,05$ ), toplam çalışma grubunda ve postmenapozal kadınlarda anlamlı olarak etkili olmaktadır ( $p<0,05$ ).

#### **Düzenli Beslenmenin 188 Kişilik Toplam Çalışma Grubunda KMY Üzerine Etkisi**

Tablo 4.29'da düzenli beslenmenin osteoporoz oluşmasını geciktirdiği ve düzenli beslenenlerin hem femoral hem de lumbar vertebral KMY değerleri düzenli beslenmeyenlerden daha yüksek olduğu görülmektedir ( $p=0,011$  ve  $0,019$ ).

**Tablo 4.29.** Düzenli beslenen ve beslenmeyenlerin KMY değerleri

<b>Düzenli Beslenme</b>	<b>Femur KMY Ortalama <math>\pm</math>SD</b>	<b>Lumbar Vertebra KMY Ortalama <math>\pm</math>SD</b>
Hayır (n=151)	0,895 $\pm$ 0,172	0,996 $\pm$ 0,247
Evet (n=37)	0,913 $\pm$ 0,157	1,031 $\pm$ 0,200
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

### **Düzenli Beslenmenin Postmenapozal Kadınlarda KMY Üzerine Etkisi**

Tablo 4.30’da görüldüğü gibi düzenli beslenen ve beslenmesine dikkat eden menapozdaki kadınların femoral KMY değerleri anlamlı (p=0,020) derecede yüksektir.

**Tablo 4.30.** Düzenli beslenmelerine göre menapozdaki kadınların femoral KMY değerleri

<b>Düzenli Beslenme</b>	<b>Femur KMY Ortalama <math>\pm</math>SD</b>
Hayır (n=94)	0,835 $\pm$ 0,164
Evet (n=24)	0,908 $\pm$ 0,118
TOPLAM (n=118)	0,850 $\pm$ 0,158

### **4.5.7. Sigaranın KMY Üzerine Etkisi**

Erkeklerde femoral KMY değerlerini etkileyen diğer bir faktörde sigara içmedir (p=0,050). Tablo 4.31’de sigara içenlerin femoral KMY değerleri içmeyenlerden düşük olduğu görülmektedir.

**Tablo 4.31.** Erkeklerde sigara faktörüne göre femoral KMY değerleri

<b>Sigara İçme</b>	<b>Femur KMY Ortalama <math>\pm</math>SD</b>
Hayır (n=31)	0,986 $\pm$ 0,183
Evet (n=18)	0,958 $\pm$ 0,141
TOPLAM (n=49)	0,976 $\pm$ 0,168

### **4.5.8. Alkol içmenin KMY Üzerine Etkisi**

Alkol KMY değerlerini erkeklerde anlamlı olarak etkilemezken toplam çalışma grubunda minor faktör olarak ve postmenapozal kadınlarda major faktör olarak anlamlı olarak etkili olmaktadır.

## Alkolün 188 Kişilik Toplam Çalışma Grubunda KMY Üzerine Etkisi

Tablo 4.32’de görüldüğü gibi alkol içme femoral KMY değerlerini etkileyen minör faktörlerdendir. KMY değerleri alkol içenlerde daha yüksek bulunmuştur (p=0,099).

**Tablo 4.32.** Alkol içen ve içmeyenlerin KMY değerleri

Alkol İçme	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD	Lumbar Vertebra KMY Ortalama $\pm$ SD
Hayır (n=174)	0,885 $\pm$ 0,162	0,993 $\pm$ 0,244
Evet (n=14)	1,067 $\pm$ 0,163	1,126 $\pm$ 0,087
TOPLAM (n=188)	0,899 $\pm$ 0,169	1,003 $\pm$ 0,238

## Alkolün Postmenapozal Kadınlarda KMY Üzerine Etkisi

Tablo 4.33’ da görüldüğü gibi alkol kullanan bir kişinin Femur KMY değeri kullananlardan anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (p=0,012).

**Tablo4.33.** Alkol kullanımına göre menapozdaki kadınların femoral KMY değerleri

Alkol İçme	Femur KMY Ortalama $\pm$ SD
Hayır (n=117)	0,846 $\pm$ ,153
Evet (n=1)	1,296
TOPLAM (n=118)	0,850 $\pm$ 0,158

## 4.5.9. Gün Işığında Kalmanın KMY Üzerine Etkisi

Çalışmamızda gün ışığına maruz kalmanın toplam çalışma grubunda, postmenapozal kadınlarda ve erkeklerde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır. Her üç çalışma grubunda da hem femur hem lumbar vertebral KMY üzerine etkisi için P değeri 0,1’den büyüktür (P>0.1).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi, kemik mikro mimarisindeki değişiklikler ve sonucunda kemik kırılabilirliği ve kırık riskinde artışla karakterize sistemik bir hastalıktır (Kanis ve ark., 1994). Kemik kütesinin korunmasında en önemli faktörler genetik, hormonal durum, beslenme, kemiğe mekanik yüklenme ve yaşam şeklidir (Joseph ve Edward, 1996). Osteoporoz sık görülen, tedavi ve rehabilitasyon süreci külfetli ve uzun süre alan bir hastalıktır, dolayısıyla, korunma yöntemleri ve risk faktörleri oldukça önemlidir (Melton, 1995; Nelson, 2002; Raisz, 2005).

### 5.1. Klinik ve Tanımlayıcı Özellikler

Osteoporozun genetiği ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında (Gennari, 1998; Bulca, 2010), çalışma grubu olarak belirlediğimiz kadın ve erkeklerde saptanan klinik ve tanımlayıcı özellikler diğer araştırmacıların kriterleri ve bulguları ile uyumludur. Hasta ve kontrol grubu olarak değerlendirildiğinde hastaların yaş ortalamasının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu da yaşın osteoporoz oluşumunda önemli bir faktör olduğunun göstergesidir. Vücut Kitle indeksi kontrol grubunda yüksek olması da vücut ağırlığının osteoporozla karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Yaş, VKİ, beslenme ve diğer klinik ve tanımlayıcı özelliklerin KMY üzerine etkileri 5.5. numaralı “KMY Değerlerine Gen Dışı Faktörlerin Etkilerinin Değerlendirilmesi” başlığı altında tartışılmıştır.

### 5.2. Genomik DNA Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Genomik DNA, Clinical Arrays® MetaBone (Genomica, Spain) DNA analiz kiti kullanılarak, periferik venöz tam kan örneklerinden elde edildi. Firma tarafından sağlanan kit ile PCR da amplifikasyon yapıldı. Bu işlemler literatürde de belirtilen basamaklar takip edilerek yapıldı. Cihazın Analitik hassasiyeti firma tarafından sekanslama ile kontrol edilmiş COL1A1-Sp1 genotipi için % 95; VDRB-BsmI genotipi için % 97,2; VDRF-FokI genotipi için % 100; ESR1X-XbaI genotipi için

% 97,1; ESR1P-PvuII genotipi için % 97,6 ve CTR-AluI genotipi için % 99 bulunmuştur. Tanısal hassasiyet ise literatürle desteklenmiştir (Palomba ve ark., 2003a; Palomba ve ark., 2003b; Morrison ve ark., 1994; Ferrari ve ark.; Coleman ve ark., 1996; Mann ve Ralston, 2003; Kobayashi ve ark., 1996; Salmen ve ark., 2000; Masi ve ark., 1998; Braga ve ark., 2000 )

### **5.3. Çalışılan Genler ve Çalışma Gruplarının Allel Frekansları**

#### **Çalışma Grubundaki 188 kişiye ait 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları**

Çalıştığımız 188 kişilik grupta hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımlarının her gen bölgesi için ayrı ayrı Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olup olmadıkları  $X^2$  testi ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonunda elde edilen p değerleri ESR1P geni için 0,05'ten küçük ( $p < 0,05$ ), ESR1X geni için hasta ve kontrol gruplarının p değerleri ayrı ayrı 0,05'ten büyük ( $p > 0,05$ ) ancak toplam çalışma grubunun p değeri 0,05'ten küçüktür ( $p < 0,05$ ). COL1A1, CTR, VDRB ve VDRF genleri için hem hasta hem de kontrol gruplarının p değerleri 0,05'ten büyüktür ( $p > 0,05$ ). Bu da bize seçilen çalışma grubunun genotip dağılımının Hardy-Weinberg yasasına büyük oranda uygun olduğunu göstermektedir. Bandres ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada, ESR1X geni için allel frekansları hesaplanmış p değerlerinin 0,05'ten küçük ( $p = 0,000$ ) bulunmuştur. Aynı çalışmada COL1A1, VDR ve CTR genlerinin allel frekansları 0,05'ten büyük ( $p > 0,05$ ) bulunmuştur. Sonuçlarımız literatürle uyumludur (Bandres ve ark., 2005).

Tablo 5.1'de Bandres ve arkadaşlarının (2005) bulduğu allel frekansları ile bizim bulduğumuz allel frekansları karşılaştırılmıştır. Gen frekanslarının ne kadar yakın olduğu açıkça görülmektedir.

Hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu testle hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları arasındaki farkın önemliliği için elde edilen p değerleri COL1A1, CTR, ESR1P, ESR1X, VDRB ve VDRF gen polimorfizmlerinin

tamamında 0,05'ten büyüktür. Buna göre hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları arasında anlamlı bir fark yoktur. Adana bölgesinde ESR1P, ESR1X genleri ile yapılan bir çalışmada bizimle aynı sonuç elde edilmiştir (Bulca, 2010).

Çalıştığımız genlerin KMY üzerine etkilerini belirlemede hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları karşılaştırılmasında osteoporoz olan hastalar için T-skoru -2,5 ve altında ve kontroller için T-Skoru -2,5'in üstünde olmak üzere iki değer kullanılmıştır. Oysa çalışmadaki her bireyin kendine ait femoral ve lumbar vertebral KMY ölçüm değerlerinin genotip yapısından nasıl etkilendiğini göstermek için her bir gen için ayrı ayrı olmak üzere genotipleri ile femoral ve lumbar vertebral KMY ölçüm değerlerini ayrı ayrı karşılaştırmak daha anlamlı olacaktır. Literatürde de (Grant ve ark., 1996; Braga ve ark., 2002; Khosla ve ark., 2004; Bandrés ve ark., 2005; Bustamante ve ark., 2007) KMY değerleri ile genotiplerin ilişkisi incelenmiştir. Bizim çalışmamızda da genotiplerin femoral ve lumbar vertebral KMY ölçüm değerleri ile ilişkisi regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Genotiplerin KMY üzerine etkilerinin anlamlılık testleri (regresyon analizi) sonuçları 5.4 numaralı "Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri" başlığı altında tartışılmıştır.

**Tablo 5.1.** Bizim çalışma grubumuzun allel frekansları ile Bandres ve arkadaşlarının (2005) allel frekanslarının karşılaştırılması

	Bizim Allel Frekansları		Bandres ve ark. Allel Frekansları	
	S	s	S	s
COL1A1	0,776	0,224	0,744	0,256
CTR	A	a	A	a
	0,396	0,604	0,324	0,676
ESR1P	P	p	P	p
	0,511	0,489	0,523	0,477
ESR1X	X	x	X	x
	0,375	0,625	0,413	0,587
VDR B	B	b	B	b
	0,420	0,580	0,448	0,552
VDR F	F	f	F	f
	0,723	0,277	0,621	0,379

### **Postmenapozal Kadınlarda Çalıştığımız 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları**

Çalışma grubundaki 118 postmenapozal kadının genotipleri ve allel frekanslarının dağılımı Hardy-Weinberg dengesi ile  $X^2$  testi ile karşılaştırılmıştır. Bulunan P değerleri ESR1P geni için 0,05'ten küçük ( $p < 0,05$ ), ESR1X geninde ise kontrol grubunda 0,05'ten küçük iken hasta grubunda büyüktür. COL1A1, CTR, VDRB ve VDRF genleri için hem hasta hem de kontrol gruplarının p değerleri 0,05'ten büyüktür ( $p > 0,05$ ). Buna göre postmenapozal kadınların da genotip dağılımının Hardy-Weinberg yasasına büyük oranda uygun olduğunu söyleyebiliriz. Burada bulunan değerler hem toplam çalışma grubu (188 kişiden oluşan çalışma grubu) hem de literatürle uyumludur (Bandres, 2005).

Postmenapozal kadınlarda hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanılarak karşılaştırıldığında elde edilen P değerlerinin 0,05'den büyük olması aralarında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. Genotiplerin KMY üzerine etkilerinin anlamlılık testleri sonuçları ile beraber 5.4 numaralı "Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri" başlığı altında tartışılmıştır.

### **Erkeklerde Çalıştığımız 6 Gen Bölgesinin Allel Frekansları**

Çalışma grubundaki 188 kişinin 49 (%26,1) u erkeklerden oluşmaktadır. Erkeklerdeki allel frekansları ve genotipler, Hardy-Weinberg dağılımında beklenen değerler ile uygunluğu  $X^2$  testi ile değerlendirilmiştir. COL1A1, CTR, ESR1P, ESR1X, VDRB ve VDRF genlerinin 6 gen bölgesi için bulunan p değerlerinin tamamı 0,05 ten büyüktür ( $p > 0,05$ ). Bu sonuçlara göre Allel frekansları ve genotip dağılımının Hardy-Weinberg yasasına tamamen uygun olduğunu söyleyebiliriz

Erkeklerde hasta ve kontrol gruplarının allel frekansları bağımsız iki örneklem t testi (Independent Samples T test) kullanılarak karşılaştırıldığında elde edilen P değerlerinin 0,05'ten büyük olması aralarında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. Genotiplerin KMY üzerine etkilerinin anlamlılık testleri sonuçları ile



beraber 5.4 numaralı “Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri” başlığı altında tartışılmıştır.

#### **5.4. Gen Polimorfizmlerinin Femoral ve Lumbar Vertebral KMY Üzerine Etkileri**

COL1A1, CTR, ESR1P, ESR1X, VDRB ve VDRF genlerinin her biri için ayrı ayrı olmak üzere genotipleri ile femoral ve lumbar vertebral KMY ölçüm değerlerini ayrı ayrı Regresyon analizi ile değerlendirdik. Bu değerlendirmeyi 188 kişiden oluşan toplam çalışma grubunda; 118 kişiden oluşan postmenapozal kadınlarda ve erkeklerde ayrı ayrı gerçekleştirdik.

##### **5.4.1. Kollajen1 $\alpha$ 1 (COL1A1) Geni**

Isparta ve çevresinde yaşayan 188 kişinin katıldığı çalışmamızdaki kişilerin 49 u erkek 139 kadınlarda oluşurken, kadınların da 118’i postmenapozal ve 21’i ise menapozda olmayan kadınlardan oluşmaktadır. COL1A1 geni dahil çalıştığımız bütün genler için önce toplam popülasyonda; sonra sadece postmenapozal kadınlarda ve en son olarak sadece erkeklerde ayrı ayrı değerlendirme yaptık. Ancak COL1A1 geni polimorfizminin femur ve lumbar vertebral KMY değerlerine herhangi bir etkisinin olmadığını bulduk. Bulduğumuz bu sonuç Braga ve arkadaşlarının (2002) İtalya’ da 253 erkek (yaş ortalamaları 58,41) ile yaptıkları çalışma ile uyumludur. Bu çalışmada osteoporoz için aday genlerden en önemlilerinden COL1A1, VDR ve CTR genlerinin lumbar spinal ve femur boynu kemik mineral yoğunluğu üzerine etkilerini araştırmışlar; COL1A1 ile VDRF ve VDRB genleri ile KMY arasında bir ilişki saptamazken KMY ile CTR geni arasında bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir (Braga ve ark., 2002).

2000 yılında McGuigan ve arkadaşları COL1A1 geninin Sp1, Msp1 RsaI ve MnlI olmak üzere 4 bölge polimorfizmini çalışmışlar ve kendilerinden önceki 1999’daki Sowers ve arkadaşların ve 1998’deki Willing ve arkadaşlarının çalışmalarını destekler biçimde çalıştıkları hiçbir polimorfizmin osteoporozla ilişkili olmadığını bulmuşlardır. Ancak Sp1 polimorfizminin osteoporotik kırıklar ile ilişkili

olabileceğini bulmuşlardır (Willing, 1998; Sowers, 1999; McGuigan, 2000). Bu sonuçlarda bizim sonuçlarımızı desteklemektedir.

