



**TC  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**TİP II DİYABETLİ HASTALARDA  
KEMİK METABOLİZMASINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER**

**Dr. Sevgi EREN**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**

**2007**

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Sevgi EREN'E ait "Tip II Diyabetli Hastalarda Kemik Metabolizmasındaki Değişiklikler" adlı çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 14/ 03/ 2007

|              |   |      |
|--------------|---|------|
| Jüri Başkanı | Prof. Dr. Ömer ÇOLAK<br>Biyokimya Anabilim Dalı   | İmza |
| Üye          | Prof. Dr. Özkan ALATAŞ<br>Biyokimya Anabilim Dalı | İmza |
| Üye          | Doç. Dr. Sema USLU<br>Biyokimya Anabilim Dalı     | İmza |

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun .....Tarih ve ..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Erol GÖKTÜRK  
Dekan

## ÖZET

**Eren, S. Tip II Diyabetli Hastalarda Kemik Metabolizmasındaki Değişiklikler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir,2007.**Osteoporoz düşük kemik kütlesinin olduğu, kemiğin mikromimarisinin bozulduğu, kemik gücünün azalması ile karakterize kronik, ilerleyici bir hastalıktır. Bu durum kemiğin kırık riskinde artma ile birlikte dir. Diyabet çeşitli klinik ve biyokimyasal bulgularla seyreden ve birçok sistemi etkileyebilen kronik bir metabolizma hastalığıdır. Birçok araştırmada tip 1 diyabette düşük kemik mineral yoğunluğu (KMY) değerleri bildirilmektedir. Tip 2 diyabette ise diyabetik olmayan kontrol grubuna göre daha düşük, benzer veya daha yüksek değerleri gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada tip 2 diyabetik erkek, pre ve postmenopozal kadın olguların KMY değerlerini sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmak ve bu hastalarda;biyokimyasal kemik yapım ve yıkım markırları: osteokalsin (OC), kemik alkale fosfataz (BALP), deoksidridinyum (DPD),  $\beta$ -CrossLaps ( $\beta$ CTX) düzeylerinin ölçümüyle osteoporoz durumunun ve patofizyolojisinin açıklanmasına katkıda bulunmayı amaçladık. Tip 2 diyabet tanısı ile izlenen 60 kadın 40 erkek hastada ve 71 diyabeti olmayan kontrol grubunda KMY belirlenip, BALP, OC, DPD,  $\beta$ -CTX düzeyleri ölçüldü. Gruplar arasındaki farklılıklar ve KMY ile diğer parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirildi. KMY ölçümlerine göre diyabetli hastalar ve kontrol grubunda osteoporoz rastlanma sıklığı farklı değildi. Serum BALP, serum  $\beta$ -CTX düzeyleri ve idrar DPD düzeyleri iki grupta farklı değildi. Serum OC düzeyleri diyabetli hastalarda kontrollerden daha yüksekti. Bizim çalışmamızda KMY ölçümlerine göre tip 2 diyabetlilerde sağlıklı kontroller arasında osteoporoz rastlanma sıklığı açısından bir fark bulunamamıştır. Kemik döngüsünün biyokimyasal markırları açısından incelendiğinde OC dışındaki markırlarda bir farklılık bulunamamıştır. Yaşlılıkta ve tip 2 diyabette kemik döngüsündeki değişiklikleri açıklamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

*Anahtar kelimeler: Kemik alkale fosfataz, Osteokalsin, Deoksidridinolin,  $\beta$ -CrossLaps*

### ***ABSTRACT***

**EREN S. Changes of bone metabolism in patients with type II diabetes. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine. Medical Speciality Thesis in Department of Biochemistry, 2007.** Osteoporosis is a chronic, progressive disease which characterized with low bone mass, diminished microarchitectural of bone and decreased bone strength. Diabetes is a chronic metabolic disease with different clinical courses and biochemical findings that may effect different systems. Low bone mineral density levels in type 1 diabetes were declared in many different studies. However, decreased, increased or the same bone mineral density (BMD) status were exist in articles which were compared type 2 diabetes with controls. In this study, we aimed to compare BMD status in type 2 diabetic male and pre and postmenopause female patients against healthy control group and to determine biochemical bone formation and resorption markers namely; osteocalcin (OC), bone isoenzyme of alkaline phosphatase (BALP), deoxypyridinium (DPD),  $\beta$ -CrossLaps ( $\beta$ CTX) in order to elucidate the osteoporosis state and pathophysiology. BMD status and BALP, OC, DPD,  $\beta$ -CTX levels were determined in 60 female and 40 male type 2 diabetic patients and 71 non-diabetic control group. The differences between groups and the correlations between BMD status and other parameters were determined. The frequency of osteoporosis in diabetic patient group and control group were not different according to BMD status, serum BALP,  $\beta$ -CTX and urine DPD levels were not different between these two group. Serum OC levels were increased in diabetic patients when compared with controls. In our study, the prevalance for osteoporosis in type 2 diabetic patients and controls were not different according to BMD status. The biochemical markers of bone turnover were not different in diabetic patients except OC. New studies are needed in order to explain the changes in bone turnover in type 2 diabetes and elderly.

*Key Words: Bone alkaline phosphatase, Osteocalcin, Deoxypyridinoline,  $\beta$ -CrossLaps*

## *İÇİNDEKİLER*

### Sayfa

|   |      |
|---|------|
| TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI.....                  | iii  |
| ÖZET.....                                       | iv   |
| ABSTRACT.....                                   | v    |
| İÇİNDEKİLER.....                                | vi   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....             | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                            | ix   |
| TABLolar DİZİNİ.....                            | x    |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                           | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                          | 2    |
| 2.1. OSTEOPOROZ.....                            | 2    |
| 2.2. KEMİK DÖNGÜSÜ.....                         | 5    |
| 2.3. BİYOKİMYASAL KEMİK BELİRTEÇLERİ.....       | 8    |
| 2.3.1. Kemik Alkalen Fosfataz (BALP).....       | 15   |
| 2.3.2. Osteokalsin (OC).....                    | 16   |
| 2.3.3. Deoksiipridinolin (DPD).....             | 18   |
| 2.3.4. $\beta$ - Crosslaps ( $\beta$ -CTX)..... | 20   |
| 2.4. KMY Ölçüm Yöntemleri.....                  | 22   |
| 2.5. Diyabet.....                               | 24   |
| 2.5.1. Diyabet Tanımı ve Sınıflaması.....       | 24   |
| 2.5.2. Diyabet Tanısı.....                      | 26   |
| 2.5.3. Tip 2 Diyabet.....                       | 27   |
| 2.5.4. Diyabet ve Osteoporoz.....               | 27   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                         | 29   |
| 3.1. Gereç.....                                 | 29   |
| 3.2. Yöntemler.....                             | 30   |
| 3.2.1. KMY Ölçümü.....                          | 30   |
| 3.2.2. BALP Ölçümü.....                         | 30   |
| 3.2.3. OC Ölçümü.....                           | 31   |

|   |    |
|---|----|
| 3.2.4. DPD Ölçümü .....   | 32 |
| 3.2.5. $\beta$ - CTX Ölçümü.....                                    | 33 |
| 3.2.6. İstatistiksel Analiz.....                                    | 34 |
| 4. BULGULAR .....   | 35 |
| 4.1. KMY ile Osteoporoz Durumu .....                                | 35 |
| 4.2. BALP Düzeyleri .....   | 36 |
| 4.3. OC Düzeyleri .....   | 37 |
| 4.4. DPD Düzeyleri .....  | 38 |
| 4.5. $\beta$ -CTX Düzeyleri.....                                    | 39 |
| 4.6. Osteoporozu Etkileyen Faktörlerin Çok Değişkenli Analizi ..... | 40 |
| 5. TARTIŞMA .....   | 42 |
| 6. SONUÇ.....   | 48 |
| KAYNAKLAR.....  | 49 |

***SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ***

|              |  |
|--------------|--|
| ADA          | Amerikan Diyabet Birliği                                 |
| AGE          | İleri Glikozilasyon Son Ürünleri                         |
| ALP          | Alkalen Fosfataz   |
| AUC          | Eğri Altındaki Alan                                      |
| BALP         | Kemik Alkalen Fosfataz                                   |
| $\beta$ -CTX | $\beta$ -Crosslaps                                       |
| Ca           | Kalsiyum   |
| CV           | Değişim Katsayısı  |
| DPD          | Deoksidridinyum  |
| ELISA        | Enzim İşaretli İmmünölçüm                                |
| HYP          | Hidroksiprolin   |
| IGF          | İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü                           |
| IL           | İnterlökin   |
| KMY          | Kemik Mineral Yoğunluğu                                  |
| ml           | Mililitre  |
| mM           | Milimol  |
| ng           | Nanogram   |
| nM           | Nanomol  |
| OC           | Osteokalsin  |
| OGTT         | Oral Glukoz Tolerans Testi                               |
| OP           | Osteoporoz   |
| OPG          | Osteoprotegerin  |
| RANKL        | Nükleer Faktör $\kappa$ B Ligandının Reseptör Aktivatörü |
| SEM          | Standart Hata  |
| VKİ          | Vücut Kitle İndeksi                                      |
| U            | Ünite  |