Bandrés ve arkadaşları İspanyol postmenapozal kadınlarda 2005 yılında KMY ile COL1A1, VDR, CTR ve ESR genlerinin ilişkisini incelemişler COL1A1 ve ESR geni ile KMY arasında bir ilişki bulamamışlardır. Ancak COL1A1 geni osteoporotik kırık oluşum prevalansı ile ilişkili bulunmuştur. VDRF polimorfizmleri içinde FF genotipine sahip bireyler en yüksek Ff olanlar ara ve ff olanlarsa en düşük KMY ye sahip olarak bulunmuştur. Ancak VDRB polimorfizminleri ile KMY arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. CTR gen polimorfizmi femur KMY ile ilişkili bulunmuştur (Bandrés ve ark., 2005)

Helen ve arkadaşları 2006 yılında KMY ile 13 genetik loküsün ilişkisini araştırmışlar bu genlerin içinde yer alan COL1A1, VDR ve ESRP ve ESRX genlerinden ESRX in vertebral KMY yi etkilediği COL1A1, VDR ve ESRP genlerinin ne femur nede vertebrayı etkilemediği sonucuna varmışlardır (Helen ve ark., 2006).

Bizim çalışmamızla aynı sonucu bulan çalışmalardan biri de 2002 yılında Barros ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Barros ve arkadaşları 220 kadın ile Brezilya'da yaptıkları çalışmada COL1A1 gen polimorfizmleri ile femur ve lumbar vertebral KMY arasında herhangi bir ilişki bulamamıştır. Benzer sonuçlar Danimarka'da Heegaard ve arkadaşları tarafından da bulunurken, bu sonuçlar Berg ve arkadaşları ile Liden ve arkadaşları tarafından da desteklenmiştir (Liden ve ark., 1998; Berg ve ark., 2000; Heegaard ve ark., 2000; Barros ve ark., 2002)

Bizim COL1A1 geni ile ilgili sonucumuzun destekleyen bu yayınlar yanında çalışmamıza başlarken COL1A genini de çalışmamıza dahil etmemizde etkisi olan bazı çalışmalarda KMY ile COL1A1 gen polimorfizminin ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bunlardan biride bizimle aynı sonucu bulan merkezde Braga ve arkadaşları tarafından 2000 yılında İtalya da 663 postmenapozal ve 52 perimenapozal kadının lumbar vertebral ve femur KMY değerleri ile COL1A1, VDR

ve CTR genlerinin ilişkisini inceledikleri çalışmadır. Bu çalışmada COL1A1 geninin femur KMY değerlerini etkilediğini bulmuşlardır. KMY değerlerinin SS genotipli kişilerde en yüksek ve ss olanlarda ise en düşük bulunmuştur. Ancak bu etkinin hayatın altıncı dekatına kadar görülmediğini yaş ilerledikçe etkinin belirginleştiği hatta 70 yaşından sonra lumbar vertebral KMY değerlerine etkisi bile anlamlı hale gelmektedir. CTR geninin genç kadınlarda daha etkili olduğunu dolayısıyla CTR genotiplerinin yaşla beraber kemik kaybından çok doruk kemik kütlelerinin oluşumunda etkili olduğunu söylemişlerdir. KMY değerleri ile VDR genotipleri arasında herhangi bir ilişki olmadığını söylemişlerdir (Braga ve ark., 2000). Bu çalışmada COL1A1 geninin KMY üzerine 60 yaşından önce etkili olmadığı, ancak 60 yaşından sonra etkili olduğu bulunmuştur. Bizim çalışma grubu toplamında yaş ortalamasının  $56,5 \pm 10,8$  olduğu göz önüne alınırsa bizim sonucumuzla Braga ve arkadaşlarının sonucunun da uyumlu olduğu söylenebilir.

COL1A1 Geni Sp1 polimorfizminin osteoporozla ilişkili olduğu hakkında ilk yayınlardan biri Grant ve arkadaşlarına aittir. Grant ve arkadaşları (1996) İngiltere’de kadınlarda Sp1 polimorfik bölgesi G/T olan heterezigotların (Ss) G/G homozigotlardan (SS) anlamlı derecede düşük kemik mineral yoğunluğu (KMY) sahip ve T/T homozigotlarında (ss) kemik mineral yoğunluğu düşük olduğunu buldular. Grant ve arkadaşlarından sonra, 1998 de Uitterlinden ve arkadaşları çalışmalarında SS genotipli 1194 kadına göre kemik mineral yoğunluklarının 526 Ss genotipli kadının femur boynunda ve lumbar omurda % 2 daha düşük; ss genotipli 58 kadının femur boynunda % 4 ve lumbar omur da % 6 düşük olduklarını tespit etmişlerdir. Bu fark yaşla birlikte daha da artmaktadır. Vertebra dışı kırığı olan 111 kadın arasında Ss ve ss genotipine sahip kadınların daha fazla bulunduğu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak COL1A1 polimorfizminin azalmış kemik yoğunluğu ile ilişkili olduğunu ve osteoporotik kemik kırıklarına yatkınlığı artırdığına karar vermişlerdir (Uitterlinden ve ark., 1998).

1999 da Keen RW ve arkadaşları En az bir “s” alleli taşıyıcılığı lumbar omur kemik yoğunluğunun belirgin düşüşle ve kırık toplamıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Keen ve ark., 1999).

1999 da Sainz ve arkadaşları erken çocukluk döneminde Kollajen tip I a1 gen polimorfizmi ile kemik yoğunluğunun ilişkisini incelemişlerdir. 109 sağlıklı prepubertal kızda COL1A1 gen polimorfizmi ve vertebral kemik yoğunluğu ölçülmüştür. 22 Ss ve bir ss genotipli kız SS genotipli kızlardan yaklaşık % 6.7 ve % 49.4 daha düşük vertebral kemik yoğunluğuna sahip oldukları bulunmuştur (Sainz ve ark., 1999).

Türkiye’de Şimşek ve arkadaşlarının 2008’deki COL1A1 Sp1 polimorfizmlerinin hastalarda hormon replasman tedavisinin kemik mineral yoğunluğu üzerine etkisinin değerlendirilmesi amacı ile yaptıkları çalışmalarında, COL1A1 Sp1 bağlanma bölgesi polimorfizmi sonuçları 79 (% 71,2) kişi SS, 30 (% 27,0) Ss ve 2 (% 1,8) kişi ss için homozigot olarak bulunmuştur. Ss heterozigot kişilerin SS olanlarla karşılaştırıldığında Ss genotipine sahip kişilerin hem lumbar spine hem de femur boynunda düşük BMD değerlerinin olduğu bulunmuştur (Şimşek ve ark., 2008).

#### **5.4.2. Kalsitonin Reseptör Geni (CTR)**

Osteoklastların yüzeyinde yerleşen kalsitonin reseptörlerinin (CTR) aktivasyonu adenilsiklazı uyarır ve osteoklastik kemik resorpsiyonunda bir düşüğe yol açar. CTR geni için Çalışma yaptığımız Isparta ve çevresinde yaşayan 188 kişilik toplam popülasyonda ve 49 kişilik erkeklerde yapılan değerlendirmede; CTR polimorfizmleri ile KMY değerleri arasında herhangi bir ilişki saptamazken 118 kişilik postmenapozal kadında CTR gen polimorfizminin femur ( $p=0,068$ ) ve vertebral ( $p=0,062$ ) kemik yoğunluğuna sınırda anlamlı olarak etkilediği görülmüştür.

Postmenapozal grupta femoral bölge için AA genotipine sahip bireylerin KMY değerleri en yüksek ve aa genotipindekilerin en düşük ve heterozigotlarınkiler (Aa) her ikisinin arasındadır. Dolayısıyla a alleleline sahip olmak femoral osteoporozla karşı yatkınlığı göstermektedir. Spinal lumbar vertebra KMY değerleri üzerine minör etkisi ( $p=0,062$ ) olan CTR geninin AA ve aa genotipine sahip bireylerin KMY

değerleri heterozigotlarınkilerden düşüktür. Dolayısıyla heterozigot olmak bireyleri osteoporozla karşı koruyucu hale getirmektedir. Diğer taraftan AA genotipindekilerin KMY değerlerinin aa olanlardan daha yüksek olması da A alleleline sahip olmanın da osteoporozdan koruyucu ve a alleleline sahip olmaksın osteoporozla karşı yatkınlığa sebep olduğu söylenebilir.

Braga ve arkadaşları tarafından 2000 yılında İtalya'da 663 postmenapozal ve 52 perimenapozal kadının lumbar vertebral ve femur KMY değerleri ile CTR geninin ilişkisini inceledikleri çalışmada CTR geninin genç kadınlarda daha etkili olduğunu dolayısıyla CTR genotiplerinin yaşla beraber kemik kaybından çok doruk kemik kütesinin oluşumunda etkili olduğunu söylemişlerdir (Braga ve ark., 2000).

1998'de Masi ve arkadaşları çalıştıkları popülasyonda C/C (AA) genotipine sahip normal kadınların osteoporozlu kadınlara göre daha fazla olmalarına karşın, istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını rapor etmişlerdir. Bununla beraber, yapılan analizler T/T (aa) genotipine sahip kadınların lumbar BMD'lerinin C/C genotipine sahip kadınlarla karşılaştırıldığında daha düşük olduğunu göstermiştir (Masi ve ark., 1998).

Taboulet ve arkadaşları 1998 de CTR geni polimorfizmi ile osteoporotik kırığı olan ve olmayan kadınları karşılaştırmış heterozigotlarda femoral KMY'nin diğer iki heterozigotunda anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak heterozigotitenin osteoporozla karşı koruyucu olduğunu söylemişlerdir (Taboulet ve ark., 1998).

Braga ve arkadaşları 2002 yılında İtalya'da 253 erkek (yaş ortalamaları 58,41) ile yapılan çalışmada osteoporoz için aday genlerden CTR genlerinin lumbar spinal ve femur boynu kemik mineral yoğunluğu üzerine etkilerini araştırmışlar; KMY ile CTR geni arasında ilişki tespit etmişlerdir (Braga ve ark., 2002).

Bandrés ve arkadaşları İspanyol postmenapozal kadınlarda 2005 yılında KMY ile COL1A1, VDR, CTR ve ESR genlerinin ilişkisini incelemişler ve CTR gen polimorfizmi femur KMY ile ilişkili bulmuşlardır. Buldukları sonuç aa genotipine sahip olanların AA genotipine göre daha düşük KMY değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Tasi ve arkadaşları ile Zhang ve arkadaşları tarafından da benzer sonuçlar bulunmuştur (Zhang ve ark., 2001; Tasi ve ark., 2003; Bandrés ve ark., 2005).

#### **5.4.3. ESR1P ve ESR1X Geni**

Bizim çalışmamızda toplam popülasyonda; postmenapozal kadınlarda ve sadece erkeklerde ayrı ayrı yaptığımız değerlendirmede ESRX ve ESRP gen polimorfizmlerinin femur ve lomber vertebral KMY değerlerini etkilemediğini sonucuna vardık.

Bazı çalışmalarda ESR geni KMY ile ilişkili (Kobayash, 1996; Mizunuma,1997) iken bazılarında bu ilişki bulunamamıştır (Deng, 1999; Han, 1997; Ongphilphadhanaku, 1998; Gennari, 1998; Vandevyve 1999; Kim 2001).

Intron I deki Xba I ve Pvu II genotipleri ile pre ve post menapozdaki kadınların kemik kütleleri arasında Japon popülasyonunda bir ilişki bulunmuşsa da Belçika, Danimarka, İtalya ve Kore popülasyonlarında bir ilişki saptanamamış, Çin ve Amerikan popülasyonlarında bu enzimlerin kesim noktalarına ilişkin genotiplerde çelişkili sonuçlar alınmıştır. (Gennari ve ark., 2002; Rizzoli ve ark., 2001).

Bulca (2010) çalışmasında ise; osteoporozlu hastalarda xx genotipine sahip bireylerde femur boyun KMY değerinin, Xx genotipine sahip bireylerden daha yüksek olduğu saptanmış, sağlıklı kişilerde ise bir farklılık belirlenememiştir. Pvu II polimorfizmi ile ise femur boyun ve lomber KMY arasında bir ilişki saptanamamıştır (Bulca, 2010).

Bandrés ve arkadaşları İspanyol postmenapozal kadınlarda 2005 yılında KMY ile COL1A1, VDR, CTR, ve ESR genlerinin ilişkisini incelemişler ve COL1A1 ve ESR geni ile KMY arasında bir ilişki bulamamışlardır (Bandrés ve ark., 2005).

Khosla ve arkadaşları 2004 yılında, 22-90 yaş arası erkeklerde ESR gen polimorfizmi ile KMY ve kemik kaybı oranları arasındaki ilişkileri çalışmış, KMY değerlerinin ESR (XbaI ve PvuII) genlerinin fonksiyonu olarak değişmediği sonucuna varmıştır. Ancak xx veya pp genotipli erkekler göre X veya P alleleline sahip erkeklerin kemik kütlesi estrogen eksikliğine daha duyarlı olduğunu bildirmiştir (Khosla ve ark., 2004).

Lorentzon ve arkadaşları 1999 da 90 Kafkas erkekte ESR gen polimorfizmi ve estradiolün puberte ve sonrasındaki erkeklerde boy ve kemik yoğunluğu üzerine etkilerini araştırmışlardır. XbaI polimorfizminin total vücut KMY ve omurga KMY üzerine etkili ve PvuII polimorfizminin omurga KMY üzerine etkili olduğunu bulmuşlardır. ESRA polimorfizminin genç erkeklerde zirve kemik yoğunluğuna ulaşmayla ilgili olduğunu karar vermişler (Lorentzon ve ark., 1999).

Becherini ve arkadaşları 2000 yılında 610 postmenapozal kadında ESR1 geninin 1. intronunda PvuII ve XbaI polimorfizmi ile exon1 de (TA)<sub>n</sub> tekrarlarının KMY üzerine etkilerini araştırmışlar. Her ne kadar intron1 RFLP'ler ve KMY arasında anlamlı ilişki saptamasalar da TA tekrar varyant türevleri ile lumbar KMY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptamışlardır (Becherini ve ark., 2000).

Sowers ve arkadaşları (2004) ESR1 gen polimorfizmi ve kemik mineral dansite değişikliği ile ilgili 10 yıllık prospektif çalışmalarında; perimenapozal kemik kaybını ESR1 polimorfizminin istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilediği sonucuna varmışlardır (Sowers ve ark., 2004).

Tobias ve arkadaşları (2007) yaptıkları bir araştırma sonunda kızlarda puberte sonunda kemik gelişiminin ESR1 polimorfizmi ile yakından ilişkili olduğuna karar vermişlerdir (Tobias ve ark., 2007).

Xba I ve Pvu II polimorfizmlerinin intronda bulunması nedeni ile kemik kütlesi ve osteoporozla ilişkin moleküler mekanizması anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalarda bu tutarsızlıklar; düşük istatistiksel güce, etnik gruplar arasındaki varyasyonlara, yaşa, menapoz durumuna ve çevresel faktörlere bağlanabilir

#### **5.4.4. VDRB ve VDRF Geni**

VDR polimorfizmlerinin kemik mineral yoğunluğunu belirlemedeki etkileri hakkındaki çalışmalar çelişkilidir. Vitamin D'nin aktif formu kalsitriol, kemikteki osteokalsin proteininin sentezini sağlar. İkiz çalışmaları serum osteokalsin seviyesi farklılıklarının genetik bir temeli olduğunu (Kelly ve ark., 1991. ) bununda kemik yoğunluğu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Pocock ve ark., 1987). Morrison ve arkadaşları 1994 de VDR polimorfizmlerinin serum osteokalsin seviyesini etkilediğini göstermişlerdir (Morrison ve ark., 1994).

Bizim çalışmamızda 49'u erkek toplam 188 kişiden elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Farklı polimorfik yapıdaki bireylerin kemik mineral yoğunlukları arasındaki farklılığın olup olmadığı regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Bu analiz sonucu elde edilen p değerlerine göre VDR B gen polimorfizmlerinin femur kemik yoğunlunu yüksek derecede anlamlı olarak etkilediği ( $p=0,013$ ); ancak vertebral kemik yoğunluğuna etkilerinin anlamlı olmadığı görülmüştür. VDR B gen polimorfizmlerinden (BB, Bb, bb) her birine sahip olanların femur KMY ortalamalarına göre BB (0,873 gr/cm<sup>2</sup>) olanların femur KMY değerleri düşük iken heterozigot olanlarda (0,915 gr/cm<sup>2</sup>) en yüksektir. Homozigot bb (0,888 gr/cm<sup>2</sup>) genotipindekilerin arada ancak düşüğe yakın KMY değerlerine göre VDRB geni heterozigositesinin osteoporozla karşı koruyucu bir faktör olduğu veya BB homozigotların osteoporozla yatkın olduğu söylenebilir. Aynı



popülasyonun içindeki 49 erkekte VDRB gen polimorfizmlerinin femur kemik yoğunluğunu anlamlı olarak etkilediği ( $p=0,033$ ) VDRB geninin BB genotipindekilerin en düşük ( $0,888 \text{ gr/cm}^2$ ) bb genotipine sahip bireylerin KMY değerleri en yüksek ( $0,995 \text{ gr/cm}^2$ ) ve heterozigotları her ikisinin arasındadır ( $0,986 \text{ gr/cm}^2$ ). Dolayısıyla B alleleline sahip olmak erkeklerde osteoporozla karşı yatkınlığa neden olurken b alleleline sahip olmak osteoporozla karşı direnç oluşturmaktadır denilebilir. Diğer taraftan 118 postmenapozal kadında istatistik çalışmalara göre VDRB geninin KMY üzerine hiçbir etkisi yoktur. Burada önemli olan VDRB polimorfizminin femur KMY yi etkilediği halde spinal KMY yi etkilemediğidir.

Çalışma kapsamındaki toplam popülasyonun istatistik analizleri VDRF gen polimorfizminin femoral KMY değerlerini sınırda anlamlı ( $0,05 < p \leq 0,1$ ) olarak etkilediğini ancak vertebral kemik yoğunluğuna etkilerinin anlamlı olmadığını göstermiştir. FF polimorfizmlili bireylerin, Ff ve ff olanlardan daha düşük femur KMY değerlerine sahip oldukları ve ff homozigotlarla heterozigotların (Ff) femur KMY değerlerinin birbirlerine çok yakın oldukları da önemlidir. Bu sonuçlar bize FF homozigot genotipindeki bireylerde osteoporozla yatkınlık olduğunu göstermiştir. Menapozdaki 118 kadında VDRF gen polimorfizmlerinin femur kemik yoğunluğunu sınırda anlamlı olarak etkilediği ( $p=0,100$ ) VDRF geninin farklı genotiplerindeki bireylerin Femur KMY ortalamalarına göre FF ( $0,829 \text{ gr/cm}^2$ ) ve ff ( $0,843 \text{ gr/cm}^2$ ) genotipine sahip bireylerin KMY değerleri heterozigotlarındakilerden ( $0,902 \text{ gr/cm}^2$ ) düşüktür. Dolayısıyla heterozigot olmak bireyleri osteoporozla karşı koruyucu hale getirmekte ve FF polimorfizmine sahip olmaksızın bireyleri osteoporozla yatkın hale getirmektedir. Erkekler arasında ise VDRF polimorfizminin etkisinden bahsetmek mümkün olmamıştır.

Morison ve arkadaşları 1997'de VDR BB genotipinin düşük kemik mineral yoğunluğu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Morrison ve ark., 1997). Ancak Hustmyer ve arkadaşları 1994 yılında yaptıkları ikiz çalışmalarında kemik mineral yoğunluğu ile VDR polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (Hustmyer ve ark., 1994).

1996'da Houston ve arkadaşları, 1994'de Morison ve arkadaşlarının bulduklarının tersine BB genotiplilerin bb genotiplilerden daha yüksek femoral kemik mineral yoğunluğuna sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Diğer taraftan vertebral kompresyon kırığı olan ciddi osteoporozlu hastalarda VDR ile ilişkisi bulunamamıştır (Houston ve ark., 1996).

Garnero ve arkadaşları (1996) ile Ensrud ve arkadaşları (1999) VDR polimorfizmleri ile kemik mineral yoğunluğu ve kırık riski arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (Garnero ve ark., 1996; Ensrud ve ark., 1999).

Ferrari ve arkadaşları (1999); f alleli taşıyan BB homozigotların anlamlı derecede düşük kemik mineral yoğunluğuna sahip olduklarını bulmuşlardır (Ferrari ve ark., 1999). Gennari ve arkadaşları (1998); postmenapozal kadınlarda VDR polimorfizmleri ile lumbar vertebral kemik mineral yoğunluğu ve osteoporoz arasında bir ilişki bulmuşlardır (Gennari ve ark., 1998). Fang ve arkadaşları (2005) ile Garnero ve arkadaşları (2005) VDR genotipinin kemik mineral yoğunluğundan bağımsız olarak postmenapozal kadınlarda kırık riski ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Fang ve ark., 2005; Garnero ve ark., 2005).

2006 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada lumbar vertebra ve femur boyun kemik yoğunlukları veya kırık riskiyle VDR'nin FokI, BsmI, ApaI, veya TaqI polimorfizmleri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Uitterlinden ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalardaki bu tutarsızlıklar Bulca'nın söylediği gibi; düşük istatistiksel güce, etnik gruplar arasındaki varyasyonlara, yaşa, menapoz durumuna ve çevresel faktörlere bağlanabilir (Bulca, 2010)

## **5.5. KMY Değerlerine Gen Dışı Faktörlerin Etkilerinin Değerlendirilmesi**

### **5.5.1. Cinsiyetin KMY Üzerine Etkisi**

Melton ve arkadaşları 1998'de erkeklerin iskelet yüzeyi ve maksimum kemik kütlelerinin kadınlardakinden fazla olması, kemik kaybının daha geç başlaması ve daha yavaş ilerlemesi, menapoz ve buna eşlik eden hızlı kemik kaybının olmaması sebebiyle, osteoporozun erkeklerde daha az görüldüğünü belirtmişlerdir. (Melton ve ark., 1998). Bizim bulgularımızda literatüre uygundur. Lumbar vertebra kemik mineral yoğunluğu ortalaması belirgin şekilde erkekte en yüksek, menapozdaki kadında en düşük ve menapozda olmayan kadınlarda her ikisinin arasında bulunmuştur. Femur KMY erkeklerde menapozdaki kadınlardan daha yüksek bulunmuştur.

### **5.5.2. Yaşın KMY Üzerine Etkisi**

Yaş osteoporozda önemli bir faktördür. Hem femur hem de vertebral KMY değerlerini anlamlı olarak etkilemektedir. Toplam popülasyonda [femur için ( $p=0,000$ ) vertebra için ( $p=0,004$ )]. Yaş ilerledikçe KMY değerleri düşerek osteoporoz riski artmaktadır.

Menapozdaki kadınların yaşı femur ve vertebral KMY değerlerini anlamlı olarak etkilemektedir. Menopozdaki kadınların yaşlarının artışı ile beraber KMY değerlerinde ciddi bir düşüş olduğu, erkeklerde de yaş faktörünün KMY'yi etkilerken beklenildiği gibi yaş ilerledikçe KMY değerlerinin azalmaktadır.

Kanis ve arkadaşları da 1994'de osteoporozun insanları genellikle ileri yaşlarda etkilediğini ve kadınlarda menopozdan sonra yaygın olarak görüldüğünü, erkeklerin osteoporozla karşılaşması kadınlara oranla daha ileri yaşlarda olduğunu bildirmişlerdir (Kanis ve ark., 1994).

### 5.5.3. Vücut Kitle İndeksinin KMY Üzerine Etkisi

Bizim çalışmamızda vücut kitle indeksi hem femoral ( $p \leq 0,001$ ) hem de lumbar vertebral ( $p \leq 0,001$ ) KMY değerlerini anlamlı olarak etkileyen majör faktörlerden olduğu bulunmuştur. Bulduğumuz sonuçlara göre VKİ arttıkça KMY değerleri de artmaktadır. Bu bulgular literatürle de uyumludur.

Armamento-Villareal ve arkadaşlarının 1992'deki 19-40 yaşlarındaki 63 premenapozal kadın üzerinde yaptıkları vertebral kemik yoğunluğu çalışmasında normal kemik yoğunluklu ile karşılaştırıldığında düşük vertebral kemik yoğunluğuna sahip olanların içinde osteoporoz aile hikayesi bulunanların çok olduğunu bulmuşlardır (Armamento-Villareal ve ark., 1992). Bu bulgular menapoz öncesi büyük ihtimalle genetik yatkınlığın çevresel faktörlerden daha çok kemik kütlesinin major belirleyicilerinden olduğunu sonucunu ortaya çıkarır.

Paker ve arkadaşlarının 2005'de yaptığı çalışma, vücut ağırlığı ile femur boyun ve L2-L4 KMY değerleri arasındaki anlamlı korelasyon ve vücut ağırlığının osteoporozla karşı koruyucu etkisi olduğuna işaret etmektedir. (Paker ve ark., 2005) Asomaning ve arkadaşları düşük VKİ'li kadınların osteoporoz için artmış risk taşıdığını belirtmişler (Asomaning ve ark., 2006).

Yanık ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, KMY ve VKİ arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (Yanık ve ark., 2007).

Ülkemizde yapılan klinik çalışmalarda da VKİ ile osteoporoz arasında ilişki incelenmiş ve aralarında pozitif yönde ilişki saptanmış; obezitenin osteoporozdan koruyucu bir faktör olabileceği belirtilmiştir (Yaraman ve ark., 2002; Şahin ve ark., 1998).

Obezitenin KMY'ye olan olumlu etkisine ilişkin mekanizma olarak özellikle menapozdan sonra yağ dokusundaki östrojen yapımı olduğu düşünülmektedir (Kin ve ark., 1991).

Bulca 2010 yılındaki çalışmasında femur boyun KMY ve lomber KMY ile VKİ arasında zayıf bir ilişki olduğunu her iki KMY değeri arttıkça VKİ değerinin de arttığını söylemiştir (Bulca, 2010).

#### **5.5.4. Ailesinde Osteoporozlu Bulunması**

Seeman ve arkadaşları 1989'da osteoporotik kompresyon kırıkları olan postmenapozal kadınların premenapozal kız çocuklarında lomber omur da ve femur boynunda azalmış kemik kütlesi olduğunu göstermişlerdir (Seeman, ve ark., 1989).

Bizim çalışmamızda ailede osteoporozlu kişinin bulunması lomber vertebral KMY değerlerini anlamlı ( $p=0,015$ ) olarak etkilediği bulunmuştur. Ailesinde osteoporoz bulunan ve bulunduğunu bilen 40 kişinin femur KMY değerleri ailesinde osteoporoz olmayanların değerleri birbirine yakın iken lomber vertebralalarının KMY değerleri ailesinde osteoporoz olanlarda ( $0,934 \text{ gr/cm}^2$ ) ailesinde osteoporoz olmayanlardan ( $1,021 \text{ gr/cm}^2$ ) anlamlı ( $p=0,015$ ) derecede düşük bulunmuştur.

#### **5.5.5. Düzenli Spor Yapma**

Coupland ve arkadaşları 1993'te ve Berard ve arkadaşları 1997'de egzersiz yapmanın, özellikle spinal KMY üstünde olumlu etki göstereceğini belirtmişlerdir. (Coupland ve ark., 1993; Berard ve ark., 1997). Nguyen ve arkadaşları 1998'de fiziksel açıdan aktif ve kilonun korunduğu bir yaşam tarzının KMY'nin korunmasında yararlı olduğunu söylemişlerdir (Nguyen ve ark., 1998). Bizim çalışmamızda literatürde bildirilenlerin ve beklenenin aksine spor yaptıklarını ifade eden 28 kişinin (% 14,9) femur KMY değerleri ( $0,895 \text{ gr/cm}^2$ ) spor yapmadığını söyleyen 160 kişinin (% 85,1) femur KMY değerlerinden ( $0,899 \text{ gr/cm}^2$ ) daha düşük olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda düzenli spor yapma ile femur KMY değerlerini arasındaki ilişki için  $p=0,058$  bulunmuş ve spor yapmanın femur KMY değerlerini negatif olarak etkileyen minör faktörlerden olduğuna karar verilmiştir. Spinal vertebral KMY ile spor yapma arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

### **5.5.6. Düzenli beslenme**

Lunt ve Masaryk (2001) yetersiz beslenme ya da metabolik sebeplerle VKİ'nin 20'nin altına düşmesi kemik kaybını arttırdığını, kemik kaybını artıran besinlerin kafein, karbonatlı içecekler, aşırı protein, şeker, tuz tüketimi ve fosforik asit olduğunu, düşük yağ içeren diyetlerle kanser ve osteoporoz riskini azalttığını söylemiştir (Lunt ve Masaryk, 2001). Yetersiz kalsiyum alımının osteoporoz açısından risk faktörü olduğunun bildirildiği pek çok çalışma (Joseph ve Edward, 1996; Wang, 1997; Dawson ve ark., 1997) yanında, çelişen sonuçların bildirildiği çalışmalar da mevcuttur. Cordain ve arkadaşları 1997'de ve MacLennan 1999'da Britanya adaları tarihinde en çok süt tüketilen ve en çok osteoporoz görülen dönemde olduğunu söylemişlerdir (Cordain ve ark., 1997; MacLennan, 1999). Bizim çalışmamızda düzenli beslenme hem femoral KMY değerlerini ( $p=0,019$ ) hem de lumbar vertebral KMY değerlerini anlamlı olarak ( $p=0,011$ ) etkilediği bulunmuştur. Düzenli beslenenlerin hem femoral ( $0,913 \text{ gr/cm}^2$ ) hem de lumbar vertebral KMY değerleri ( $1,031 \text{ gr/cm}^2$ ) düzenli beslenmeyenlerden (femoral:  $0,895 \text{ gr/cm}^2$  ve vertebral:  $0,996 \text{ gr/cm}^2$ ) daha yüksektir.

### **5.5.7. Sigaranın KMY Üzerine Etkisi**

Sigara içmenin osteoporoz için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Kiel ve arkadaşları 1996'da tütün kullanımı ve kemik yoğunluğunun azalması arasında doğrudan ilişki olduğunu söylemişlerdir (Kiel ve ark., 1996.). Bizim çalışmamızda tüm popülasyonda 27 (% 14,4) kişinin sigara içtiği ve bunların tespit edilmiş bunların KMY değerleri ile içmeyenlerin KMY değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Diğer taraftan erkekler (49 kişi) arasında sigara içen 18 (% 36,7) kişinin femoral KMY değerleri ile içmeyenlerin femoral KMY değerleri arasında anlamlı bir fark ( $p=0,050$ ) bulunmuştur. Beklenildiği gibi sigara içenlerin KMY değerleri ( $0,958 \text{ gr/cm}^2$ ) düşük, içmeyenlerin KMY değerleri ( $0,986 \text{ gr/cm}^2$ ) daha yüksek bulunmuştur.

### **5.5.8. Alkol İçmenin KMY Üzerine Etkisi**

1991 yılında alkol alımının kalça ve kol kırıkları üzerine etkisini inceleyen Hernandez-Avila ile 2001 yılında kemik mineral yoğunluğunu etkileyen faktörlerle ilgili sistematik literatür taraması yapan Espallargues, aşırı alkol alımı ile tiamin, A ve C vitaminleri yanında kalsiyum ve demir emiliminin azaldığını, etanolün kemik oluşumundan sorumlu osteoblastlar üzerinde doğrudan toksik etkisi olduğunu, uzun süre alkol alan kişilerde kemik oluşumunun azaldığını; alkol alımı bırakıldıktan iki hafta sonra normale döndüğünü söylemişlerdir. Ayrıca alkoliklerin kanında kontrol grubuna göre kortikosteroid düzeyi anlamlı oranda yüksek, D vitamini düzeyleri de anlamlı oranda düşük bulunduğunu belirtmişlerdir (Hernandez-Avila, 1991; Espallargues, 2001). Bizim çalışmamızda femoral KMY değerlerini alkol içmenin ( $p=0,099$ ) sınırda anlamlı ya da minör faktör olarak etkilediği bulunmuştur. Beklenenlerin tersine alkol kullananların femur KMY değerleri ( $1,067 \text{ gr/cm}^2$ ) alkol kullanmayanların femoral KMY değerlerinden ( $0,885 \text{ gr/cm}^2$ ) yüksek bulunmuştur. Burada iki önemli husus vardır. Birincisi toplam popülasyonun ( $n=188$ ) sadece % 7,4'ünün (14 kişi) alkol kullandığı bunların 13 kişininin erkek sadece 1 kişininin kadın olduğu ve cinsiyetin KMY değerlerini etkileyen majör faktörlerden olduğudur. İkinci önemli konu ise bizim çalışma grubumuzun alkol kullanımının 1991'deki Hernandez-Avila ve 2001'deki Espallargues'nin yayınlarında bahsedildiği gibi alkoliklik düzeyinde aşırı alkol kullanımı olmadığıdır. Bahsi geçen yayınlarda da uzun süre alkol alan kişilerde kemik oluşumunun azaldığı; alkol alımı bırakıldıktan iki hafta sonra normale döndüğü söylenmektedir.

### **5.5.9. Gün Işığında Kalmanın KMY Üzerine Etkisi**

Çalışmamızda gün ışığına maruz kalmanın toplam çalışma grubunda, postmenapozal kadınlarda ve erkeklerde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır. Her üç çalışma grubunda da hem femur hem lumbar vertebral KMY üzerine etkisi için P değeri 0,1'den büyüktür ( $P>0.1$ ). Literatürde günde 10 dakika güneş ışığının insanın ihtiyacı olan D vitamini sentezi için yeterli olduğu bildirilmiştir (Kanis, 1998; Ergün, 2007). Bu da güneş ışığının KMY üzerine etkili olması gerektiğini düşündürmektedir.