## ***ŞEKİLLER***

**Sayfa**

|  |    |
|--|----|
| <b>Şekil II.1.</b> Kemik döngüsü .....   | 5  |
| <b>Şekil II.2.</b> Osteokalsin metabolizması .....                                       | 12 |
| <b>Şekil II.3.</b> Tip I kollajen çapraz bağları .....                                   | 19 |
| <b>Şekil II.4.</b> $\beta$ CTX .....   | 21 |
| <b>Şekil IV.1.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum BALP düzeyleri .....         | 35 |
| <b>Şekil IV.2.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum OC düzeyleri .....           | 36 |
| <b>Şekil IV.3.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum DPD düzeyleri .....          | 37 |
| <b>Şekil IV.4.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum $\beta$ -CTX düzeyleri ..... | 38 |
| <b>Şekil IV.1.</b> Yaşın osteoporozaya etkisi .....                                      | 40 |

***TABLÖLAR***



**Sayfa**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tablo II.1.</b> Osteoporozun sınıflandırması.....                                | 3  |
| <b>Tablo II.2.</b> Tip I ve Tip II osteoporozun karşılaştırması .....               | 3  |
| <b>Tablo II.3.</b> Etiyolojiye göre osteoporozun sınıflandırması .....              | 4  |
| <b>Tablo II.3.</b> Kemik döngüsü markırları.....                                    | 9  |
| <b>Tablo IV.1.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta OP durumu .....             | 34 |
| <b>Tablo IV.2.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta BALP düzeyleri.....         | 35 |
| <b>Tablo IV.3.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta OC düzeyleri .....          | 36 |
| <b>Tablo IV.4.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta DPD düzeyleri .....         | 37 |
| <b>Tablo IV.5.</b> Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta $\beta$ -CTX düzeyleri..... | 38 |
| <b>Tablo IV.6.</b> İkili lojistik regresyon analizi sonuçları .....                 | 39 |
| <b>Tablo IV.7.</b> Yaş ile osteoporoz ilişkisi .....                                | 40 |

***1. GİRİŞ ve AMAÇ***

Osteoporoz düşük kemik kütlesi ve kemik dokunun mikro yapısının bozulmasıyla birlikte kırılmalıkta artma ve kırıklara direncin azalmasıyla karakterize olan sistemik bir iskelet hastalığıdır.

Diyabetik hastaların yaşam süresinin uzaması ve yaşlı diyabetik popülasyonun artışı, hastaların yaşam kalitesini yükseltebilmek için diyabetik osteopeni sorununa etkili bir çözüm gerekliliğini gündeme getirmiştir. Ancak bu soruna ilişkin bilgiler halen netlik kazanmamıştır. Tip 1 ve tip 2 diyabette osteoporoz riski ve kemik mineral yoğunluğu seviyeleri ile ilgili tartışmalar mevcuttur. Sağlıklı kontrollere göre tip 2 diyabetik olgularda kemik kütlesinin yüksek, düşük veya benzer olduğuna dair çalışmalar vardır. Çalışmaların çoğu yalnızca tek cinsiyete dair verilerle yapılmıştır veya kadın ve erkek olgular ayrı ayrı analiz edilmemiştir. Ayrıca bu çalışmalarda menopoz, diyabet süresi, düzenli takip ve tedavi, laboratuvar parametreleri, diyabetik komplikasyonlar ve komplikasyonlara sekonder ortaya çıkan problemler, vücut kitle indeksine dair farklılıklar da sonuçlara etki edebilecek faktörlerdendir.

Bu tez çalışmasının amacı tip 2 diyabetik erkek, pre ve postmenopozal kadın olguların kemik mineral yoğunluğu (KMY) değerlerini sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmak ve bu hastalarda; biyokimyasal kemik yapım ve yıkım markırları: osteokalsin (OC), kemik alkalin fosfataz (BALP), deoksihidroksiapatit (DHP),  $\beta$ -CrossLaps ( $\beta$ -CTX) düzeylerinin ölçümüyle osteoporoz durumunun ve patofizyolojisinin açıklanmasına katkıda bulunmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Osteoporoz**

Osteoporoz (OP), insanlarda en çok rastlanan kemik hastalığıdır. Erkeklerin ve kadınların her ikisini de genellikle hayatın 7. dekadında veya sonrasında etkiler (1).

Osteoporoz, hem klinik açıdan hem de halk sağlığı açısından önemlidir. Çünkü mortalite ve morbiditeye neden olmasıyla birlikte oluşan osteoporotik kırıklar nedeniyle medikal bakım masraflarına ve iş gücünden kayıplara neden olmaktadır. Yaşlı insanlar, dünyada hızla büyüyen yaş grubunu oluşturmaktadır. Yaşlı nüfusun artması ile birlikte, ileri yaşlarda osteoporozla bağlı kırık olgu sayısının artacağını tahmin etmek zor değildir. Amerika’ da, her yıl 1,5 milyon kırık osteoporoz nedeniyle oluşur. Bu sayının yarısı, vertebral kırıktır ve diğerleri ise, her biri 1/5 oranında olmak üzere kalça, bilek ve diğer kırıklardır (2).

Osteoporoz düşük kemik kütlelerinin olduğu, kemiğin mikromimarisinin bozulduğu, kemik gücünün azalması ile karakterize kronik, progresif bir hastalıktır. Bu durum kemiğin frajilitesinde ve kırık riskinde artma ile birlikte (3).

Osteoporozun çok değişik açılardan sınıflandırması yapılmıştır (4). Yaşa, lokalizasyona, kemik tutulumuna, etiyolojiye göre osteoporoz değişik gruplara ayrılır (Tablo II.1). Genel OP’u Albright ilk olarak 3 gruba ayırmıştır.

1-65 yaşa kadar kadınlarda görülen postmenapozal OP

2-65 yaş üzerinde her iki cinste görülen senil OP

3-İdiopatik OP

Riggs ve Melton bu sınıflamayı modifiye ederek Tip I ve Tip II OP tanımlarını gündeme getirmişlerdir. Tip I OP; 65 yaşın altında oluşur, el bileği ve vertebra kırıkları ile karakterizedir. Tip II OP 75 yaş üzerinde görülür ve kalça kırıkları ile karakterizedir. Tip I ve Tip II OP arasında çakışmalar olmasına rağmen farklı antiteler olarak konuşulabilir, çünkü farklı klinik görünümleri ve etyopatogenezleri vardır (Tablo II.2).

### ***TabloII.1.Osteoporozun sınıflandırması***

|                  |
|------------------|
| <b>Yaşa Göre</b> |
|------------------|

|                                   |
|-----------------------------------|
| Juvenil OP                        |
| Erişkin OP                        |
| Senil OP                          |
| <b>Lokalizasyona göre</b>         |
| Genel OP                          |
| Bölgesel OP                       |
| <b>Tutulan kemik dokuya göre</b>  |
| Trabeküler OP                     |
| Kortikal OP                       |
| <b>Etyolojiye göre</b>            |
| Primer OP                         |
| Sekonder OP                       |
| <b>Histolojik görünümüne göre</b> |
| Hızlı döngülü OP                  |
| Yavaş döngülü OP                  |

**TabloII.2. Tip I ve Tip II OP karşılaştırması**

|                            | Tip I(postmenapozal) OP | Tip II(senil) OP |
|----------------------------|-------------------------|------------------|
| Yaş                        | 51-75                   | 75↑              |
| Kadın: erkek               | 6:1                     | 2:1              |
| Tutulan kemik              | Trabeküler              | Kortikal         |
| Kırık yeri                 | Vertebra,elbileği       |                  |
| Kalça,pelvis,tibia,humerus |                         |                  |
| Muhtemel neden             | Östrojen↓               | Yaşlanma         |
| Kemik kayıp hızı           | Hızlı                   | Yavaş            |
| PTH fonksiyonu             | Azalmış                 | Artmış           |
| D vit. metabolizması       | İkincil azalmış         | Birincil azalmış |

Etyolojiye göre yapılan sınıflandırma yaygın olarak kullanılmaktadır . Buna göre OP ikiye ayrılır; primer ve sekonder osteoporoz (Tablo II.3). Primer OP’da altta yatan hastalık veya neden yoktur. Sekonder OP’da ise altta yatan birçok hastalık veya neden olabilir.