## SONUÇ

Lumbar omurga ve femur KMY değerlerinin; VDRF, VDRB, COL1A1, ESR1X, ESR1P ve CTR polimorfizmleri ile çalışmaya katılanların klinik ve tanımlayıcı özellikleri ile ilişkisi araştırıldı.

COL1A1, ESR1P ve ESR1X gen bölgesi polimorfizmlerinin; KMY değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemediği; CTR polimorfizmlerinin postmenapozal kadınlarda femur ve vertebral KMY değerleri üzerinde etkili olduğu aa genotipine sahip postmenapozal kadınların osteoporozla daha yatkın olduğu bulunmuştur. VDRB ve VDRF gen polimorfizmlerinin özellikle femur KMY değerleri üzerinde etkili olduğu; ayrıca BB ve FF genotiplerinde osteoporozla karşı yatkınlığın daha fazla olduğu bulunmuştur.

Gen dışı faktörlerden cinsiyet ve yaş'ın KMY değerlerini etkileyen en önemli parametreler olduğu, vücut kitle indeksinin özellikle kadınlarda etkili olduğu; ailede osteoporozlu birey bulunmasının özellikle kadınlarda ve lumbar vertebral KMY üzerinde daha etkili olduğu; düzenli beslenmenin kadınlarda osteoporozla karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda COL1A1,CTR,VDRF,VDRB, ESR1X ve ESR1P gen polimorfizmleri ve KMY değerleri arasında etnik gruplara ve popülasyonlara bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sonuç olarak çalışma grubu sayımızın toplumumuza ait genotip yapısı hakkında kesin bir sonuç bildirmek için yetersiz olduğunu ve ileride hasta sayısını arttırarak yapılacak çalışmaların bu bilgileri güçlendireceğini düşünüyoruz.



## ÖZET

### **Kemik Mineral Dansitesi İle COL1A1, CTR, VDRF, VDRB, ESR1X Ve ESR1P Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi**

Osteoporoz düşük kemik mineral yoğunluğu ile karakterize sık görülen bir hastalıktır. Ortalama yaşam süresinin uzaması ile osteoporoz önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Bu hastalığın etiyojisinde genetik faktörler ve çevresel etkilerin birlikte rol oynamasından dolayı multifaktöriyel kabul edilmektedir. Etkilediği çeşitli fonksiyonlar nedeniyle osteoporoz oluşumuna yatkınlık oluşturan polimorfizmlerin gözlemlendiği genlerin VDRF, VDRB, COL1A1, ESR1X, ESR1P ve CTR olabilecekleri düşünülmektedir.

Çalışma kapsamına alınan bireylerin [49 erkek ve 139 kadın (118 postmenapozal ve 21 premenapozal) toplam 188 kişi] lombar omurga (L1-L4) ve femur boynu kemik mineral yoğunlukları, dual X-ray absorptiometry (DEXA) yöntemi ile ölçüldü. Hasta DNA'ları periferik kandan standart prosedürle izole edilerek PCR cihazında amplifikasyon gerçekleştirildi. Görüntüleme işlemi chip mikroyarray tüp görüntüleme yöntemiyle Clinical Arrays® MetaBone kitiyle yapılarak okundu ve analizler tamamlandı. Her hastanın 6 gen bölgesi açısından genotipik yapıları belirlendi. Lomber vertebra ve femur KMY değerleri ile genlerin (VDRF, VDRB, COL1A1, ESR1X, ESR1P ve CTR) polimorfizmleri arasındaki ilişki ve lombar omurga ve femur KMY değerleri ile diğer etkenlerle (vücut kitle indeksi, yaş, cinsiyet, sigara, beslenme, spor vb.) ilişkisi araştırıldı. Çalışma grubu için toplam grup (188 kişi), postmenapozal kadınlar (118 kişi) ve erkekler (49 kişi) olarak üç ayrı değerlendirme yapıldı.

Toplam 188 kişiden elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde femur kemik mineral yoğunluğunu VDRB gen polimorfizmlerinin majör ( $p=0.013$ ) ve VDRF polimorfizmlerinin ise minör ( $p=0.082$ ) olarak etkilediği ancak diğer genlerin femur kemik mineral yoğunluğuna etkisinin olmadığı görüldü. Diğer genler ile VDRB ve VDRF gen polimorfizmlerinin vertebra kemik yoğunluğunu anlamlı olarak etkilemediği görüldü. Hasta yaşı [femur ( $p=0.000$ ; vertebral  $p=0.004$ )], diyet [femur ( $p=0.019$ ; vertebral  $p=0.011$ )] ve vücut kitle indeksi [femur ( $p=0.000$ ; vertebral  $p=0.000$ )] hem femoral hem de vertebral kemik yoğunluğunu anlamlı olarak etkilemektedir. Ailede osteoporozlu akrabaların olması ve cinsiyet vertebral kemik yoğunluğunu anlamlı olarak etkilemesine rağmen femoral kemik yoğunluğunu etkilememektedir.

Postmenapozal 118 kadının sonuçlarının istatistiksel analizleri VDRF ( $p = 0,100$ ) ve CTR ( $p = 0,068$ ) gen polimorfizmlerinin postmenapozal kadınlarda femur KMY üzerinde minör etkiye sahip olduğunu ve sadece CTR ( $p=0,062$ ) gen polimorfizminin vertebral KMY üzerine minör etkisi olduğunu göstermiştir. Çalıştığımız diğer genlerin hiç birinin ne femur ne de vertebral KMY üzerine etkisi yoktur. Yaş ( $p = 0.000$ ), vücut kitle indeksi ( $p= 0.001$ ) alkol alımı ( $p = 0.012$ ) ve diyetin ( $p = 0.020$ ) femoral KMY üzerinde önemli etkisi vardır. Yaş ( $p = 0.003$ ) ve vücut kitle indeksinin ( $p=0,000$ ) vertebral KMY üzerinde önemli etkisi vardır.

49 erkekte elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde, VDRB geninin femur KMY'sini anlamlı ölçüde etkilerken, vertebral KMY'yi çalışılan genlerden hiçbirinin etkilemediği ve yaş ve sigaranın femur KMY'yi etkileyen başlıca faktörler olduğu görüldü. Ailede osteoporozlu akrabaların olması vertebral kemik yoğunluğunu anlamlı olarak etkilemesine rağmen femoral kemik yoğunluğunu etkilememektedir.

Osteoporoz birçok genetik ve genetik dışı faktörlerin rol aldığı multifaktöriyel bir hastalıktır. Genetik olarak osteoporozla yatkınlığın erken teşhisi, uygun profilaksi sağlanması ve kemik dokudaki istenmeyen değişikliklerin sınırlandırılmasını ve/veya geciktirilmesini sağlayacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** 1. COL1A1 Geni 2. CTR Geni 3. ESR Geni 4. Osteoporoz 5. VDR Geni

## SUMMARY

### **Investigation of Bone Mineral Density with COL1A1, CTR, VDRF, VDRB, ESR1X and ESR1P Genes Polymorphisms**

Osteoporosis is a common disorder characterized by low bone mass. It has become a major public health problem through the prolongation of average life span. Osteoporosis is considered a multi-factorial disease in which both genetic and environmental factors could play a role on the formation of the disease. Because of effects of various functions, genes that predispose to the formation of osteoporosis and polymorphisms observed may be VDRF, VDRB, COL1A1, ESR1X, ESR1P and CTR.

Lumbar spine (L1-L4) and femoral neck bone mineral density of the individuals [49 man and 139 woman (118 postmenopausal and 21 premenopausal), total 188 persons] included in the study were measured by the dual X-ray absorptiometry (DEXA) method. Patient's DNA was isolated from peripheral blood by a standard procedure and PCR amplification was performed. Imaging process was based on clinical chip microarrays tube method, and Clinical Arrays® MetaBone kits used for the analyses. Analyses were completed after the reading. Genotypic structure of each patient's in terms of six genes was identified. Relationships between BMD values of lumbar spine and femur with genes (VDRF, VDRB, COL1A1, ESR1X, ESR1P and CTR) polymorphisms, and relationships between BMD values of lumbar spine and femur with other factors (body mass index, age, gender, smoking, nutrition, sport etc.) were investigated. Evaluation of the results was firstly performed in whole group (188 persons), then in postmenopausal women group (118 persons) and in man group (49 persons), respectively.

Statistical analyses of results from 188 persons indicated that VDRB and VDRF gene polymorphisms have major ( $p=0.013$ ) and minor ( $p=0.082$ ) effects on femur bone mineral density, respectively, while other genes was not effected the bone mineral density. Spine bone mineral density was not affected significantly by all genes polymorphisms. Patient age [femur ( $p=0.000$ ; spinal  $p=0.004$ )], diet [femur ( $p=0.019$ ; spinal  $p=0.011$ )] and body mass index [femur ( $p=0.000$ ; spinal  $p=0.000$ )] were significantly effected on femoral and spinal bone density. Factors of osteoporotic patient in the family and gender were effected spinal bone density significantly, but they have no any effect on femoral bone density.

Statistical analyses of results from 118 postmenopausal woman indicated that VDRF ( $p=0.100$ ) and CTR ( $p=0.068$ ) gene polymorphisms have minor effect on femoral BMD, and only CTR ( $p=0.062$ ) gene polymorphism have minor effect on lumbar spine BMD in postmenopausal women. None of other genes studied in this research have not any effect on both spinal and femoral BMD. Age ( $p=0.000$ ), body mass index ( $p=0.001$ ), alcohol intake ( $p=0.012$ ) and diet ( $p=0.020$ ) have significant effect on femoral BMD. Age ( $p=0.003$ ) and body mass index ( $p=0.000$ ) have significant effect on spinal BMD.

Statistical analyses of results from 49 man indicated that only VDRB gene polymorphisms was significantly ( $p=0.033$ ) effected femur BMD. Spine bone mineral density was not affected significantly by other genes including VDRB gene polymorphisms. Patient age ( $p=0.029$ ) and smoking ( $p=0.050$ ) has significant effect on femoral bone density. Occurrence of osteoporotic patient in the family has effect on spinal bone density, but not femoral bone density.

Osteoporosis is a multi-factorial disease and many genetic and non-genetic risk factors contribute to the development of osteoporosis. Early detection of a genetic predisposition to osteoporosis allows appropriating prophylaxis, and delaying and/or limiting unfavorable changes in the bone tissue.

**Key Words:** 1. COL1A1 Gene 2. CTR Gene 3. ESR Gene 4. Osteoporosis 5. VDR Gene

## KAYNAKLAR

- ADRIANA P., MARÍA U., BEATRİZ G., MARÍA L., ELIANA E., MIRIAM B., MARÍA R., VIVIANA C., ARTURO A NORI T.D.T. (2008). Genotypes and clinical aspects associated with bone mineral density in Argentine postmenopausal women. *J Bone Miner Metab*; 26:358–365
- AKESSON K. (1995). Biochemical Markers of bone Turnover. *Acta Orthop Scand*; 66: 376
- AKKAYA F. (2006). Beslenmenin Osteoporozdan Korunma Ve Tedavi İle İlişkisi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
- ALBAGHA O. M. E., PETTERSSON U., STEWART A., MCGUIGAN F. E. A., MACDONALD H. M., REID, D. M., RALSTON S. H. (2005). Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone. *J. Med. Genet*; 42: 240-246
- ALBAGHA OM., MCGUIGAN FE., REID DM., RALSTON SH. (2001). Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and bone mineral density: haplotype analysis in women from the United Kingdom. *J Bone Miner Res*; 16:128–134
- ALHEVA EM. (1991). Bone density Measurement. *Calcif Tissue Int*; 49:21
- ANON B. (1993). Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med*; 94:645-650
- ARAİ H, MIYAMOTO K, TAKETANI Y. (1997). 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*;12: 915–21.
- ARMAMENTO-VİLLAREAL, R. VİLLAREAL D. T. AVİOLİ, L. V. CİVİTELLİ R. (1992). Estrogen status and heredity are major determinants of premenopausal bone mass. *J. Clin. Invest.* 90: 2464-2471
- ASOMANING K, BERTONE-JOHNSON ER, NASCA PC, HOOVEN F, PEKOW PS. (2006). The Association Between Body Mass Index And Osteoporosis In Patients Referred For A Bone Mineral Density Examination. *J Womens Health*; 15: 1028-1034
- ATİK OŞ, TELLİ İ. (1989). Zinc and Sudeck Atrophy. *J Is Ac Sci*; 2: 126
- ATİK OŞ. (1980). Osteoporoz Nedenleri, *Hacettepe Tıp Cer Bül*; 13:106
- ATİK OŞ. (1986a). Osteoporoz Oluşumunda Bazı Faktörler, *Tür Kli Araş Der*; 4:10
- ATİK OŞ. (1986b). Etiology of senil osteoporosis. *Balkan Contribution of endocrinology metabolism*; 1:486
- ATİK Ş. (1998). *Osteoporoz*; sy:1-70

- AUDRAN M. KUMAR R. (1985). The physiology and pathophysiology of vit D. *Mayo Clin Proc*; 60:851
- BAGGER YZ, JORGENSEN HL, HEEGAARD AM, BAYER L, HANSEN L, HASSAGER C. (2000). No major effect of estrogen receptor gene polymorphisms on bone mineral density or bone loss in postmenopausal Danish women. *Bone*; 26:111–116
- BANDRÉS. I., POMBO. M., GONZÁLEZ-HUARRÍZ. A., REBOLLO. G. LÓPEZ. AND GARCÍA-FONCILLAS, J. (2005). Association between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ER $\alpha$ , COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women. *J. Endocrinol. Invest*; 28: 312-321 )
- BARROS E.R., KASAMATSU T.S., RAMALHO A.C., HAUACHE O.M., VIEIRA J.G.H., LAZARETTI-CASTRO M. (2002). Bone mineral density in young women of the city of São Paulo, Brazil: correlation with both collagen type I alpha 1 gene polymorphism and clinical aspects. *Braz J Med Biol Res*. 35: 885-893
- BAYSAL A. (1999). *Beslenme. Hatipoglu Yayinevi. 8. Baski. Ankara*
- BEARY JF, LANE JM. (1993). Manual of osteoporosis. Paget S. Pellici P. *Rheumatology and outpatient orthopedic Disorders 3rd ed. Little Brown and comp. Boston*; 338-340
- BECHERINÌ, L. GENNARÌ, L. MASÌ, L. MANSANÌ, R. MASSART, F. MORELLÌ, A. FALCHETTÌ, A. GONNELLÌ, S. FIORELLÌ, G. TANINÌ, A. BRANDÌ, M. L. (2000). Evidence of a linkage disequilibrium between polymorphisms in the human estrogen receptor-alpha gene and their relationship to bone mass variation in postmenopausal Italian women. *Hum. Molec. Genet*; 9: 2043-2050
- BENTE L. LANGDAHL, STUART H. RALSTON, STRUAN F.A. GRANT, ERIK F. ERIKSEN. (1998). An Sp1 Binding Site Polymorphism In The Col1a1 Gene Predicts Osteoporotic Fractures In Both Men And Women *Journal Of Bone And Mineral Research*; Volume 13. Number 9. 1384-1389
- BERARD A, BRAVO G, GAUTHIER P. (1997). Meta-analysis of the effectiveness of physical activity for the prevention of bone loss in postmenopausal women. *Osteoporos Int*; 7:331–337
- BERG JP, LEHMANN EH, STAKKESTAD JA, HAUG E & HALSE J. (2000). The Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I  $\alpha$ 1 (COL1A1) gene is not associated with BMD in healthy children, adolescents, and young adults. *European Journal of Endocrinology*; 143: 261-265.
- BERTELLONÌ S, CINQUANTA L, BARONCELLÌ GI, SIMÌ P, ROSSÌ S, SAGGESE G. (2000). Volumetric bone mineral density in young women with Turner's syndrome treated with estrogens or estrogens plus growth hormone. *Horm Res*; 53:72–76
- BOEDTKER, H.; FULLER, F.; TATE, V. (1983). The structure of collagen genes. *Int. Rev. Connect. Tissue Res*; 10: 1-63
- BONEWALD LF, MUNDY GR. (1990). Role of transforming growth factor-beta in bone remodelling. *Clin Orthop*. 250:261-76
- BRAGA V, MOTTESS M, MIRANDOLA S, LISÌ V, MALERBA G, SARTORÌ L, BIANCHÌ G, GATTÌ D, ROSSINÌ M, BIANCHINÌ D, ADAMÌ S. (2000). Association of CTR and col1A1 alleles with BMD values in peri and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*; Nov.67: 361-366

- BRAGA V, SANGALLI A, MALERBA G, MOTTES M, MIRANDOLA S, GATTI D, ROSSINI M, ZAMBONI M, ADAMI S. (2002). Relationship among VDR (BsmI and FokI), COL1A1, and CTR polymorphisms with bone mass, bone turnover markers, and sex hormones in men. *Calcif Tissue Int*; 70:457–462
- BUCKWALTER JA, GLIMCHER MJ., COOPER RR., RECHER R. (1995). Bone Biology Part I-II *Bone, Joint Surg*; 1256, 1277
- BULCA S. (2010). Östrojen Reseptör Alfa Geni XbaI Ve PvuII Polimorfizmlerinin Postmenopozal Osteoporozlu Hastalarda İncelenmesi Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
- BUSTAMANTE M., NOGUÉS X., ENJUANES A., ELOSUA R., GARCÍA-GIRALT N., PÉREZ-EDO L., CÁCERES E., CARRERAS R., MELLİBOVSKY L., BALCELLS S., DíEZ-PÉREZ A., GRİNBERG D. (2007). COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women *Osteoporos Int*; 18:235–243
- CARANI C., QIN K., SIMONI M., FAUSTINI-FUSTINI M., SERPENTE S., BOYD J., KORACH KS., SIMPSON ER. (1997). Effect of testosterone and estradiolin a man with aromatase deficiency. *N, Engl J, Med*; 337:91–95
- CAULEY JA, LUI LY, STONE KL. (2005). Longitudinal study of changes in hip bone mineral density in caucasian and african-american women. *Am J Geriatr Soc*; 53:183–189
- CDC. (2010). CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION USA. [<http://www.cdc.gov/ncipc/factsheets/adulthipfx.htm>]. Erişim: 24.12.2010.
- CENTERS FOR DİSEASE CONTROL AND PREVENTİON. (1996). Incidence and costs to Medicare of fractures among Medicare beneficiaries aged >65 years,United States, July 1991–June 1992. *MMWR*; 45(41):877–83
- CHAMBERS, T.J. DUNN, C.J. (1983). Pharmacological control of osteoclastic motility. *Calcif. Tissue Int*; 35: 566–579
- CHAMBERS, T.J. MOORE, A. (1983). The sensitivity of isolated osteoclasts to morphological transformation by calcitonin. *J. Clin. Endocrinol. Metab*; 57 (4): 819–824
- CHİRİSTİANSEN C. (1993a). Consensus Development Conference on Osteoporosis. *Am J Med*; 95: 5A, 175
- CHİRİSTİANSEN C. (1993b). Skeletal osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 8: 2
- CHİROPRACTİC. (2010) [<http://www.chiropractic-help.com/images/Osteoporosis1.jpg>]. Erişim: 24.12.2010
- CHUNG, H. W., SEO, J.-S., HUR, S. E., KİM, H. L., KİM, J. Y., JUNG, J. H., KİM, L. H., PARK, B. L., SHİN, H. D. (2003). Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in pre-menopausal women. *J. Hum. Genet*; 48: 243-248
- COLEMAN (1996) The Presence Of A Polymorphism At The Translation İnitiation Site Of The Vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women.. *Journal of Bone and Mineral Research*;11, 12, 1850-1855.

- COLIN E. M., UITTERLINDEN A., G., MEURS J. B. J., BERGINK A. P., VAN DE KLIFT M., FANG Y. ARP P. P. HOFMAN A. VAN LEEUWEN J. P. T. M. POLS H. A. P. (2003). Interaction between vitamin D receptor genotype and estrogen receptor alpha genotype influences vertebral fracture risk. *J. Clin. Endocr. Metab*; 88: 3777-3784
- COOPER GS, UMBACH DM. (1996). Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A metaanalysis. *J Bone Miner Res*; 11:1841-9.
- COPP, D.H. (1992). Remembrance, calcitonin, discovery and early development. *Endocrinology*; 131 (3). 1007-1008
- COPP, E.C. CAMERON, B. CHENEY, A.G.F. DAVIDSON, K. AND HENZE, K. (1962). Evidence for calcitonin—a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. *Endocrinology*; 70: 638-649.
- CORDAIN L. GOTSHALL RW, EATON SB. (1997). Evolutionary aspects of exercise. *Rev Nut Diet*; 81:49-60
- COUPLAND C., WOOD D., COOPER C. (1993). Physical inactivity is an independent risk factor for hip fracture in the elderly. *J Epidemiol Community Health*; 47:441-3
- CUMMINGS SR, KELSEY JL, NEVITT MC., O'DOWD KJ. (1985). Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Epidemiol Rev*; 7:178-208
- CUMMINGS SR. (1991). Epidemiologic studies of osteoporotic fractures. *Calcif Tissue Int*; 49:15-20
- CUMMINGS SR, BLACK DM, NEVITT MC, BROWNER WS, CAULEY JA, GENANT HK, MASCIOLI SR, SCOTT JC, SEELEY DG, STEIGER P, VOGT TM. (1990). Appendicular bone density and age predict hip fracture in women. *JAMA*; 263:665-668
- CUMMINGS SR, RUBIN SM, BLACK D. (1990). The future of hip fractures in the United States. Numbers, costs, and potential effects of postmenopausal estrogen. *Clinical Orthopedics and Related Research*; 252:163-6
- DANIELSON ME., CAULEY JA., BAKER CE., NEWMAN AB., DORMAN JS., TOWERS JD., KULLER LH. (1999). Familial resemblance of bone mineral density (BMD) and calcaneal ultrasound attenuation, the BMD in mothers and daughters study. *J. Bone Miner Res*; 14:102-110
- DAWSON B., HARRIS SS., KRALL EA., A. (1997). controlled calcium and vitamin D supplementation trial in men and women age 65 years and older. *N., Engl J., Med*; 337:670-676
- DELMAS PD., RIZZOLI R., COOPER C. (2005). Treatment of patients with postmenopausal osteoporosis is worthwhile: The position of the international osteoporosis foundation. *Osteoporos Int*; 16:1-5
- DELMÍ M., RAPIN C-H., BENGOA J-M., DELMAS PD., VASEY H., BONJOUR J-P. (1990). Dietary supplementation in elderly patients with fractured neck of femur. *Lancet*; 335:1013-1016
- DENG HW, LI J, LI JL, JOHNSON M, GONG G, RECKER RR. (1999). Association of VDR and estrogen receptor genotypes with bone mass in postmenopausal Caucasian women: different conclusions with different analysis and the implications. *Osteoporos Intern*; 9:499-507.

- DEQUEKER J., NĪJS N., VERSTRAETEN A., GEUSENS P., GEVERS G. (1987). Genetic determinants of bone mineral content at the spine and radius: a twin study. *Bone*; 8:207–209
- DEVĪREN A. (2003). Osteoporoz Genetiđi. Ed: TŪZŪN F. *Kemik Eklem Dekatunda Osteoporoz ve Kemik Kalitesi*
- DICKSON IR, GWILLĪAM R, ARORA M, MURPHY S, KHAW K-T, PHĪLLĪPS C, LĪNCOLN P. (1994). Lumbar vertebral and femoral neck bone mineral density are higher in postmenopausal women with the  $\alpha_2$ HSglycoprotein 2 phenotype. *Bone Miner*; 24:181–188
- DOHĪ Y, IKĪ M, OHGUSHĪ H, GOJO S, TABATA S, KAJĪTA E, NĪSHĪNO H, YONEMASU K . (1998). A novel polymorphism in the promoter region for the human osteocalcin gene: the possibility of a correlation with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res*; 13:1633–1639
- DRĪESEL, A. J.; SCHUMACHER, A. M.; FLAVELL, R. A. (1982). A Hind III restriction site polymorphism in the human collagen alpha-1(I)-like gene on chromosome no. 7. *Hum. Genet*; 62: 175-176,
- DRĪNGWATER BL, CHESNUT CH. (1991). Bone Density Change during pregnancy and lactation in active women , a longitudinal study. *Bone Miner*; 14: 153-160
- DUMAN B.S., TANAKOL R., ERENŞOY N., ŖZTŪRK M., YILMAZER S. (2004). Vitamin D Receptor Alleles, Bone Mineral Density and Turnover in Postmenopausal Osteoporotic and Healthy Women. *Med Princ Pract*.13:260–266
- E.R. BARROS, T.,S., KASAMATSU, A.,C., RAMALHO, O.,M., HAUACHE, J.,G.,H., VĪEĪRA AND M. LAZARETTĪ-CASTRO. (1998). Bone Mineral Density In Young Women Of The City Of Săo Paulo, Brazil: Correlation With Both Collagen Type I Alpha 1 Gene Polymorphism And Clinical Aspects; *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*; 35:885-893
- EASTELL R. (1998). Treatment of postmenauposal osteoporosis. *N Engl J Med*; 338:736–746
- EĪCHNER JE, FRĪEDRĪCH CA, CAULEY JA, KAMBOH MI, GUTAĪ JP, KULLER LH, FERRELL RE. (1990).  $\alpha$  2-HS glycoprotein phenotypes and quantitative hormone and bone measures in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*; 47:345–349
- ENSRUD, K. E.; STONE, K.; CAULEY, J. A.; WHĪTE, C.; ZMUDA, J. M.; NGUYEN, T. V.; EĪSMAN, J. A.; CUMMĪNGS, S. R. (1999). Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of fractures in older women. *J. Bone Miner. Res*; 14: 1637-1645
- ERGŪN Y. (2007). Osteoporozlu Hastalarda Yaşam Kalitesini Etkileyen FaktŖrler, Uzmanlık Tezi, T.C Adnan Menderes Ŗniversitesi Tıp FakŖltesi Aile Hekimliđi Anabilim Dalı,
- ESPALLARGUES M. (2001). Identifying bone-mass-related risk factors for fracture to guide bone densitometry measurements: A systematic review of the literature. *Osteoporos Int*; 12: 811–822.
- FANG, Y.; VAN MEURS, J. B. J.; D'ALEŞĪO, A.; JHAMAI, M.; ZHAO, H.; RĪVADENEĪRA, F.; HOFMAN, A.; VAN LEEUWEN, J. P. T.; JEHAN, F.; POLS, H. A. P.; UĪTTERLĪNDEN, A. G. (2005). Promoter and 3-prime-untranslated-region haplotypes in the vitamin D receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the Rotterdam Study. *Am. J. Hum. Genet*; 77: 807-823

- FELDMAN, N.S., DRIEGER, A.H. AND TASHJIAN, A.H. (1980). Effects of parathyroid hormone and calcitonin on osteoclast formation in vitro. *Endocrinology*; 107: 1137–1143.
- FERRARÌ S, RIZZOLÌ R, SLOSMAN D, BONJOUR JP. (1998). Familial resemblance for bone mineral mass is expressed before puberty. *J Clin Endocrinol Metab*; 83:358–361;
- FERRARÌ S. (1995) Vitamin D receptor D polymorphism and change in lumbar spine bone mineral density. *Lancet*; 345:423-424
- FERRARÌ SL, RIZZOLÌ R. (2005). Gene variants for osteoporosis and their pleiotropic effects in aging. *Molecular Aspects of Medicine*; 26: 145–167
- FERRARÌ, S.; MANEN, D.; BONJOUR, J.-P.; SLOSMAN, D.; RIZZOLÌ, R. (1999). Bone mineral mass and calcium and phosphate metabolism in young men: relationships with vitamin D receptor allelic polymorphisms. *J. Clin. Endocr. Metab*; 84: 2043-2048
- FROST HM. (1979) Treatment of osteoporosis by manipulation of coherent bone cell population. *Clin Orthop*; 143:227
- GAMBLE JL. (1995). Osteoporosis: Making The Diagnosis In Patients At Risk For Fracture. *Geriatrics*; 50:24
- GARLAND ED. (1993). Management of heterotopic bone .In Chapman NW *Operative Orthopaedics, 2nd Ed., JB Lippincott Co., Philadelphia*; 239:3475-83
- GARNERO P, BOREL O, GRANT SF, RALSTON SH, DELMAS PD. (1998). Collagen I $\alpha$ 1 Sp1 polymorphism, bone mass, and bone turnover in healthy French premenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res*; 13:813–81)
- GARNERO P., SORNAY-RENDU E., CHAPUY MC. (1996). Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 11:337-349
- GARNERO, P.; BOREL, O.; SORNAY-RENDU, E.; ARLOT, M. E.; DELMAS, P. D. (1996). Vitamin D receptor gene polymorphisms are not related to bone turnover, rate of bone loss, and bone mass in postmenopausal women: the OFELY study. *J. Bone Miner. Re.*; 11: 827-834
- GARNERO, P.; MUNOZ, F.; BOREL, O.; SORNAY-RENDU, E.; DELMAS, P. D. (2005). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J. Clin. Endocr. Metab*; 90: 4829-4835
- GENANT HK, VOLGER SB, BÏOCH ES. (1988). Radiology of Osteoporosis. In Riggs BL, Melton JL *Osteoporosis, 1st edition, Raven Press, New YORK*; 181-220
- GENNARÌ L, BECHERÌNÌ L, FALCHETTÌ A, MASÌ L, MASSART F, BRANDÌ M L. (2002). Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *The Journal of Steroid Biochemistry and molecular Biology*; 81(1): 1-24
- GENNARÌ L, BECHERÌNÌ L, MANSANÌ R. (1996). FokI polymorphism at the translation initiation sites of the vitamin D receptor gene predicts bonemineral density and vertebral fractures in postmenopausal Italian women. *J Bone Miner Res*; 14:1379–86.
- GENNARÌ L, MERLOTTÌ D, DE PAOLA V I (2005) Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: . *Am J Epidemiol*; 161:307–320



- GENNARÌ L, BECHERÌNÌ L, MASÌ L. (1998). Vitamin D and estrogen receptor allelic variants in Italian postmenopausal women: Evidence of multiple gene contribution to bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab*; 83:939–44.
- GENNARÌ, L., BECHERÌNÌ, L., MASÌ, L., MANSANÌ, R., GONNELLÌ, S., CEPOLLARO, C., MARTÌNÌ, S., MONTAGNANÌ, A., LENTÌNÌ, G., BECORPÌ, A. M., BRANDÌ, M. L. (1998). Vitamin D and estrogen receptor allelic variants in Italian postmenopausal women: evidence of multiple gene contribution to bone mineral density. *J. Clin. Endocr. Metab*; 83: 939-944
- GENOMICA (2006). *Clinical Array Metabone Manuel Book*; version 2 September 2006
- GENOMOS. (2010). [<http://www.genomos.eu/genes.html>]. Erişim: 14.03.2010
- GÌGUERE, Y.; ROUSSEAU, F. (2000). The genetics of osteoporosis: 'complexities and difficulties. *Clin. Genet*; 57: 161-169
- GOECKE H. (1959). Die klinik des klimakteriuns. *Arch Gynak*; 193:33-49
- GONG Y, SLEE RB, FUKAI N, RAWADI G, ROMAN-ROMAN S, REGINATO AM, WANG H, CUNDY T, GLORIÈUX FH, LEV D, ZACHARÌN M, OEXLE K, MARCELINO J, SUWAIRÌ W, HEEGER S, SABATAKOS G, APTÉ S, ADKÌNS WN, ALLGROVE J, ARSLAN-KÌRCHNER M, BATCH BA, BEÌGHTON P, BLACK GC, BOLES RG, BOON LM, BORRONE C, BRUNNER HG, CARLE GF, DALLAPÌCCOLA B, DE PAEPE A, FLOEGE B, HALFHÌDE ML, HALL B, HENNEKAM RC, HÌROSE T, JANS A, JUPPNER H, KÌM CE, KEPPLER-NOREUÌL K, KOHLSCHUETTER A, LACOMBE D, LAMBERT M, LEMYRE E, LETTEBOER T, PELTONEN L, RAMESAR R, ROMANENGO M, SOMER H, STEÌCHEN-GERDSORF E, STEÌNMANN B, SULLIVAN B, SUPERTÌ-FURGA A, SWOBODA W, BOOGAARD M, VAN HUL W, VÌKKULA M, VOTRUBA M, ZABEL B, GARCÌA T, BARON R, OLSEN BJ, WARMAN ML. (2001). LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell*; 107:513–523)
- GOTFREDSEN A., HASSENGER C., CHÌRÌSTÌANSEN C. (1990). Total and Regional Bone Mass in healty and osteoporotik Women . İN YASUMURA S , HERRÌSON JE, MCNEÌL KG, WOODHEAD AD, DÌLMANÌAN FA (eds). *Advances in in vivo Body composition studies, Plenum Pres, New York*; 101-106
- GOTO M. (1997). Hierarchial deterioration of body systems in Werner's syndrome. *Mech Ageing Dev*; 98:239
- GRANT SF, REID DM, BLAKE G, HERD R, FOGELMAN I, RALSTON SH. (1996). Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha1 gene. *Nat Genet*; 14:203–205
- GROSS C, ECCLESHALL TR, MALLOY PJ, VÌLLA ML, MARCUS R, FELDMAN D. (1996). The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res*; 11:1850–5.
- GUEGUEN R, JOUANNY P, GUÌLLEMÌN F, KUNTZ C, POUREL J, SÌEST G. (1995). Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. *J Bone Miner Res*; 10: 2017–2022
- GUYTON C. (2001). *Medical Physiology. W.B. Saunders Comp. (Ed10)*; 79 :899-915