**TabloII.3.Etiyolojiye göre osteoporozun sınıflandırması**

|  |
|--|
| <b>1. Primer OP</b>  |
| a. İdiyopatik OP: i. Juvenil tip<br>ii. Adult tip  |
| b. Postmenopozal OP (Tip 1)  |
| c. Senil OP (Tip 2)  |
| <b>2. Sekonder OP</b>  |
| a.Endokrin nedenler: Hipogonadizm, over agenezisi, hipertroidi, hiperparatiroidi, Cushing hastalığı, Diabetes Mellitus                                   |
| b.Malign nedenler: Multipl Myelom, lösemi, lenfoma, mastositozis   |
| c.İlaçlar: Heparin, etanol, tiroid hormonu, antikonvülzanlar, kemoterapiler, glukokortikoidler, metotreksat, siklosporin, uzun süreli antiasit kullanımı |
| d.Kollajen sentez bozuklukları: Homosistinüri, Ehler-Danlos sendromu, Osteogenesis imperfecta, Marfan sendromu   |
| e.Hepatik ve gastrointestinal nedenler: Primer biliyer siroz, subtotal gastrektomi, malabsorbsiyon, ağır malnütrisyon                                    |
| f.Beslenme: Kalsiyumdan fakir, proteinden zengin diyet   |
| g.Kronik alkolizm ve sigara  |
| h.Romatizmal hastalıklar   |
| i.İmmobilizasyon   |
| j.Diğerleri: Kronik obstruktif akciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, gebelik ve laktasyon, renal hiperkalsiüri                                    |

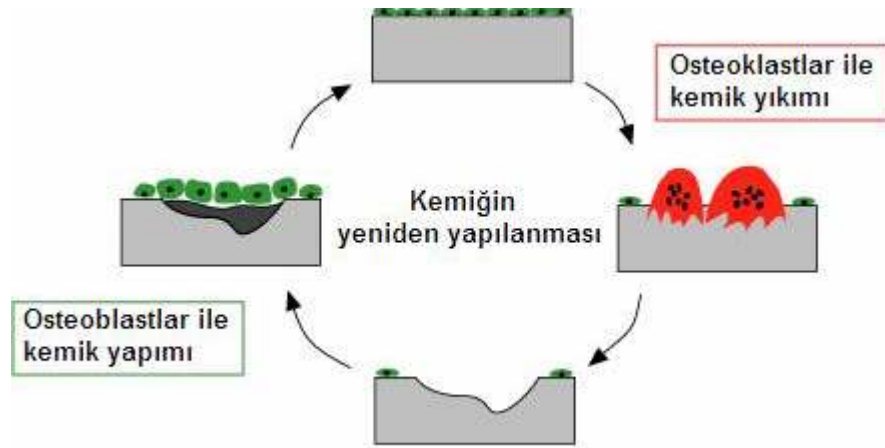
Histolojik görünümüne göre; hızlı kemik yapım döngülü ve yavaş kemik yapım döngülü OP'dan söz edilmektedir. Kemik kütlelerinin yeniden yapımının takibi açısından bu sınıflama önemlidir.

### **2.2.Kemik Döngüsü**

Kemik kompleks bir organdır. Yapı iskelesi görevi gören organik bir matriks içerir. Kalsiyum; yapıyı oluşturan bir şekilde dağılım gösterir ve

vücut için bir iyon deposu olarak görev yapar. Bu kompleks doku içinde osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar gibi özelleşmiş kemik hücreleri bulunur. Monositler, makrofajlar ve fibroblastlar gibi osteoblastların ve osteoklastların aktivitesini düzenleyen diğer hücreler; kemiğin iç veya endosteal yüzeyinde bulunur (5). Kemiğin organik matriksi; esas olarak tip I kollajenden oluşmuştur. Kemikteki tip I kollajenin ana yapısı derideki tip I kollajene benzer; ancak kemik tip I kollajeni derideki kollajenden ayırt eden belli sekonder posttranslasyonel modifikasyonlar vardır (6).

Kemik dinamik bir organdır ve hayat boyunca kendini yeniler. Bu süreç; kemik yüzeyinden kemiğin atılması veya rezorpsiyonu ve ardından burada yeni kemik depozisyonundan ibarettir (Şekil II.1). Bu iki spesifik faaliyet, rezorpsiyon ve formasyon, özelleşmiş kemik hücreleri tarafından yapılır. Remodellingi yapan özelleşmiş hücreler; osteoblastlar ve osteoklastlardır (7).



**Şekil II.1. Kemik Döngüsü**

Osteoblastlar; kemiği oluşturan hücrelerdir. Organik matriksi sentezlerler ve ardından mineralizasyona yol açan etkilerde bulunurlar. Osteoblastların sentezlediği organik matriks; tip I kollajenin yanı sıra başka proteinler içerir. Organik yapıda kollajen olmayan proteinler de bulunur.

Bunlardan biri osteokalsindir (OC). Kemik-gla proteini (BGP) olarak da bilinir. Osteokalsin;  $\gamma$ -karboksiglutamik asit içerir ve K-vitaminine bağımlı bir proteindir. Diğer kollajen olmayan proteinler; osteonektin, trombospondin ve diğer sialize ve fosforile proteinlerdir. Bu proteinler muhtemelen hücre göçü ve hücre yapışmasında önemli rollere sahiptir. Bunların sentezi; paratiroid hormon (PTH) ve 1,25 dihidroksi vitamin D ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ) gibi hormonlar ile kontrol edilir (8).

Osteoklastlar; monosit/makrofajlarla aynı kök hücreden gelişir (9). Osteoklastlar; kemik rezorbe eden, yapısal olarak iki kutuplu, çok çekirdekli, büyük hücrelerdir. Hücrelerin bazolateral membranı kemik iliğine çok yakındır ve sodyum pompası ile bikarbonat/klor değiştiricisini bulundurur. Mineralize kemikle bağlantılı hücre membranı aktin gibi kontraktıl proteinler içerir. Kemik yüzeyi ile ilişkili periferik hücre kenarı, bir “sealing zonu” oluşturur. Hücre, subosteoklastik olan bir kompartmanı kapayan/tıkayan bir  $\alpha\text{v}\beta 3$  integrin (vitronektin) reseptörü aracılığıyla matriks osteopontine bağlanır (10). Plazma membranı bu alana invajine olur ve hücrenin tipik buruşuk kenarını oluşturur. Osteoklast ve kemik arasındaki bu ara yüzeyde kemik rezorpsiyonu gerçekleşir. Osteoklast aktivitesi ile kemikte meydana gelen bu boşluklara Howship lacunae adı verilir (11).

Sistemik hormonlar ve lokal faktörler, osteoklast ve osteoblastların çoğalmasını, gelişmesini ve fonksiyonunu düzenler. Hormonlar direkt veya indirekt olarak lokal aktif faktörlerin sentezini, aktivasyonunu ve reseptör bağlanmalarını değiştirerek ya da bu faktörlerin etkilerini düzenleyen spesifik bağlanma proteinlerinin aktivitelerini düzenleyerek hücre üzerine etki ederler. Lokal üretilen faktörler; büyüme faktörleri, sitokinler, prostaglandinler ve lökotrienlerdir (12).

Parathormon (PTH), kemik hücresi fonksiyonuna önemli etkisi olan sistemik hormonlardan biridir. Osteoklast aktivitesini artırarak kemik rezorpsiyonunu stimüle eder; ancak bu hücrelerde PTH reseptörleri gösterilememiştir. Osteoblast soyunda veya stromal hücrelerde spesifik PTH reseptörleri belirlenmiştir (13). PTH bu hücreleri uyararak, kemik rezorpsiyonunu artırmak için osteoklastlarla ilişkide olan ve bunları stimüle

eden nuklear faktör-κB ligandının reseptör aktivatörü (RANKL) olarak adlandırılan bir maddeyi de içeren solubl faktörler üretmelerini sağlar. RANKL, osteoblastik gelişimi artıran transkripsiyon faktörleriyle etkileşir; başka bir solubl faktör olan osteoprotegerin (OPG) tarafından inhibe edilir(14). PTH osteoblastlara direkt etki ederek kollajen sentezini inhibe eder. Ancak matriks sentezini artırıcı paradoksik bir etkisi olan insülin benzeri growth faktör I (IGF-I)'in lokal üretimini de stimüle ettiği gösterilmiştir (15). Hormona sürekli maruziyet sonrasında kollajen matriksi sentezi üzerine inhibitör etki gözlenmiştir, ama aralıklı maruziyet yeni matriks sentezinin stimülasyonuna yol açar. PTH'nın bu zıt etkileri farklı regülatuar (G) proteinlere bağlanan tek bir reseptör aracılığıyla olur (16).