- HAGIWARA S, VANG SO, GLÜER CC, BENDAVID E, GENANT KH. ( 1994). Noninvasive bone Mineral Density measurement in the evaluation of Osteoporosis., *Rheum Disease Clin Nort Am.*; 20:151
- HAN KO, MOON IG, KANG YS, CHUNG HY, MİN HK, HAN IK. (1997). Nonassociation of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and estrogen responsiveness to hormone replacement therapy in Korean postmenopausal women. *J Clin EndocrinolMetab*; 82: 991–5.
- HANSEN M., OVERGAARD K., RİİS B., CHİRİSTIANSEN C. ( 1991). Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis: 12 year study.*BMJ*; 303: 961-964
- HARRİS M. (1988). *Epidemiology of fractures In Riggs BL, Melton JL (ed) Osteoporosis, 1st edition, Raven Press, New YORK*; 133-154
- HAUSSLER MR, HAUSSLER CA, JURUTKA PW, THOMPSON PD, HSİEH JC, REMUS LS, SELZNİCK SH, WHİTFİELD GK. (1997). The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J Endocrinol*; 154:S57–S73
- HAYSLİP CC, KLEİN TA, WRAY HL, DUNCAN WL. (1989). The effect of Lactation on bone mineral Content in healty postpartum Women. *Obstet Gynecol*; 73: 588-592
- HEANEY RP. (1988) . *Nutritional Factors in Bone Health . In Riggs BL, Melton JL (ed) Osteoporosis, 1st edition, Raven Press, New YORK*; 1359-1372
- HEANY RP, RECKER RR. (1982). Effect of Nitrogen phosphorus and caffeine on calcium balance in women *J Lab Clin Med*; 99: 46-55
- HEANY RP. (1993). Bone Mass, Nutrition and other lifestyle factors, *Am J Med* 95: Suppl 5A
- HEEGAARD AM, JORGENSEN HL, VESTERGAARD AW, HASSAGER C, RALSTON SH. (2000). Lack of influence of Collagen type I  $\alpha 1$  Sp1 binding site polymorphism on the rate of bone loss in a cohort of postmenopausal Danish women followed for 18 years. *Calcified Tissue International*; 66: 409-413.
- HEİKKİNEN AM, KRO˘GER H, NİSKANEN L, KOMULAINEN MH, RYYNANEN M, PARVIAINEN MT, TUPPURAINEN MT, HONKANEN R, SAARİKOSKİ S. (2000). Does apolipoprotein E genotype relate to BMD and bone markers in postmenopausal women? *Maturitas*;34:33–41
- HELEN H.L. LAU · MANDY Y.M. NG · WILLIAM M.W. CHEUNG ANDREW D. PATERSON · PAK C. SHAM KEİTH D.K. LUK VIVIAN CHAN · ANNIE W.C. KUNG. (2006) . Assessment of linkage and association of 13 genetic loci with bone mineral density *J Bone Miner Metab*; 24:226–234
- HENRY JM, FATEYERJİ D, EASTELL R (2004) Attainment Of Peak Bone Mass At The Lumbar Spine, Femoral Neck And Radius In Men And Women; Relative Contributions of Bone Size And Volumetric Bone Mineral Density, *Osteoporosis International*; 15(14), 263-273.
- HERNANDEZ-AVILA M. (1991). Caffeine, moderate alcohol intake and risk of fractures of the hip and forearm in middle aged women. *Am J Clin Nut*; 54:157–163

- HILDEBOLT CF, PLYGRAM TK, DOTSON M, YOKOYAMA N, MUCKERMAN J, HAUSER J, COHEN S, KARDERIS E, VANNIER MW, HANES P, SHROOT MK, CIVITELLI R (1997) Attachment Loss With Postmenopausal Age And Smoking. *J Periodontal Res*; 32(7), 619-625).
- HOROWITZ M, WISHART JM, O'LOUGHLIN PD, MORRIS HA, NEED AG, NORDIN BEC. (1992). Osteoporosis and Klinefelter's syndrome. *Clin Endocrinol*; 36:113-118)
- HOUSTON, L. A.; GRANT, S. F. A.; REID, D. M.; RALSTON, S. H. (1996). Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population. *Bone*; 18: 249-252
- HUERRE, C.; JUNIEN, C.; WEIL, D.; CHU, M.-L.; MORABITO, M.; VAN CONG, N.; MYERS, J. C.; FOUBERT, C.; GROSS, M.-S.; PROCKOP, D. J.; BOUE, A.; KAPLAN, J.-C.; DE LA CHAPELLE, A.; RAMIREZ, F. (1982). Human type I procollagen genes are located on different chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*; 79: 6627-6630
- HUGHES MR, MALLOY PJ, KIEBACK DG, KESTERSON RA, PIKE JW, FELDMAN D, O'MALLEY BW. (1988). Point mutations in the human vitamin D receptor gene associated with hypocalcemic rickets. *Science*; 242:1702-1705
- HUSTMYER FG, LIU G, JOHNSTON CC, CHRISTIAN J, PEACOCK M. (1999). Polymorphism at an Sp1 binding site of COL1A1 and bone mineral density in premenopausal female twins and elderly fracture patients. *Osteoporos Int*; 9:346-350
- HUSTMYER FG, PEACOCK M, HUI S, JOHNSTON CC, CHRISTIAN J. (1994). Bone mineral density in relation to polymorphism at the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest*; 94:2130-2134
- IOANNIDIS JP, RALSTON SH, BENNETT ST, BRANDI ML, GRINBERG D. (2004). Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 292:2105-2114
- Arko B, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A, Marc J (2002) No major effect of estrogen receptor beta gene RsaI polymorphism on bone mineral density and response to alendronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*;81:147-152
- IOANNIDIS JP, STAVROU I, TRIKALINOS TA, ZOIS C, BRANDI ML, GENNARI L, ALBAGHA O, RALSTON SH, TSATSOU LIS A. (2002). ER-alpha genetics meta-analysis association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. *J Bone Miner Res*; 17:2048-2060
- IOF. (2010) INTERNATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION.  
[<http://www.iofbonehealth.org/health-professionals/about-osteoporosis/basic-bone-biology.html>].  
Erişim: 22.12.2010.
- JOHNELL O, KANIS J.A, ODEN A. (2003). Mortality after osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*; 14:183-186
- JOHNSTON CC, FOROUD T. (2000). Genome screen for QTLs contributing to normal variation in bone mineral density and osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*; 85:3116-3120
- JOSEPH ML, EDWARD R. (1996). Osteoporosis: diagnosis and treatment of osteoporosis. *Bone Joint Surg*; 78(4):618-632

- JOUANNY P, GUÏLLEMÏN F, KUNTZ C, JAENDEL C, POUREL J. (1995). Environmental and genetic factors affecting bone mass. Similarity of bone density among members of healthy families. *Arthritis Rheum*;38: 61–7.
- JUNG GU KÏM, KYUNG SÏL LÏM, EUN KYUNG KÏM, YOUNG MÏN CHOÏ, JÏN YONG LEE. (2001). Association of vitamin D receptor and estrogen receptor genopolymorphisms with bone mass in postmenopausal Korean women *The Journal of The North American Menopause Society*; Vol. 8, No. 3: 222–228
- KALLÏO, P.R. GARANT, C. AND MÏNKÏN, D. (1972). Ultrastructural effects of calcitonin on osteoclasts in tissue culture. *J. Ultrastruct. Res.*; 39: 205–216.
- KANÏS JA, MELTON JR III, CHRÏSTÏANSEN C, JOHNSTON CC, KHALTAEV N. (1994). The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 9:1137–1141.
- KANÏS JOHN A, (1998); *Osteoporosis*
- KEEN R, WOODFORD-RÏCHENS K, GRANT S, RALSTON S, LANCHBURY J & SPECTOR T. (1999). Association of polymorphism at the type I collagen (COL1A1) locus with reduced bone mineral density, increased fracture risk, and increased collagen turnover. *Arthritis and Rheumatism*; 42 285-290.
- KEEN RW, SNÏEDER H, MOLLOY H, DANÏELS J, CHÏANO M, GÏBSON F, FAÏRBAÏRN L, SMÏTH P, MACGREGOR AJ, GEWERT D, SPECTOR TD. (2001). Evidence of association and linkage disequilibrium between a novel polymorphism in the transforming growth factor  $\alpha$ 1 gene and hip bone mineral density: a study of female twins. *Rheumatology*; 40:48–54
- KEEN RW, WOODFORD-RÏCHENS KL, LANCHBURY JS, SPECTORTD. (1998). Allelic variation at the interleukin-1 receptor antagonist gene is associated with early postmenopausal bone loss at the spine. *Bone*; 23:367–371
- KELLY, P. J.; HOPPER, J. L.; MACASKÏLL, G. T.; POCOCK, N. A.; Sambrook, P. N.; Eisman, J. A. (1991). Genetic factors in bone turnover. *J. Clin. Endocr. Metab*; 72: 808-813,
- KELSEY JL, BROWNER WS, SEELEY DG, NEVÏTT MC, CUMMÏNGS SR. (1992). Risk factors for fractures of the distal forearm and proximal humerus. The study of osteoporotic fractures research group. *Am J Epidemiol*; 135:477–489
- KETENCÏ A (1992) Türkiye’de Vertebral Osteoporozun Sıklığı ve Risk Faktörleri, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1-64
- KHOSLA S, RÏGGs BL, ATKÏNSON EJ, OBERG AL, MAVÏLÏA C, DEL MONTE F, MELTON LJ 3RD, BRANDÏ ML. (2004). Relationship of estrogen receptor genotypes to bone mineral density and to rates of bone loss in men. *J Clin Endocrinol Metab*; 89:1808–1816
- KHOSLA S., SHREYASEE AMÏN, AND ERÏC ORWOLL. (2008). Osteoporosis in Men *Endocrine Reviews*; 29(4):441–464
- KIEL DP, ZHANG Y, HANNAN MT. (1996). The effect of smoking at different life stages on bone mineral density in elderly men and women. *Osteoporos Int*; 6:240–248.

- KIN K, KUSHIDA K, YAMAZAKI K, OKAMOTO S, INOUE T. (1991). Bone mineral density of the spine in normal japanese subjects using dual-energy x-ray absorptiometry: Effects of obesity and menopausal status. *Calcif Tissue Int*; 49: 101-6.
- KOBAYASHI S, INOUE S, HOSOI T, OUCHI Y, SHIRAKI M, ORIMO H. (1996). Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res* 11:306-311
- KOLLER DL, ECONS MJ, MORIN PA, CHRISTIAN JC, HUI SL, PARRY P, CURRAN ME, RODRIGUEZ LA, CONNEALLY PM, JOSLYN G, PEACOCK M, JOHNSTON CC, FOROUD T. (2000). Genome screen for QTLs contributing to normal variation in bone mineral density and osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*; 85:3116-3120.
- KORPELAİNEN R, KORPELAİNEN J, HEIKKİNEN J, VAANANEN K, KEINANEN-KIUKAANNIEMI S. (2006). Lifelong risk factors for osteoporosis and fractures in elderly women with low body mass index: a population-based study. *Bone*; 39:385-391
- KROGER H, HUOPIO J, HONKANEN R, TUPPURAİNEN M, PUNTILA E, ALHAVA E, SAARIKOSKI S. (1995). Prediction of fracture risk using axial bone mineral density in a perimenopausal population: A prospective study. *J Bone Miner Res*; 10:302-306.
- KUTLU M, ODABAŞI E. (2004). Kemik Doku Ve Fizyolojisi. *Turkiye Klinikleri J Endokrin*; 2;73-89
- KUTSAL Y. G. (2005). *Osteoporoz*; Güneş Kitabevi Ankara
- LANGDAHL B, KNUDSEN JY, JENSEN HK, GREGERSEN N, ERİKSEN EF. (1997). A sequence variation: 713-8delC in the transforming growth factor- $\beta$  1 gene has higher prevalence in osteoporotic women than in normal women and is associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. *Bone*; 20:289-294
- LANGDAHL BL, LOKKE E, CARSTENS M, STENKJÆR LL, ERİKSEN EF. (2000). Osteoporotic fractures are associated with an 86-base pair repeat polymorphism in the interleukin-1-receptor antagonist gene but not with polymorphisms in the interleukin-1\_ gene. *J Bone Miner Res*; 15:402-414
- LAU HHL, HO AYY, LUK KDK, KUNG AWC. (2002). Estrogen receptor gene polymorphisms are associated with higher bone mineral density in premenopausal, but not postmenopausal southern Chinese women. *Bone*; 31:276-281
- LAZARIDES, E.; LUKENS, L. N. (1971). Collagen synthesis on polysomes in vivo and in vitro. *Nature N.B.*;232: 37-40,
- LEIBSON CL, TOTESON ANA, GABRIEL SE, RANSOM JE, MELTON JL III. (2002). Mortality, disability, and nursing home use for persons with and without hip fracture: a population-based study. *Journal of the American Geriatrics Society*; 50:1644-50.
- LIDÉN M., WILÉN B., LJUNGHALL S., MELHUS H. (1998). Polymorphism at the Sp 1 binding site in the collagen type I  $\alpha$ 1 gene does not predict bone density in postmenopausal women in Sweden. *Calcified Tissue International*; 63: 293-295
- LILLY. (2010). ELI LILLY AND COMPANY.  
[[http://www.lilly.com/pdf/bone\\_remodeling\\_process\\_1003.pdf](http://www.lilly.com/pdf/bone_remodeling_process_1003.pdf)]. Erişim: 23.12.2010

- LİM S. K., PARK Y. S., PARK J. M., SONG Y. D.; LEE E. J., KİM K. R., LEE H. C., HUH K. B. (1995). Lack of association between vitamin D receptor genotypes and osteoporosis in Koreans. *J. Clin. Endocr. Metab*; 80: 3677-3681,
- LİNDZAY R. (1998). The role of estrogen in the prevention of osteoporosis. *Endocrinol Metabol Clin North Am*, 27:399-409
- LONZER MD, IMRIE R, ROGERS D, WORLEY D, LİCATA A, SECİC M. (1996). Effects of heredity, age, weight, puberty, activity, and calcium intake on bone mineral density in children. *Clin Pediatr (Phila)*; 35:185-189
- LOPEZ JM, GONZALES G, REYES V, CAMPİO C, DÍAZ S. (1996). Bone Turnovers and density in healty women during breast feding and after weaning. *Osteoporosis int*; 6: 153-159
- LORENTZON, M.; LORENTZON, R.; BACKSTROM, T.; NORDSTROM, P. (1999). Estrogen receptor gene polymorphism, but not estradiol levels, is related to bone density in healthy adolescent boys: a cross-sectional and longitudinal study. *J. Clin. Endocr. Metab*; 84: 4597-4601,
- LUBEC B, FANG-KİRCHER S, LUBEC T, BLOM HJ, BOERS GHJ. (1996). Evidence for McKusick's hypothesis of deficient collagen crosslinkin in patients with homocystinuria. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*; 1315:159-162
- LUCOTTE G, MERCIER G, BURCKEL A. (1999). The vitamin D receptor FokI start codon polymorphism and bone mineral density in osteoporotic postmenopausal French women. *Clin Genet*; 56:221-4.
- LUNT M, MASARYK P. (2001). The effects of lifestyle, dietary intake, and diabetes on bone density and vertebral deformity prevalance: The EVOS study. *Osteoporos Int*; 12:688-698.
- LUTZ J, TESAR R. (1990). Mother-daughter pairs: spinal and femoral bone densities and dietary intakes. *Am J Clin Nutr*; 52:872-877
- LUTZ J. (1986). Bone mineral, serum calcium, and dietary intakes of mother/daughter pairs. *Am J Clin Nutr*; 44:99-106
- MACGİLLİVRAY MH, MORİSHİMA A, CONTE F, GRUMBACH M, SMİTH EP. (1998). Pediatric endocrinology update: an overview—the essential roles of estrogens in pubertal growth, epiphyseal fusion and bone turnover: lessons from mutations in the genes for aromatase and the estrogen receptor. *Horm Res*; 49:2-8
- MACLENNAN WJ. (1999). History of arthritis and bone rarefaction evidence from paleopathology onwards. *Scott Med J*;44: 18-20.
- MAGAZİNER J, HAWKES W, HEBEL JR, ZİMERMAN SI, FOX KM, DOLAN M. (2000). Recovery from hip fracture in eight areas of function. *Journal of Gerontology: Medical Sciences*; 55A(9):M498-507.
- MANN V, RALSTON SH (2003) Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone*; 32:711-717

- MASÌ L, BECHERÌNÌ L, GENNARÌ L, AMEDEÌ A, COLLÌ E, FALCHETTÌ A, FARCÌ M, SILVESTRI S, GONNELLÌ S, BRANDÌ ML . (2001). Polymorphism of the aromatase gene in postmenopausal Italian women: distribution and correlation with bone mass and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab*; 86:2263–2269
- MASÌ, L.; BECHERÌNÌ, L.; COLLÌ, E.; GENNARÌ, L.; MANSANÌ, R.; FALCHETTÌ, A.; BECORPÌ, A. M.; CEPOLLARO, C.; GONNELLÌ, S.; TANINÌ, A.; BRANDÌ, M. L. (1998). Polymorphisms of the calcitonin receptor gene are associated with bone mineral density in postmenopausal Italian women. *Biochem. Biophys. Res. Commun*; 248: 190-195,
- MAZESS RB, WAHMER HBW. (1988). Nuclear Medicine and densitometry. In Riggs BL, Melton JL (ed) *Osteoporosis*, 1st edition, Raven Press, New YORK; 251-297
- MCGUÍGAN F. E. A., REÍD D. M. AND RALSTON S. H. (2000). Susceptibility to Osteoporotic Fracture is Determined by Allelic Variation at the Sp1 Site, Rather than Other Polymorphic Sites at the COL1A1 Locus *Osteoporos Int* 11:338–343
- MELTON LJ III. (1995). How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res*;10: 175-179
- MELTON LJ, ATKINSON EJ, O'CONNOR MK. (1998). Bone density and fracture risk in men. *J Bone Miner Res*;12: 1915–23
- MÍYAO M, HOSOÍ T, INOUE S, HOSHINO S, SHIRAKÍ M, ORÍMO H, OUCHÍ Y. (1998). Polymorphism of insulin-like growth factor I gene and bone mineral density. *Calcif Tissue Int* ;63:306–311
- MÍYAO M, MORÍTA H, HOSOÍ T, KURÍHARA H, INOUE S, HOSHINO S, SHIRAKÍ M, YAZAKÍ Y, OUCHÍ Y. (2000). Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Calcif Tissue Int*; 66:190–194
- MÍZUNUMA H, HOSOÍ T, OKANO H. (1997). Estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density at the lumbar spine of pre and postmenopausal women. *Bone*; 21:379–83.
- MOLLER M, HORSMAN A, HARVALD B, HAUGE M, HENNINGSSEN K, NORDIN BEC. (1978). Metacarpal morphometry in monozygotic and dizygotic elderly twins. *Calcif Tiss Res*; 25:197–201
- MORRISON NA, QÍ JC, TOKÍTA A, KELLY PJ, CROFTS L, NGUYEN TV, SAMBROOK PN, EÍSMAN JA. (1994). Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*; 367:284–287
- MORRISON NA, QÍ JC, TOKÍTA A, KELLY PJ, CROFTS L, NGUYEN TV, SAMBROOK PN, EÍSMAN JA. (1997). Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. Correction *Nature*; 387: 106
- MORRISON, N. A.; YEOMAN, R.; KELLY, P. J.; EÍSMAN, J. A. (1992). Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphisms and circulating osteocalcin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*; 89: 6665-6669,
- MURRAY RE, MCGUÍGAN F, GRANT SF, REÍD DM, RALSTON SH. (1997). Polymorphisms of the interleukin-6 gene are associated with bone mineral density. *Bone*; 21:89–92

- NAKAMURA, M.; ZHANG, Z. Q.; SHAN, L.; HİSA, T.; SASAKİ, M.; TSUKİNO, R.; YOKOİ, T.; KANAME, A.; KAKUDO, K. (1997). Allelic variants of human calcitonin receptor in the Japanese population. *Hum. Genet*; 99: 38-41,
- NCHS. (2008a) National Center for Health Statistics, Trends in Health and Aging. Erişim: 23.12.2010. [<http://www.cdc.gov/nchs/agingact.htm>.]
- NCHS. (2008b) National Center for Health Statistics, Trends in Health and Aging. Erişim: 23.12.2010. [<http://209.217.72.34/aging/ReportFolders/ReportFolders.aspx>.]
- NELSON HD. (2002). Screening for postmenopausal osteoporosis: A review of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Int Med*;137:529–543
- NEVİTT ME. (1994). Epidemiology of osteoporosis. *Rheum Dis Clin North Am*; 20:535
- NGUYEN T, SAMBROOK P, EISMAN J. (1998). Bone loss, physical activity, and weight change in elderly women. *J Bone Miner Res*;13:1458–1467
- NİNOMİYA, Y.; OLSEN, B. R. (1984). Synthesis and characterization of cDNA encoding a cartilage-specific short collagen. *Proc. Nat. Acad. Sci.*; 81: 3014-3018,
- NORDİN BEC, MORRİS HA. (1989). The calcium deficiency model for osteoporosis *Nutr Rew*; 47:65-72
- NUTİ R, MARTİNİ G, GEMNARİ C. (1993). Total Body spine and Femur Dual X-Ray Absorbtiometry in spinal Osteoporosis, *Calcif Tissue Int*; 53: 388
- ODABAŞI E. (2010). Kemik Mineral Yoğunluk Ölçümünün Klinik Değeri. [<Http://Www.Gata.Edu.Tr/Dahilibilimler/Ichastaliklari/Files/Kitaplar/141.Pdf>]. Erişim:23.12.2010
- OGAWA S, HOSOİ T, SHİRAKİ M, ORİMO H, EMİ M, MURAMATSU M, OUCHİ Y, INOUE S. (2000). Association of estrogen receptor  $\alpha$  gene polymorphism with bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun*; 269:537–541
- OMASU, F.; EZURA, Y.; KAJİTA, M.; İSHİDA, R.; KODAİRA, M.; YOSHİDA, H.; SUZUKİ, T.; HOSOİ, T.; INOUE, S.; SHİRAKİ, M.; ORİMO, H.; EMİ, M. (2003). Association of genetic variation of the RIL gene, encoding a PDZ-LIM domain protein and localized in 5q31.1, with low bone mineral density in adult Japanese women. *J. Hum. Genet.*; 48: 342-345
- OMİM. (2010a). Osteoporosis. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/166710>] Erişim: 08.03.2010
- OMİM. (2010b). COL1A1. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/120150>]. Erişim: 07.03.2010
- OMİM. (2010c). ESR. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/133430>]. Erişim: 08.03.2010
- OMİM. (2010d). VDR. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/601769>]. Erişim: 19.10.2010
- OMİM. (2010e). CTR. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>]. Erişim: 08.10.2010
- ONGPHİLPHADHANAKUL N, RAJATANAVİN R, CHANGPRASERTYOTHİN S. (1998). Estrogen receptor gene polymorphism is associated with bone mineral density in premenopausal women but not in postmenopausal women. *J Endocrinol Invest*; 21:487–93.



- ORİMO H, SUGİOKA Y, FUKUNAGA M, MUTO Y. (1998). Diagnostic criteria of primary osteoporosis. *J Bone Miner Metab*; 16:139–50.
- OSTLERE SJ GOLD RH. (1991). Osteoporosis And Bone Density Measurement Methods. *Clin Orth, Res.*; 271:150
- OTA, N., HUNT, S. C., NAKAJİMA, T., SUZUKİ, T., HOSOİ, T., ORİMO, H., SHİRAİ, Y., EMİ, M. (1999). Linkage of interleukin 6 locus to human osteopenia by sibling pair analysis. *Hum. Genet.*; 105: 253-257
- OTA, N., NAKAJİMA, T., NAKAZAWA, I., SUZUKİ, T., HOSOİ, T., ORİMO, H., INOUE, S., SHİRAİ, Y., EMİ, M. ( 2001). A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin-6 gene associated with decreased bone mineral density. *J. Hum. Genet.*; 46: 267-272
- ÖZEL A. (2005). Sağlıklı Kadınlarda Postmenopozal Hormon Replasman Tedavisinde Hs-Crp Düzeyi İle Sigara Kullanımı Arasındaki İlişkinin Araştırılması T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Doğumevi Kadın Ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi Uzmanlık Tezi
- ÖZTÜRK T. (2008). Türk Populasyonunda Kalsitonin Reseptör (Ctr) Geni Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi İle Belirlenmesi Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
- PAKER N, SARICA M, B, TEKDOŞ D, KAYA B, BUĞDAYCI S,D. (2005). Postmenopozal Kemik Kaybı Olan Kadınlarda Kemik Döngüsü. *Osteoporoz Dünyasından*; 4: 155-158.
- PALMAS PD. (1988). Biochemical Markers of Bone Turnover in osteoporosis İn riggs BL, Melton JL (ed.). *Osteoporosis*, 1st edition, Raven Press, New YORK; 297-316
- PALMAS PD. (1993). Biochemical Markers of Bone Turnover *Am J Med.*; 95: 11
- PALOMBA (2003a) Raloxifene administration in post-menopausal women with osteoporosis: effect of different BsmL vitamin receptor genotypes. *Human Reproduction*; 18,1, 192-198.
- PALOMBA. (2003b). Effectiveness of alendronate treatment in postmenopausal women with osteoporosis: relationship with BsmL vitamin D receptor genotypes. *Clinical Endocrinology*; 58, 365-371.
- PARFİTT MA. (1993). Bone age, mineral Density And Fatigue Damage. *Calcif TissueInt*; 53: S82
- PARFİTT MA. (1988). Bone Remodeling. İn rings BL, Melton JL (ed.). *Osteoporosis*, 1st edition, Raven Press, New YORK, 45-95
- PARVIAİNEN MT, PIRSHANEN A, MAHONEN A, ALHAVA EMMAENPAN HP. (1991). Use of noncollagen Markersin osteoporosis Studies. *Calcif Tissue Int*; 49: 26-30
- PEACOCK M, HUSTMYER FG, HUI S, JOHNSTON CC, CHRISTIAN J. (1995). Vitamin D receptor genotype and bone mineral density—evidence conflicts on link. *Br Med J*; 311: 874–875
- PEACOCK M, TURNER CH, ECONS MJ & FOROUD T. (2002). Genetics of osteoporosis. *Endocrine Review*; 23 303–326.
- PECK WA, WOODS W. (1988). The cells of bone. İn Rigs BL Melton JL (ed.). *Osteoporosis*, 1st edition, Raven Press, New YORK,1-444

- PEREZ JURADO, L. A.; LÌ, X.; FRANCKE, U. (1995). The human calcitonin receptor gene (CALCR) at 7q21.3 is outside the deletion associated with the Williams syndrome. *Cytogenet. Cell Genet*; 70: 246-249,
- POCOCK NA, EÏSMAN JA, HOPPER JL, YEATES MG, SAMBROOK PN, EBERT S. (1987). Genetic determinants of bone mass in adults: a twin study. *J Clin Invest*; 80:706–710
- POLLAK A, ROKACH A, BLUMENFELD A, ROSEN LJ, RESNÌK L, DRESNER POLLAK R. (2004). Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphism with the angiographic extent of coronary artery disease. *Eur Heart J*; 25(3):240-5.
- PROCKOP DJ, COLÌGE A, HELMÌNEN H, KHÌLLAN JS, PEREÌRA R, VANDENBERG P. (1993). Mutations in type I procollagen that cause osteogenesis imperfecta: effects of the mutations on the assembly of collagen into fibrils, the basis of phenotypic variations, and potential antisense therapies. *J Bone Miner Res*; 8:489–492
- QÌN YJ, SHEN H, HUANG QR, ZHAO LJ, ZHOU Q, LÌ MX, HE JW, MO XY, LU JH, RECKER RR, DENG HW. (2003). Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and peak bone density in Chinese nuclear families. *J Bone Miner Res*; 18:1028–1035
- RAISZ LG. (2005). Clinical Practica, Screening For Osteoporosis, *N Engl J Med*; 353(2), 164-171.
- RALSTON S H. (2002). Genetic Control of Susceptibility to Osteoporosis The Journal of Clinical *Endocrinology & Metabolism*; 87(6):2460–2466.
- RALSTON SH, UÌTTERLÌNDEN AG, BRANDÌ ML (2006) Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. *PLoS Med*; 3:e90
- RAYMONDMH,SCHUTTE BC, TORNER JC, BURNS TL, WÌLLÌNGMC. (1999). Osteocalcin: genetic and physical mapping of the human gene BGLAP and its potential role in postmenopausal osteoporosis.*Genomics*; 60:210–217
- REÌD I. (2002). Relationships among body mass, its components and bone. *Bone*; 31:547–555 .
- RETÌEF, E.; PARKER, M. I.; RETÌEF, A. E. (1985). Regional chromosome mapping of human collagen genes alpha 2(I) and alpha 1(I) (COLIA2 and COLIA1). *Hum. Genet.*; 69: 304-308,
- REYNOLDS, J.J. (1968). Inhibition by calcitonin of bone resorption induced in vitro by vitamin A. *Proc. R. Soc.*; B 170: 61–69.
- RÌCHELSON LS., WAHNER HW., MELTON LJ.,RÌGGS BL. (1984). Relative Contribution of aging and estrogen deficiency to potmenopausal bone loss. *N Engl J Med*; 311: 1273-1275
- RÌGGS BL. (1988). Clinical Spectrum In Riggs BL, Melton JL (ed) *Osteoporosis*, 1st edition, Raven Press, New YORK; 155-180
- RÌSS JB. (1993). Biochemical Markers of Bone Turnover II. *Am J Med*; 95: 17
- RÌSTELÌ J, MELKHO J, NÌEMÌ S, RÌSTELLÌ LL. (1991). Use of a marker of callagen formation in osteoporosis Studies, *Calcif Tissue Int.*; 49:24
- RÌZZOLÌ R, BONJOUR J-P, FERRARÌ S L. (2001). Osteoporosis, genetics and hormones. *Journal of Molecular Endocrinology*; 26: 79–94.98

- ROODMAN GD. (1996). Advanced bone biology: the osteoklast. *Endocr Rev*; 17:308-32.
- ROSEN CJ, KURLAND ES, VERAULT D, ADLER RA, RACKOFF PJ, CRAIG WY, WITTE S, ROGERS J, BILEZİKIAN JP 1998 Association between serum insulin growth factor-I (IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-I gene: implications for genetic studies of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab*; 83:2286–2290
- ROSENBERG AE. (1991). The pathology of metabolic bone disease. *Radiol Clin North Am*; 29(1):19-36.
- RUBEY PG, FISHER LW, YOUNG MF. (1988). The Biochemistry Of Bone. In Riggs BL, Melton JL, (ed.) *Osteoporosis*, Raven Press 1st Edition, , New YORK; 95-111
- S.VIGUET-CARRİN; P. GARNERO; P.D. DELMAS. (2006). The role of collagen in bone strength *Osteoporos Int.*; 17: 319–336
- SAİJO T, ITO N, TAKEDA E. (1991). A unique mutation in the vitamin D receptor gene in three Japanese patients with vitamin D-dependent rickets type II: utility of single-strand conformation polymorphism analysis for heterozygous carrier detection. *Am J Hum Genet*; 49:668–73.
- SAİNZ J, VAN TORNOUT J, SAYRE J, KAUFMAN F & GİLSANZ V. (1999). Association of collagen type 1a1 gene polymorphism with bone density in early childhood. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 84 853-855.
- SALAMONE LM, CAULEY JA, ZMUDA J, PASAGİAN-MACAULAY A, EPSTEİN RS, FERRELL RE, BLACK DM, KULLER LH. (2000). Apolipoprotein E gene polymorphism and bone loss: estrogen status modifies the influence of apolipoprotein E on bone loss. *J Bone Miner Res.*; 15: 308–314
- SALMEN (2000) Early postmenopausal bone loss is associated with PvuII estrogen receptor gene polymorphism in Finnish women: effect of hormone replacement therapy. *Journal of Bone and Mineral Research*; 15 (2): 315-321.
- SANO M, INOUE S, HOSOI T, OUCHI Y, EMİ M, SHİRAKİ M, ORİMO H. (1995). Association of estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism with osteoporosis. *Biochem Biophys Res Commun*; 217:378–383
- SCİENCEFORALL. (2010). [<http://scienceforall.org/2010/06/20/hardy-weinberg-equilibrium-calculator>]. Erişim: 20.06.2010
- SEELEY DG, BROWNER WS, NEVİTT MC, GENANT HK, SCOTT JC, CUMMİNGS SR. (1991). Which fractures are associated with low appendicular bone mass in elderly women? The study of of osteoporotic fractures research group. *Ann Intern Med*; 115: 837–842.
- SEEMAN E, HOPPER JL, BACK LA, COOPER ME, PARKİNSON E, MCKAY J, JERMUS G. (1989). Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Engl J Med*; 320:554–558
- SEEMAN E, TSALAMANDRİS C, FORMİCA C, HOPPER JL, MCKAY J. (1994). Reduced femoral neck bone density in the daughters of women with hip fractures: the role of low peak bone density in the pathogenesis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 9:739–743
- SEEMAN E. (1993). Osteoporosis in Man . *Am J Med*; 95S: 5A