Kalsitonin, kemik hücrelerinde spesifik etkilere sahip başka bir önemli hormondur. Osteoklastlar üzerindeki yüksek affiniteli reseptörler aracılığıyla direkt osteoklastik kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. Kalsitoninin osteoblastik fonksiyon üzerine bir etkisi olduğuna dair bazı kanıtlar vardır (17).

Erişkin iskeletindeki remodelling süreci dinamik bir süreçtir ve hayat boyunca daha büyük veya daha küçük derecede devam eder. Kemik kuvvetini sürdürmek için gereklidir ve periosteal, haversian, kortikal ve endosteal yüzeyler de dahil olmak üzere tüm kemik yüzeylerinde oluşur (18).

### ***2.3.Biyokimyasal Kemik Markırları***

#### ***Genel Özellikleri:***

Kemik döngüsüne ait biyokimyasal markırlar yaklaşık 20 sene önce geliştirilmiştir. Yeni çalışmalarda bu markırların kemik turnover hızındaki anomalileri tespit etmekte kullanılan geleneksel tetkiklere göre çok daha fazla duyarlı oldukları bildirilmiştir (19). Klinik araştırmalarda ve yeni



tedavilerin etkinliğinin değerlendirildiği klinik çalışmalarda bu markırlar geniş çapta kullanılmıştır. Bu yeni markırlar post-menopozal osteoporozda kemik metabolizmasında meydana gelen değişiklikleri tespit etmede daha yararlı görülmüştür (20).

Bu biyokimyasal markırlar; iskelet patolojilerinin değerlendirilmesinde kullanılan analiz spektrumunu oldukça genişletmiştir. Bunlar metabolik kemik hastalıkları için non-invaziv, nispeten ucuz ve doğru kullanıldığında ve yorumlandığında tanı ve terapötik değerlendirmede oldukça faydalıdır (21).

Biyokimyasal markırlar, özellikle kemik döngüsünü baskılamaya yönelik tedaviye cevabı değerlendirmede KMY ile tesbit edilebilir değişikliklerden daha hızlı bir gösterge olması nedeniyle önemlidir (22,23 ).

Biyokimyasal markırların pratikte kullanımı, tedavi için hasta seçimi, antiresorbtif ilaç tedavisine cevabı ve tedavi etkinliğini göstermede kullanılabilirliği bir çok çalışmada tartışılmaktadır. Son teknolojik gelişmeler, özellikle kemik yıkım markırlarının kemik metabolizmasını göstermedeki önemini artırmaktadır(24).

### ***Biyokimyasal, Teknik ve Analitik Yönler***

Kemik döngüsüne ait yeni markırların geliştirilmesi iskelet patolojilerini değerlendirmede kullanılan serum ve idrar analizlerinin spektrumunu önemli ölçüde zenginleştirmiştir. Klinik amaç nedeni ile kemik oluşum markırları kemik yıkım markırlarından ayrılmıştır. Ancak bu markırlardan bazılarının hem oluşumu hem de yıkımı yansıtılabildiği akılda tutulmalıdır. Ayrıca bu markırların kemik dışı dokularda da olabileceği ve iskelet dışı patolojilerden de etkilenebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Kemik döngüsüne ait biyokimyasal markırlardaki değişiklikler genellikle hastalığa spesifik değildir. Fakat altta yatan nedenden bağımsız olarak iskelet metabolizmasındaki değişiklikleri yansıtır (25).

***Tablo II.3. Kemik döngüsü markırları***

|                                   |
|-----------------------------------|
| <b>A- Kemik yapımı markırları</b> |
| Serumda                           |

|   |
|---|
| - Total ve Kemiğe spesifik alkalen fosfataz (TALP,BALP)         |
| -Osteokalsin (Kemik gla proteini=BGP)                           |
| - Prokollajen tip 1 propeptidleri (PICP,PINP)                   |
| - Diğer kollajen olmayan kemik proteinleri                      |
| <b>B-Kemik yıkımı markırları</b>                                |
| Serumda   |
| - Tartarat rezistan asit fosfataz (TRAP)                        |
| - Serbest pridinolin ve deoksiptidinolin (PYD,DPD)              |
| - Tip 1 kollajen N ve C-telopeptid yıkım ürünleri (NTX-1,CTX-1) |
| İdrarda   |
| - Pridinolin ve deoksiptidinolin (PYD,DPD)                      |
| - Tip 1 kollajen N ve C-telopeptid yıkım ürünleri (NTX-1,CTX-1) |
| - Kalsiyum ve Hidroksiprolin (HYP)                              |
| - Hidroksilizin glikozidleri                                    |

Kemik yapım markırları; osteoblast gelişiminin farklı fazları boyunca üretilirler ve aktif osteoblastların indirekt ya da direkt ürünleridir. Kemik oluşumu ile osteoblast fonksiyonlarının farklı yönlerini yansıtır. Kemik yapımına ait tüm markırlar serum veya plazmada ölçülürler.

Kemik yıkımına ait biyokimyasal markırların çoğu kemik kollajeninin yıkım ürünleridir, ancak siyaloprotein veya tartarata dirençli asit fosfataz gibi kollajen dışı proteinler de bu amaçla araştırılmaktadır.

Sağlıklı bir değerlendirme için en az bir yapım ve bir yıkım markırı seçilmelidir.

Biyokimyasal belirteçler;

1. Osteoporotik kırık riskini değerlendirmek, hızlı kemik kaybını tanımak
2. Diğer metabolik kemik hastalıklarının tanısını koymak
3. Tedavi ajanını seçmeye yardımcı olmak
4. Tedavi etkinliğini değerlendirmek açısından önemlidir (26).

### ***Preanalitik Değişkenler***

Kemik turnoverına ait biyokimyasal markırların klinik olarak yorumlanmasında bu markırların preanalitik değişkenleri göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar geniş olarak 2 gruba ayrılır:

**1-Kontrol edilemeyen faktörler:** Yaş ve renal fonksiyon, cinsiyet, menopozal durum, etnik özellikler, yeni geçirilmiş kemik kırığı veya

hastalığı, gebelik ve emzirme, ilaçlar, hastalıklar gibi kontrol edilemeyen faktörlerdir. Kemik markırlarını yorumlanmasında bu faktörler göz önünde bulundurularak değerler uygun referans aralıklarına veya bireysel özelliklere göre ayarlanmalıdır.

**2-Kontrol edilebilen faktörler:** Sirkadien ritm, menstrual siklus, mevsimsel değişiklik, egzersize bağlı etkiler, diyet, referans aralıklar, gibi kontrol edilebilen faktörlerdir. Bu faktörler örnek alımı sırasında zaman ve durum açısından standardize edilebilen ve etkileri en aza indirilebilen faktörlerdir.

Preanalitik değişkenlerin bazıları tanımlanabilir ve etkileri en aza indirilebilir olmasına rağmen, günden güne değişiklik gösteren bazı endojen faktörlerin etkileri önlenememektedir. Preanalitik değişkenler analitik değişkenlerden daha geniştir.

***Preanalitik değişkenlerin kontrol edilemeyen faktörleri:***

- ***Yaş ve renal fonksiyon:*** Biyokimyasal markırlar çocuklarda yetişkinlere göre önemli derecede yüksektir. Özellikle yaşamın ilk yılında ve pubertede yetişkinlere göre düzeyleri 2-10 kat artar. Pubertenin ortasından sonra düzeyleri erişkin düzeylerine geriler. Erkeklerde bu markırların çoğunluğu yaş ile değişiklik göstermez ancak kadınlarda menopoza bağlı olarak belirgin değişiklikler gözlenir (27,28).

Uzun süreli renal yetmezlikte osteokalsin ve böbrekte metabolize olan ve/veya itrah edilen piridinolin çapraz-bağları ve ilişkili peptidler gibi diğer markırlar yükselebilir. Kreatinin klirensinin 30 ml/dk.'nın altına indiği durumlarda kemik markırlarının yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır (25).

- ***Cinsiyet:*** 30-40'lı yaşlardaki genç erkeklerde genç kadınlara göre markırlar yükselme eğilimindedir. Ancak yaşlı erkeklerdeki markır değerleri postmenopozal kadınlara göre düşüktür (25).

- ***Etnik özellikler:*** Siyah ve beyaz populasyonun karşılaştırıldığı çalışmalarda siyah ırk çocuklarda ve genç yetişkinlerde kemik rezorpsiyonu markırlarının beyazlara oranla biraz düşük olduğu bildirilmiştir (29). OC siyah bireylerde %20 daha düşük olabilir. Ancak kadınlarda menopoza kadar bu fark belirgin olmayabilir.

- **Kırıklar:** Kırık iyileşmesinin ilk dört haftası boyunca kemik yıkım ve yapım markırları %20-50 oranında artmaktadır ve 6-12 ay artmaya devam etmektedir. Yıl içinde tekrarlayan ölçümler hastada herhangi bir kırık olup olmadığını anlamak açısından önemlidir. Ayrıca asemptomatik vertebral kırıklar markırlarda yükselmeye neden olur, ölçümlerde bu konu göz önünde bulundurulmalıdır (30).

- **Gebelik ve emzirme:** Gebelik ve emzirme fetus ve infantın büyümesi için kalsiyum kaynağı olan anne iskeleti üzerine önemli derecede yük getirir. Üçüncü trimestırda fetusun kalsiyum ihtiyacı artar, fakat gebeliğin 16. haftasından itibaren kemik rezorbsiyonunda dereceli bir artış görülür. Zıt olarak gebelik süresince serum OC düzeyi azalır hatta ölçülemeyen düzeye inebilir. Bunun OC'nin plasental klirensine bağlı olduğu bildirilmiştir (31). Ancak bu durum kısmen kullanılan ölçüm metoduna ve gebelik sırasında artan renal fonksiyona bağlı olabilir. Üçüncü trimestırdan ve doğumdan sonra OC düzeyinde küçük bir yükselme görülebilir. Gebelikte gebelik öncesi değerlere göre NTX-I gibi kemik rezorbsiyon markırları % 200 oranında ve PINP gibi kemik oluşumu markırları % 60 oranında artar. Doğumdan sonra idrar NTX-I ve CTX-I değerleri düşer fakat PYD gibi kemiğe özgü markırlarda az da olsa artış devam eder. Bu da uterusun küçülmesine bağlı olabilir. Emzirmenin ilk ayı boyunca kemik oluşum ve rezorbsiyon markırları yükselir. Bazı çalışmalarda aynı yaşta emzirmeyen gruba göre emzirenlerde bu düzeylerin iki kat arttığı bildirilmiştir. Ancak emzirme kesildiğinde markır düzeyleri premenopozal düzeydekine iner (32).

- **İlaçlar:** Osteoporozda antiresorptif tedaviler ve metabolik kemik hastalıklarında kullanılan selektif östrojen reseptör modülatörleri, bifosfanatlar ve hormon tedavileri kemik turnover markırlarında %70'in üzerinde bir düşmeye neden olur (33). Diğer ilaçlar da kemik turnover markırlarını etkileyebilirler. Kortikosteroid tedavisi serum OC düzeylerini anlamlı düzeyde düşürür fakat diğer kemik turnover markırlarını daha az derecede etkiler. Kemik rezorbsiyon markırlarını ise yükseltebilir. Antikonvülsan tedavi ve GnRH agonisti tedavisi kemik turnover markırlarını anlamlı düzeyde yükseltir.

- **Hastalıklar:** Kemik turnover markırlarındaki değişiklik sadece metabolik kemik hastalıklarında değil diğer hastalık durumlarında da görülür. Bazı metabolik kemik hastalıklarında kemik turnover markırlarında oluşan değişiklik hastalıkla uyum göstermeyebilir. Örneğin Paget hastalığında total ve kemik ALP'sinde önemli artış olurken OC'de küçük bir artış olur (34). Karaciğer ve böbrek hastalıklarında kemik markırlarının düzeyi iskelet dışı ürünleri ve/veya bozulmuş metabolizmayı yansıtabilir.

- **Oral kontraseptifler:** Oral kontraseptiflerin kemik turnoverı üzerine etkisi yaşa bağımlı gözükmektedir. 30'lu yaşlardaki kadınlarda oral kontraseptiflerle yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar vermektedir. Zıt olarak, 35-49 yaşları arasındaki kadınlarda oral kontraseptif kullanımının kemik rezorbsiyonu ve oluşumuna ait markırlarda % 15-30 arasında dikkate değer bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (35).

- **Hareketsizlik:** Yatak istirahati kemik rezorbsiyonu markırlarında çok hızlı bir artmaya neden olur (36). PYD ve DPD'nin idrarla atılımı sadece 2 gün sonra belirgin derecede artmaktadır, bir hafta sonra ise %40 düzeyinde bir artma olmaktadır. Kemik oluşumuna ait markırlar ise yatak istirahati veya hareketsizlik ile ya çok az ya da hiç değişmemektedir. Kısmi hareketsiz yaşlılarda idrar HYP düzeyi hareketsizlik derecesi ile orantılı olarak artmaktadır. Hareket tekrar başladığında rezorbsiyon markırları ilk düzeyine dönmekte, sadece paradoksik olarak PICP artabilmektedir (37).

#### ***Biyolojik değişkenliğin kontrol edilebilen faktörleri:***

- **Sirkadian ritm:** Sirkadian değişkenlikler diğer faktörlere göre kemik turnoverını daha fazla etkileyen faktörlerdir (38). Kemik turnoverına ait pek çok markır gece artmaktadır ve 02:00 ile 08:00 arası pik yapmaktadır. Bu zaman diliminden sonra hızla azalmaktadır. Bu değişiklikler kemik yıkım markırlarında kemik oluşum markırlarına göre daha büyüktür. Serum CTX-I düzeyi iki nokturnal pik yapabilir. Sabah bu markırların düzeyindeki azalmaya bağlı olarak, saat 07:00 ve 15:00 arasında idrar NTX lmleri arasındaki fark %50 kadar olabilir, benzer sonuç NTX ve HYP için de

geçerlidir. Serum PICP ve OC düzeyleri öğlenin ilk saatlerine göre gece %20 artar. Kemik ALP biraz farklı sirkadian ritme sahiptir, 11:00 ve 14:00 arasında pik yapar, olası ikinci pik saat 23:30 civarında görülür. İdrar DPD atılımındaki nokturnal pik osteoporozlu postmenopozal kadınlarda sabah saatlerinde daha fazla ve uzun olabilir. Gece alınan kalsiyum ve bifosfanat tedavisi kemik resorpsiyonuna ait markırların sirkadian ritmini suprese eder. Açlık da idrar ve serum CTX-I ritmini önemli ölçüde bozar, özellikle sabah boyunca hızlı bir azalma gözlenir. Kemik turnoverına ait markırları klinik açıdan yorumlarken sirkadian ritmin etkilerini en aza indirmek için örnek alım zamanının sıkı kontrol edilmesi gerekmektedir (39).

**-Menstrual siklus:** Menstruasyona bağlı kemik turnover markırlarındaki değişiklik küçük orandadır. Bazı çalışmalarda herhangi bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Kemik oluşumu markırları luteal fazda foliküler faza oranla % 10-15 yükseklik gösterir. OC ve kemik ALP ortaluteal fazda maksimum düzeye erişir. PICP ise erken luteal fazda maksimuma ulaşır (40).

**- Mevsimsel değişiklik:** Kemik turnoverına ait mevsimsel değişiklik genel değildir. Total mevsimsel değişikliklerin düşük olabileceği, markırlar üzerinde %12 oranında değişiklik yapabileceği bildirilmiştir (41). Fakat bazı çalışmalarda yaz ve kış arasındaki farkın büyük olabileceği öne sürülmüştür. OC kış ve baharda yükselirken kemik ALP ters bir ritim gösterir ve kış ve bahar boyunca düşük seyredir. PICP önemli bir mevsimsel ritim göstermemektedir. Kemik rezorpsiyonuna ait pek çok markır kışın yükseklik gösterirken, bir çalışmada idrar PYD düzeylerinin yaz boyunca yüksek olduğu gösterilmiştir. Kemik turnoverına ait mevsimsel değişiklikler kısa süreli tedavilerin sonuçlarını etkileyebilir.