- SEEMAN, E.; HOPPER, J. L.; BACH, L. A.; COOPER, M. E.; PARKINSON, E.; MCKAY, J.; JERUMS, G. (1989). Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *New Eng. J. Med.*; 320: 554-558,
- SHEARMAN AM, KARASÍK D, GRUENTHAL KM, DEMÍSSÍE S, CUPPLES LA, HOUSMAN DE, KÍEL DP. (2004). Estrogen receptor beta polymorphisms are associated with bone mass in women and men: the Framingham Study. *J Bone Miner Res* 19:773–781
- SHÍRAKÍ M, SHÍRAKÍ W, AOKÍ C, HOSOÍ T, INOUE S, KANEKÍ M, OUCHÍ Y. (1997). Association of bone mineral density with apolipoprotein E phenotype. *J Bone Miner Res*; 12:1438–1445
- SLEMENDA CW, CHRÍSTIAN JC, WÍLLÍAMS CJ, NORTON JA, JOHNSTON JR CC. (1991). Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J Bone Miner Res*; 6: 561–567
- SMÍTH DM, NANCE WE, KANG KW, CHRÍSTIAN JC, JOHNSTON JR CC. (1973). Genetic factors in determining bone mass. *J Clin Invest*; 52: 2800–2808
- SMÍTH EP, BOYD J, FRANK GR, TAKAHASHÍ H, COHEN RM, SPECKER B, WÍLLÍAMS TC, LUBAHN DB, KORACH KS. (1994). Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med* 331:1056–1061
- SMÍTH EP, BOYD J, FRANK GR, TAKAHASHÍ H, COHEN RM, SPECKER B, WÍLLÍAMS TC, LUBAHN DB, KORACH KS. (1994). Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med*; 331:1056–1061
- SMÍTH MR. (2007). Androgen deprivation therapy for prostate cancer: new concepts and concerns. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*; 14:247–254
- SOWERS M, WÍLLÍNG M, BURNS T.(1999). Genetic markers, bone mineral density and serum osteocalcin levels. *J Bone Miner Res*;14:1411–9.
- SOWERS MR, BOEHNKE M, JANNAUSCH ML, CRUTCHFIELD M, CORTON G, BURNS TL. (1992). Familiality and partitioning the variability of femoral bone mineral density in women of child-bearing age. *Calcif Tissue Int*; 50:110–114
- SOWERS MR, BURNS TL, WALLACE RB. (1986). Familial resemblance of bone mass in adult women. *Genet Epidemiol*; 3:85–93
- SOWERS, M.; JANNAUSCH, M. L.; LIANG, W.; WÍLLÍNG, M. (2004). Estrogen receptor genotypes and their association with the 10-year changes in bone mineral density and osteocalcin concentrations. *J. Clin. Endocr. Metab*; 89: 733-739,
- SPOTÍLA LD, RODRÍGUEZ H, KOCH M, ADAMS K, CAMÍNIS J, TENENHOUSE HS, TENENHOUSE A. (2000). Association of a polymorphism in the TNFR2 gene with low bone mineral density. *J Bone Miner Res*; 15:1376–1383
- SPSS 16.0 (PAW)
- SPSS 18.0(PAW)

- STYRKARSDOTTİR, U.; HALLDORSSON, B. V.; GRETARSDOTTİR, S.; GUDBJARTSSON, D. F.; WALTERS, G. B.; INGVARSSON, T.; JONSDOTTİR, T.; SAEMUNSDOTTİR, J.; CENTER, J. R.; NGUYEN, T. V.; BAGGER, Y.; GULCHER, J. R.; EİSMAN, J. A.; CHRISTİANSEN, C.; SİGURDSSON, G.; KONG, A.; THORSTEİNSDOTTİR, U.; STEFANSSON, K. (2008). Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *New Eng. J. Med*; 358: 2355-2365,
- SUNDAR RAJ, C. V.; CHURCH, R. L.; KLOBUTCHER, L. A.; RUDDLE, F. H. (1977). Genetics of the connective tissue proteins: assignment of the gene for human type I procollagen to chromosome 17 by analysis of cell hybrids and microcell hybrids. *Proc. Nat. Acad. Sci*; 74: 4444-4448,
- SUNDEEP K SUNDEEP KHOSLA, SHREYASEE AMİN AND ERİC ORWOLL. ( 2008). *Endocr. Rev*; 29:441-464
- ŞAHİN Y, KIRAZLI Y, AKŞİT R. (1998). Erken Dönem Postmenopozal Kadınlarda Obesiteyle Kemik Mineral Yoğunluğu Arasındaki İlişki. *Fiziksel Tıp Dergisi*; 1: 19-24.
- ŞİMSEK M., ÇETİN Z, BİLGEN T., TASKİN Ö, LULECİ G., KESE İ. (2008). Effects of hormone replacement therapy on bone mineral density in Turkish patients with or without COL1A1 Sp1binding site polymorphism *J. Obstet. Gynaecol.*; Vol. 34, No. 1: 73-77
- TABOULET, J., FRENKİAN, M., FREUDO, J. L., FEİNGOLD, N., JULLİENNE, A., AND DE VERNEJOUL, M.C. (1998). Calcitonin reseptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in post-menopausal women. *Hum. Mol. Genet.*; 7: 2129-2133.
- TAKACS I, KOLLER DL, PEACOCK M, CHRISTİAN JC, EVANS WE, HUİ SL, CONNEALLY PM, JOHNSTON CC, FOROUD T, ECONS MJ. (2000). Sib pair linkage and association studies between bone mineral density and the interleukin-6 gene locus. *Bone*; 27:169-173
- TAKACS I, KOLLER DL, PEACOCK M, CHRISTİAN JC, HUİ SL, CONNEALLY PM, JOHNSTON JR CC, FOROUD T, ECONS MJ. (1999). Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and the insulin-like growth factor I gene locus. *J Clin Endocrinol Metab*; 84:4467-4471
- TAYLOR KA, LEUKEN AS, LİBANATİ C, BAYLİNK DJ. (1994). Biochemical Markers Of Bone Turnoverfor The Clinial Assesment Of Bone Metabolism. *Rheum Dis Clin North Am.*; 20:589
- THEOBALD H.E. (2005) Dietary calcium and health. *British Nutrition Foundation Nutrition bulletin*; 30:237-277
- TİP2000. (2010). [<http://www.tip2000.com/doktorlar/osteoporoz.html>]. Erişim: 22.12.2010
- TOBİAS, J. H.; STEER, C. D.; VİLARİNO-GUELL, C.; BROWN, M. A. (2007). Estrogen receptor alpha regulates area-adjusted bone mineral content in late pubertal girls. *J. Clin. Endocr. Metab.*; 92: 641-647,
- TOFTENG, C. L.; BACH-MORTENSEN, P.; BOJESEN, S. E.; TYBJAERG-HANSEN, A.; HYLDSTRUP, L.; NORDESTGAARD, B. G. (2007). Integrin beta-3 leu33-to-pro polymorphism and risk of hip fracture: 25 years follow-up of 9233 adults from the general population. *Pharmacogenet. Genomics*; 17: 85-91,
- TOSTESON AN, HAMMOND CS. (1995). Effect of menopause on femoral and vertebral bone loss. *J Bone Miner Res*; 10:20-24.

- TSAI FJ, CHEN WC, CHEN HY, TSAI CH. (2003). The ALUI calcitonin receptor gene polymorphism (TT) is associated with low bone mineral density and susceptibility to osteoporosis in postmenopausal women. *Gynecol Obstet Invest*; 55: 82-7.
- TSUJÍ S, MUNKHBAT B, HAGIHARA M, TSURITANI I, ABE H, TSUJÍ K. (1998). HLA-A-A\*24-B\*07-DRB1\*01 haplotype implicated with genetic disposition of peak bone mass in healthy young Japanese women. *Hum Immunol*; 59:243–249
- TSUKAMOTO K, ORIMO H, HOSOI T, MIYAO M, OTA N, NAKAJIMA T, YOSHIDA H, WATANABE S, SUZUKI T, EMÍ M. (2000). Association of bone mineral density with polymorphism of the human calciumsensing receptor locus. *Calcif Tissue Int*; 66:181–183
- TÜZÜN F. (2003). *Kemik Eklem dekatında osteoporoz ve kemik kalitesi*.
- TYLAVSKY FA, BORTZ AD, HANCOCK RL, ANDERSON JJ. (1989). Familial resemblance of radial bone mass between premenopausal mothers and their college-age daughters. *Calcif Tissue Int*; 45:265–272
- TZAKAS P, WONG BY, LOGAN AG. (2005) Transforming growth factor beta-1 (TGFB1) and peak bone mass: Association between intragenic polymorphisms and quantitative ultrasound of the heel. *BMC Musculoskelet Disord*; 6:29
- UITTERLINDEN A, RALSTON SH, BRANDÍ ML. (2006) The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Int Med*; 145:255–264
- UITTERLINDEN A, WEEL A, BURGER H, FANG Y, VAN DUIJN C, HOFMAN A, VAN LEEUWEN J, POLS H. (2001). Interaction between the vitamin D receptor gene and collagen type I alpha I gene in susceptibility for fracture. *J Bone Miner Res*; 16:379–385
- 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. (1998). Relation of alleles of the collagen type I-alpha-1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *New Eng. J. Med*; 338: 1016-1021,
- UITTERLINDEN, A. G.; RALSTON, S. H.; BRANDÍ, M. L.; CAREY, A. H.; GRINBERG, D.; LANGDAHL, B. L.; LÍPS, P.; LORENC, R.; OBERMAYER-PIETSCH, B.; REEVE, J.; REID, D. M.; AMÍDEÍ, A. (2006). and 23 others : The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann. Intern. Med*; 145: 255-264,
- URANO T, HOSOI T, SHIRAKI M, TOYOSHIMA H, OUCHI Y, INOUE S. (2000). Possible involvement of the p57Kip2 gene in bone metabolism. *Biochem Biophys Res Commun*; 269:422–426
- VAANANEN KV. (1991). Pathogenesis of Osteoporosis, *Calcif Tissue Int*; 49:11
- VAL MANN, EMMA E. HOBSON, BAOHUA LI, TRACY L. STEWART, STRUAN F.A. GRANT, SIMON P. ROBINS, RICHARD M. ASPDEN, STUART H. RALSTON . A COL1A1. (2001). Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest*; 107: 899–907.)
- VAN DEER PLAS A, NIJWEIDE PJ. (1992). Isolation and purification of osteocytic osteolysis. *J Bone Miner Res*; 7:389-96

- VAN MEURS, J. B. J.; SCHUIJT, S. C. E.; WEEL, A. E. A. M.; VAN DER KLIFT, M.; BERGINK, A. P.; ARP, P. P.; COLIN, E. M.; FANG, Y.; HOFMAN, A.; VAN DUIJN, C. M.; VAN LEEUWEN, J. P. T. M.; POLS, H. A. P.; UITTERLINDEN, A. G. (2003). Association of 5-prime estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density, vertebral bone area and fracture risk. *Hum. Molec. Genet*; 12: 1745-1754,
- VANDEVYVER C, VANHOOF J, DECLEDCK K. (1999). Lack of association between estrogen receptor genotypes and bone mineral density, fracture history, or muscle strength in elderly women. *J Bone Miner Res*;14:1576-82.
- WANG MC. (1997). Associations of vitamin C, calcium and protein with bone mass on postmenopausal Mexican American women. *Osteoporos Int*; 7:533-538.
- WHO. (1994). Assesment of osteoporotik fracture Risk and its role in screening for postmenapausal osteoporosis. *WHO technical Report Series, Genova*
- WILLING M, SOWERS M, ARON D. (1998). Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction. *J Bone Miner Res*; 13:695-705.
- WILLING MC, TORNER JC, BURNS TL, SEGAR ET, WERNER JR 1997 Determinants of bone mineral density in postmenopausal white Iowans. *J Gerontol [A]* 52A:M337-M342
- WÜSTER C. (1993) Growth hormone and bone metabolism. *Acta Endocrinol*; 128:14-8.
- YAMADA Y, MIYAUCHI A, GOTO J, TAKAGI Y, OKUZUMI H, KANEMATSU M, HASE M, TAKAI H, HARADA A, IKEDA K. (1998) Association of a polymorphism of the transforming growth factor  $\beta 1$  gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res*; 13:1569-1576
- YANK B, ATALAR H, KÜLCÜ G.D, GÖKMEN D. (2007). Postmenopozal Kadınlarda Vücut Kütle İndeksinin Kemik Mineral Yoğunluğuna Etkisi. *Osteoporoz Dünyasından*; 13:56-9.
- YARAMAN N, ÇELİK C, KARAOĞLAN B. (2002). Postmenopozal Kadınlarda Osteoporoz ile Çok Yönlü Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi. *Fiziksel Tıp Dergisi*; 5: 23-26.
- YUNUSOĞLU K (2001) Osteoporozun Diyetle İlişkisi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Bilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1-45
- ZHANG-Z, MENG X, ZHOU X. (2001). The association of calcitonin receptor genotypes with bone mineral density in Chinese women of Han nationality. *Chin Med J (Engl)*; 114: 122-9.
- ZMUDA JM, CAULEY JA, DANIELSON ME, THEOBALD TM, FERRELL RE. (1999). Vitamin D receptor translation initiation codon polymorphism and markers of osteoporotic risk in older African-American women. *Osteoporos Intern*; 9:214-9.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** Halil ÖZBAŞ

**Ev tel :** 0246 242 95 57

**GSM :** 0533 347 39 79

**e-mail :** drozbas@yahoo.com

**Adres :** Halıkent Mah. Gülba sitesi A1 Blok Daire : 5 32300 / ISPARTA

**Eğitim: Üniversite:** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (İngilizce Bölümü 1997) /  
ANKARA

**Lise :** İzmir Fen Lisesi / İZMİR

**İlk ve orta okul:** Karamanlı / BURDUR

**Askerlik :** Yaptım (Terhis 14 Aralık 2000 ) İZMİR

**İş :**

Isparta Doğum Ve Çocuk Bakımevi Hastanesi 2002- ...

Isparta İli Yeni Doğan İşitme Tarama İl Sorumlusu 2005- ...

Isparta Doğum Ve Çocuk Bakımevi Yeni Doğan İşitme Tarama Ünitesi 2005- ...

Isparta Doğum Ve Çocuk Bakımevi Hastanesi Başhekim Yardımcılığı 2002-2005

Isparta Gençlik Ve Spor İl Müdürlüğü Kurum Hekimliği 999-2002

Isparta Merkez Vatan Sağlık Ocağı Hekimliği 1998-1999

Isparta Devlet Hastanesi Acil Hekimliği 1998-1999

Diyarbakır Lice Sağlık Ocağı hekimliği 1997-1998

**Yayın:**

1. Yaman H, Özbaş H, Toraman F, Yaman A. The use of a standardized pre-participation physical examination form in Turkish adolescent athletes. Saudi Med J. 2005 Feb;26(2):230-3. PMID: 15770296 [PubMed - indexed for MEDLINE]



**Poster:**

1. **Halil Özbaş**, Serap Tutgun Onrat, Kazım Özdamar, Necat İmirzalıoğlu  
İnsan Osteoporozunda Genetik Ve Çevresel Faktörler
2. **Halil Özbaş**, Serap Tutgun Onrat, Kazım Özdamar, Necat İmirzalıoğlu  
Postmenapozal Kadınlarda Genetik Faktörlerin Osteoporozla İlişkisi

**Hedef:** Tıbbi Genetik Uzmanı olarak Tıbbi Genetik Alanında Bilimsel Çalışma Ve Araştırma yapmak.

**Üyelik:** Tıbbi Genetik Derneği

**Gönüllü Çalışma Grupları :** Ulusal Medikal Kurtarma Ekibi (UMKE) Üyeliği

**Nitelikler:** Detaylı araştırma becerisi

Çabuk ve doğru karar verebilme becerisi

Orta düzeyde İngilizce konuşabilme ve yazabilme

Orta derecede bilgisayar kullanabilme

Amatör kayakçı

Evli 2 Kız Babası Ailesi ile vakit geçirmeyi seven