**- Egzersiz:** Egzersiz, kemik turnoverı markırlarını iki yönden etkileyebilir: Gün içinde alınan örneklere uzun süreli egzersizin etkileri ve kısa süreli egzersizin akut etkileri. Egzersize dayanıklı atletlerde PICP ve ICTP düzeyleri aynı yaştaki sedenter kontrol grubuna göre % 18-20 daha düşüktür. Fakat diğer kemik oluşumu markırları değişiklik göstermemektedir. Sub-akut egzersiz kemik oluşumu markırlarında artmaya

kemik rezorbsiyonu markırlarında ise azalmaya neden olur. Pek çok çalışmada kollajenin oluşum ve yıkım markırları üzerine egzersizin akut etkisi olarak % 15-40 oranında artma olduğu bildirilmiştir. Bu nedenlerden dolayı hastalara düzenli egzersiz yapıp yapmadıkları sorulmalı ve örnek vermeden en az 24 saat öncesinden egzersiz yapmamaları bildirilmelidir (42).

- **Diyet:** Kemik döngüsüne ait çoğu markır diyetten etkilenmemektedir. Ancak nonspesifik kemik rezorbsiyonu markırı HYP bunun dışındadır. Kollajenin yıkım markırları PYD ve DPD normal diyetle alınan kollajenden (jelatin) etkilenmemektedir. Spesifik diyet kısıtlaması sadece HYP ölçümlerinde gereklidir.

- **Referans aralıklar:** Her laboratuvar kendi referans aralıklarını tespit etmelidir. Yaş, cinsiyet, menopozal durum ve soy kemik döngüsünün tüm markırlarını etkiler. Bundan dolayı erkekler, premenopozal ve postmenopozal kadınlar için ayrı referans aralıkları düzenlenmelidir. Erkeklerde ve premenopozal kadınlarda 30'lu yaşlarda kemik markırları hala yüksek olduğu için referans aralıklar sadece 30 yaşın üzerindeki bireyleri kapsamalıdır. Her referans aralık için örnek alma zamanı ve durumu standardize edilmelidir.

- **Biyokimyasal markırların uzun-sürelili birey-içi değişkenleri:** Eğer tek bir ölçüm ile tedavi kararı alınıyorsa kemik markırlarının birey-içi kullanımları güç olmaktadır. Çeşitli çalışmalarda kemik markırları açısından farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bu farklılığın nedeni seçilen popülasyona, örnek sayısına, ölçüm tekniğinin özelliklerine, çalışmanın süresi ve örnek toplamaya bağlı olabilir. Bununla birlikte birey-içi değişkenliklere ait değişkenlik katsayısı (%CV) serum kemik oluşum markırlarında idrar rezorbsiyon markırlarına göre düşüktür (43).

### **2.3.1. Kemik Alkalen fosfataz (BALP)**

ALP glikozil-fosfotidil inozitol kalıntılarıyla hücre dış yüzeyine bağlı bulunan tetramerik bir enzimdir. Kemik dokuda temel fonksiyonu tam olarak bilinmemesine rağmen osteoid oluşumu ve mineralizasyonunda önemli bir rol

oynadığı açıktır. Vücutta hemen her yerde bulunan bir enzimdir (44,45). Serum ALP havuzu karaciğer, kemik, barsak, dalak, böbrek, plasenta gibi dokulardan orijin alan çeşitli dimerik izoformları içerir. Bu doku spesifik izoformlar, posttranslasyonel modifikasyonlar ile üretilir. Normal karaciğer fonksiyonuna sahip yetişkinlerin serumunda ALP aktivitesinin yaklaşık % 50'si karaciğer kaynaklı iken % 50'si kemik kaynaklıdır (46). ALP artışı olan vakaların çoğunda bu artıştan kemik hastalıkları değil, kemik dışı hastalıklar sorumludur. Serum ALP düzeyleri eğer karaciğer-safra bozuklukları dışlanabilirse sadece kemik yapımının bir indeksi olarak kullanılabilir. Buna karşılık alkalin fosfatazın kemik spesifik izoenzimi (BALP) yalnızca osteoblast membranına yerleşiktir ve osteoblast aktivasyonu varsa dolaşıma salınır. BALP'in ölçümü, kemik dışı patolojilerden daha az etkilenir (47). Klinik açıdan kemik spesifik izoenzimin ölçümü yüksek spesifikite gösterdiği için artan oranda tercih edilmektedir (48).

Alkalin fosfatazın 1–2 gün gibi nisbeten uzun yarılanma ömrü nedeniyle günlük değişim miktarı çok azdır. Diurnal varyasyonlardan etkilenmez. Günün herhangi bir saatinde inceleme yapılabilir (49).

Dolaşımdaki ALP'nin bu iki ana formu arasındaki farkı ayırt etmek için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bunlar arasında ısı denaturasyonu, elektroforez, presipitasyon, selektif inhibisyon ve daha yeni olan immunoassay teknikleri bulunmaktadır. Yöntemin yüksek analitik duyarlılığı nedeniyle pek çok laboratuvarın seçimi immunoassay yönündedir ve kesinlik oranları % 5-8 arasındadır. İmmunoassay hem enzim aktivitesi hem de enzim kütlelerinin tespit edilmesine olanak verir (50,51,52).

### **2.3.2 . Osteokalsin (OC)**

Osteokalsin 5.8 kDa ağırlığında, osteoblastlar, odontoblastlar ve daha az ölçüde hipertrofik kondrositler tarafından sentezlenen, hidroksiapatit-bağlayan bir proteindir. Proteinlerin kalsiyum bağlama özelliğinden sorumlu olan üç adet gama-karboksi glutamik asid (Gla) kalıntısı içerir (53,54)

Üretilen OC'nin çoğu hidroksiapatite bağlı olduğu kemik matriksinde tutulur. Küçük bir fragment dolaşıma salıverilir. Matriks içinde tutulan OC oranı erişkinlerde



%70, gençlerde %90'dan fazla oranda değişiklik gösterir. Dolaşımdaki OC'nin yarı ömrü birkaç dakikadır ve glomerüler filtrasyon ile çabucak uzaklaştırılır (55).

OC'nin fonksiyonu kesin olarak bilinmemektedir, ancak yeni çalışmalarda OC'in negatif feedback mekanizma ile kemik remodeling'inde rol oynadığı gösterilmiştir. Serum OC düzeyi osteoblast fonksiyonu için spesifik bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Serum osteokalsin düzeyi ve kemik oluşum derecesi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ancak bu peptid serumda hızla parçalanmaktadır ve dolaşımda hem intakt peptid hem de çeşitli büyüklükteki OC fragmanları bulunmaktadır (56).



### **Şekil II.2. Osteokalsin metabolizması**

Serum OC düzeylerinin, iliak kemik histomorfometri ve kalsiyum kinetik verileri ile karşılaştırılarak, kemik yapımı için oldukça spesifik bir belirleyici olduğu gösterilmiştir (57).

Serum OC düzeyleri, pubertede, hızlı iskelet gelişimi sırasında, hiperparatiroidizm, hipertiroidizm, kırıklar, renal osteodistrofi gibi kemik döngüsünün arttığı durumlarda genellikle yüksektir. Postmenopozal dönemde serum OC düzeyleri, çok büyük farklılıklar gösterir. Düşük kemik döngüsü olan hastalarda, düşük veya normal olabilir. Yüksek döngülü hastalarda ise

artmıştır. Östrojen replasman tedavisi ile bu artışın azaldığı görülür. Glukokortikoid tedavisi sırasında, hipoparatiroidizmde, hipotiroidizmde, multipl myeloma ve malign hiperkalsemide, OC seviyeleri düşer(58,59).

OC, böbrekler yolu ile temizlendiğinden, renal yetmezlik olgularında kemik yapımında artış olmaksızın seviyeleri yükselebilir (60).

Osteokalsini ölçen 1. jenerasyon radyoimmünoassaylerde tracer, standart ve poliklonal antikor üretimi için sığır osteokalsini kullanılır ve burada molekülün karboksiterminali ölçülür. Bu şekilde ölçülen serum osteokalsin düzeyleri olasılıkla her biri osteokalsinin farklı bir fragmanını tanıdığı için yaklaşık 10 kat değişik çıkabilir. Son yıllarda osteokalsinin farklı immünoreaktif formlarının belirlenmesi ile 49 amino asitli intakt molekülün insan plazmasındaki total osteokalsin immünoaktivitesinin üçte birini oluşturduğu gösterilmiştir. Küçük fragmanlar ve büyük N-terminal mid molekül fragman (N-mid fragman) da kalan üçte iki aktiviteden sorumludur.

Plazma oda ısısında 1-2 saat tutulduğunda intakt osteokalsinin önemli bir kısmı büyük N-mid fragmana dönüşür ve konvansiyonel sığır RIA ile ölçülen osteokalsinin önemli bir kısmı böylece kaybedilmiş olur. Bu nedenle hem intakt molekülü hem de N-mid fragmanı uygun antikorlar kullanılarak ölçmek testin duyarlılığını artırır. Bu yöntem ayrıca aynı bireyde aylar sonra yapılan 2. ölçümün hata oranını azaltır ve kemik dönüşümündeki değişimi saptamada duyarlılığı artırır. Son zamanlarda insan osteokalsininin çeşitli epitoplarını tanıyan monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan sandviç ölçüm ile ölçümün duyarlılığı arttırılmıştır (61,62,63).

### ***2.3.3. Deoksidipridinolin(DPD)***

Tip I kollajen kemiğin organik matriksinin % 90 ını oluşturan, iki  $\alpha 1$  ve bir  $\alpha 2$  zinciri içeren üçlü helikal bir yapıdır. Bir prekürsör olarak sentezlenir. Hem N hem C terminal uzantılar içermektedir (64). Her bir zincir yaklaşık 1000 aminoasit içerir ve molekül ağırlığı yaklaşık 140 000 dir. Prokollajen intrasellüler posttranslasyonel modifikasyonlara uğramaktadır. Bunlar prolin ve lizin kalıntılarının hidrosilasyonu, glikozilasyon zincir içi ve zincirler arası disülfid bağlarının oluşumu ve üçlü

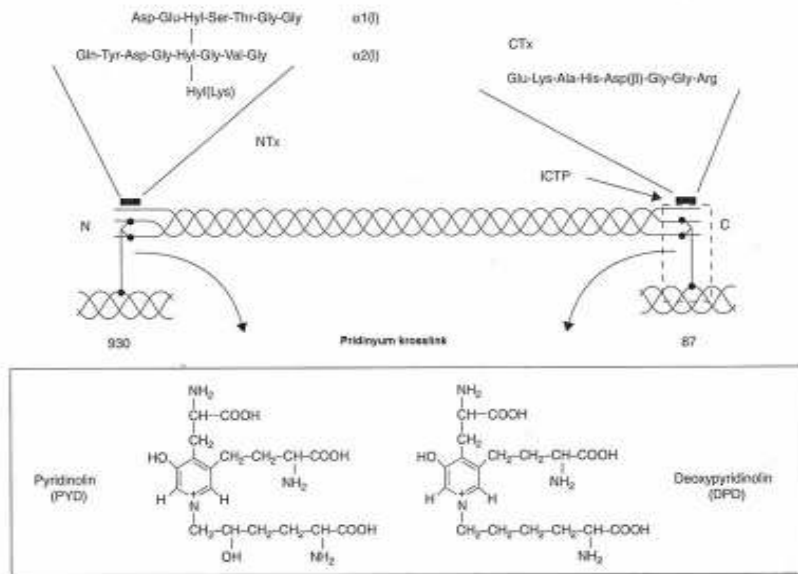
heliks oluşumudur. Sekresyondan sonra prokollajenin kollajene çevrilmesi esnasında hücre dışında N ve C- terminal telopepidler enzimatik olarak uzaklaştırılır. Tip I kollajen molekülleri spontan olarak sınırlı gerilme gücü ile immatür fibriller halinde toplanırlar. Molekül içi ve moleküller arası kovalan veya çapraz bağların oluşumu ile olgunlaşırlar(65). Lizil oksidaz spesifik olarak lizin ve hidroksilizinlerin  $\epsilon$ -amino gruplarını aktif aldehitler oluşturmak için deamine eder. Üç aminoasit yan zinciri üç hidroksipridinyum halkası içeren aminoasitleri oluşturmak için reaksiyona girer. Redüklenmeyen çapraz bağlar deoksihidridinolin (DPD) ve hidridinolin (PYD)'dir.

1- DPD, iki hidroksilzil yan zinciri ve bir lizil yan zincirinin reaksiyonu ile oluşturulur (lizil hidridinolin).

2- PYD, üç hidroksilzil yan zincirinin reaksiyonu ile oluşturulur (hidroksilzil hidridinolin) .

Bu önemli hidridinyum çapraz bağları matur kollajen zincirlerini ekstrasellüler matrix içinde stabilize eder.

Tip I kollajende hidridinyum çapraz bağlarını oluşturan moleküller arası çapraz bağ bölgeleri bulunmuştur (Şekil II.3).



**Şekil II.3. Tip I Kollajen Çapraz Bağları**

DPD kemik rezorbsiyonu için PYD ye göre daha hassas ve spesifiktir. DPD kemik, dentin, ligament, aortta önemli miktarda bulunur. Oysa PYD daha yaygındır. İskelet sisteminin daha yüksek kitlesinden dolayı hem PYD hem de DPD için kemik major kaynaktır. Her ikisi de deride çok önemli miktarda bulunmaz (66,67).

DPD kemik rezorbsiyonunun sensitif ve spesifik bir markıdır. Çünkü:

1-Kollajen biyosentezinde değil maturasyonu esnasında, olgun matrixin kırılma ürünü olarak oluşur.

2-İdrardan atılmadan önce metabolize edilmez.

3-Kemik DPD'nin major kaynağıdır.

4-Diyetten emildiği gözlenmemiştir.

Pyridinyum kroslinkleri DPD ve PYD ve telopeptidler kemik rezorbsiyonu esnasında Tip I kollajenin hidrolizi ile dolaşıma salınırlar ve idrarla atılırlar.

Telopeptidlerin ve DPD'nin artmış konsantrasyonları OP'da, Paget hastalığında metastatik kemik hastalıklarında, primer ve sekonder hiperparatroidide, hipertroidizmde ve artmış kemik rezorbsiyonunun olduğu diğer hastalıklarda rapor edilmiştir (68,69,70).

Postmenapozal kadınlar, premenapozal kontrollerle kıyaslandığında telopeptidler genellikle artmıştır. Rezorbsiyon ve formasyonun diğer markırlarından daha fazla artmıştır (71).

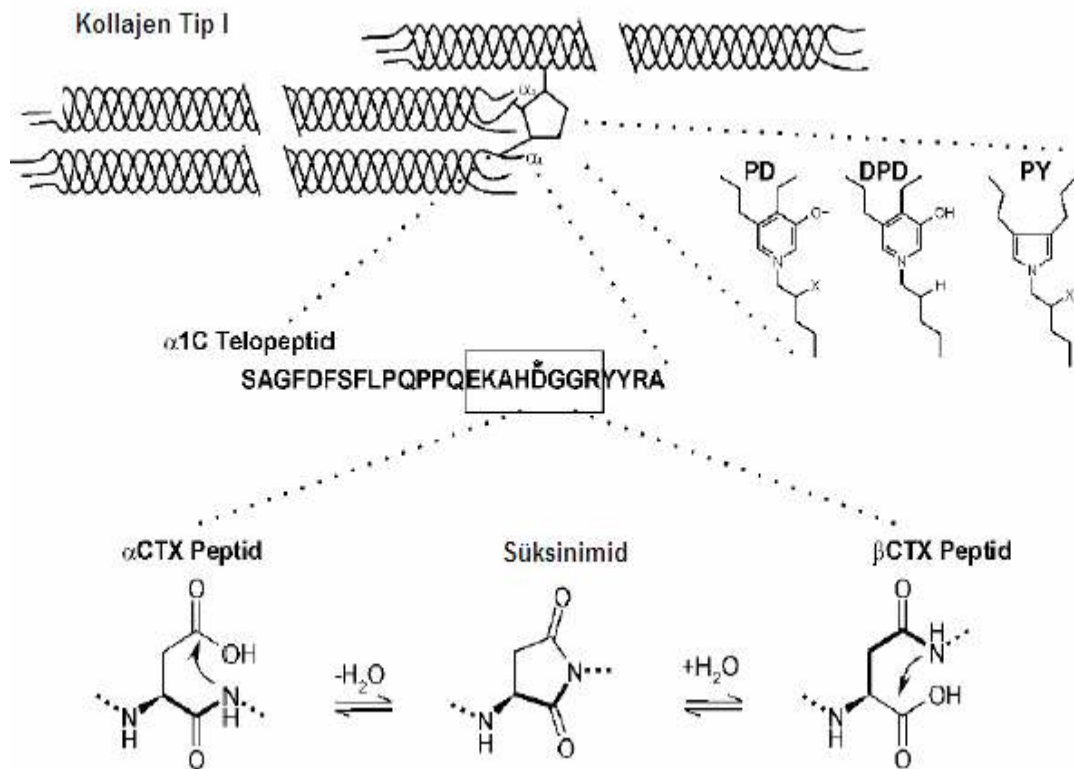
Farmakolojik ajanlarla kemik rezorbsiyonunun inhibisyonu telopeptidlerde ve DPD'de azalmaya yol açar. Postmenapozal OP'lu kadınların tedavisi kemik rezorbsiyon markırlarını düşürmüştür. Antiresorbif terapiye cevap genellikle telopeptitler ile en iyi gösterilir (72).

PYD ve DPD düzeyleri HPLC ile belirlenir. Günümüzde DPD primer olarak otomatize analizörler kullanılarak immunassaylar ile ölçülmektedir. Total DPD ve PYD'yi ölçen çoğu HPLC metodunun tersine immunassaylar primer olarak serbest formları ölçer fakat peptid bağlı formları ölçmez. İdrarda yaklaşık PYD ve DPD' nin % 40'ı serbesttir ve % 60'ı proteine bağlıdır.

#### 2.3.4. $\beta$ -CrossLaps ( $\beta$ -CTX)

Tip I kollajen iki  $\alpha_1$  ve bir  $\alpha_2$  zincirlerinden oluşur. Bunlar kollajenin üçlü heliks yapısını oluşturur. C terminalde bulunan piridinolin ve pirol gibi çapraz bağlar iki  $\alpha_1$  telopeptid zincirine bağlıdır.  $\alpha_1$  C terminal telopeptid, CTX epitopu (EKAHDGGR) içerir. Bu moleküldeki DG (aspartil, glisin) kısmı yarı stabil süksinimid oluşumundaki halkalanma reaksiyonundan sorumludur. Süksinimid hidroliz yolu ile hem  $\alpha$  hem  $\beta$  CTX'e dönüşür. Sonuç olarak  $\alpha$  CTX ve  $\beta$  CTX oluşur. Çeşitli çapraz bağlarla izomerizasyon reaksiyonu heterojen bir CTX havuzu oluşturur.

DG, kemik kollajeni yeni sentezlendiği zaman  $\alpha$  CTX'i gösteren doğal aspartil formundadır. Fakat kemik matriksi yaşlanması sırasında kendiliğinden  $\beta$  CTX'e dönüşür.  $\beta$  CTX (izoaspartil) oluşumunun protein yaşlanmasının bir göstergesi olduğu düşünülür.



Şekil II.4.  $\beta$  CTX

Şekil II.4'deki mekanizma izoaspartil oluşumuna yol açar. Yarı stabil olan süksinimid formu  $\beta$  karboksil yan zincirinin  $\alpha$ -amino grubuna bağlı peptidin

kendiliğinden nükleofilik atağı sonucu oluşur. Bu ara ürün diğer yan ürünlerin yanında  $\alpha$  CTX ve  $\beta$  CTX oluşturur (73).

İzomerizasyon reaksiyonu fizyolojik olarak kemikte kendiliğinden meydana gelir. Teorik olarak yeni sentezlenen  $\alpha$  CTX formunun  $\beta$  CTX'e oranı rezorbe edilen kemik kollajenin ortalama yaşını verebilir (74).

Sağlıklı yetişkinlerde kemik kollajenindeki  $\beta$  CTX içeriği teorik olarak maksimal denge değerindedir. Sonuç olarak sağlıklı yetişkinlerde  $\alpha$  CTX/ $\beta$  CTX oranları oldukça dar bir aralıktadır. Böylece  $\alpha$  CTX ve yaşlı CTX ( $\beta$  CTX) arasındaki oranlar Paget hastalığı ve metabolik kemik hastalığında önemli derecede artar ve lokal iskelet bölgelerinde kemik döngüsünde önemli artış ile karakterizedir (75,76).

Rezorpsiyon inhibe edici tedavi sırasında bunların serum düzeyleri normale dönmüştür. C terminal telopeptidlerin serumda ölçülmesi osteoporozda veya diğer kemik hastalıklarında uygulanan antirezorbtif tedavinin etkinliğini izlemek için önerilmiştir. Tedavinin indüklediği değişiklikler birkaç hafta sonra gösterilebilir (77).

Son zamanlarda serumda  $\beta$ -CTX ölçümü için bir sandviç ELİSA geliştirilmiştir. Bu ölçüm ilk tanımlandığında, kollajenazla parçalanmış kollajen tip C-terminal oktapeptit I'e karşı bir poliklonal antiserum kullanılıyordu (78). Daha yeni ölçümler iki monoklonal antikör kullanılmaktadır ve idrar ölçümlerindeki gibi sadece bir çapraz bağ ve iki  $\beta$ -izomerize peptit içeren dipeptitleri tanıdıkları düşünülmektedir. Orijinal serum CTX-ELİSA için standartlar insan idrarından elde edilen antijenlerden yapılır ama otomasyondaki ölçümler sentetik antijenlerle yapılmaktadır. Serum ve idrar CTX değerleri birbirine yakındır ki bu da antijenin her iki analitik ortamda da benzer olduğunu düşündürür (79).

#### ***2.4. KMY Ölçüm Yöntemleri***

Gerek osteoporoz tanısında gerekse kırık riskinin saptanmasında tüm dünyada yaygın olarak kullanılan invaziv olmayan kemik mineral yoğunluk ölçümleri tedaviye karar verme ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde en etkin yöntem olarak kabul edilmektedir. Prospektif çalışmalarda, tüm osteoporotik kırıklar için KMY ölçümlerinin, kırık riskini tahmin etme açısından yararlı olduğu sonucuna varılmıştır (80).

Osteoporozda görüntüleme yöntemleri arasında kesitsel bir araştırma sonucunda anatomik bilgilere göre en iyi sonuç veren teknikler şu şekilde sıralanmıştır:

1. Omurganın değerlendirilmesinde kantitatif tomografi (QCT)
2. Kalçada Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometri (DEXA)
3. Radius için DEXA
4. El için radyografik absorbsiyometri (RA)
5. Kalkaneus için kantitatif ultrason (US)

Bütün bu ölçümler içinde en sağlam ve güvenilir sonuçlar spinal QCT ile elde edilmiştir. Diğerlerinin görece olarak birbirleri ile benzerlik göstermekte olduğu saptanmış, genel olarak omurga ölçümlerinden QCT ve DEXA arasında da kuvvetli ilişki bulunmuştur.

Duyarlılık oranının yüksek olması ve hızlı uygulanabilmesi nedeniyle günümüzde halen altın standart olarak tanımlanan DEXA tekniğinde radyoizotop kaynağı olarak X ışınları kullanılmaktadır. Çift enerjili X ışını kemiği geçerken bir kısmının kemik etrafından absorbe edilmesi sonucu kalan radyasyon miktarının hassas olarak ölçülmesi ve birim alanda absorbsiyona neden olan kemiğin mineral içeriğinin tahmin edilmesi prensibine dayanır. Tüm vücut, ön-arka ve lateral lomber omurga ve femur ölçümü yapar. Duyarlılık oranı yüksektir. Tarama iki boyutludur ve alansal yoğunluğu ( $\text{gr}/\text{cm}^2$ ) verir. Ölçüm süresi birkaç dakikadır ve bir akciğer radyografisininin 1/10'u kadar radyasyon ışını içerir. İyi bir değerlendirme için uygun cins ve ırk referansları ile karşılaştırmaların yapılması ön koşuldur. Dezavantajı ise trabeküler ve kortikal kemikleri ayrı ayrı değerlendirememesidir. Vertebralardaki skolyoz, dejeneratif değişiklikler, aorta kalsifikasyonları KMY değerlerini arttırarak osteoporozlu kişilerde yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. Osteoartritik değişiklikleri fazla olan yaşlılarda osteoporozla bağlı kemik kaybını tespit etmek amacıyla lateral omurga DEXA tekniği geliştirilmiştir.

Kemik dansitometrisi için hasta seçim kriterleri şunlardır (81):

-Radyografilerde osteopeni ve/veya vertebral deformite varlığı

-Boyda kısalma, dorsal kifozda artış (vertebral deformiteler radyografik olarak

belgelendikten sonra)

- Daha öncesine ait kırılmalığa bağlı kırık öyküsü
- Uzun süreli kortikosteroid kullanımı (üç aydan fazla günlük 5 mg'ın üzerinde)
- Erken menopoz (45 yaşın altında)
- Sekonder amenore (1 yıldan fazla uzamış)
- Primer amenore (Primer hipogonadizm)
- Osteoporozla ilintili kronik hastalıklar
- Annede kalça kırığı öyküsü
- Vücut kitle indeksinin düşük olması ( $19 \text{ kg/m}^2$ 'nin altında)

Gerek tanıda gerekse kırık riskinin kolay ve güvenilir olarak belirlenmesi için T skor ve Z skor gibi istatistiksel kavramlar göz önüne alınmalıdır.

T skor; kemik kütesinin genç erişkin referans popülasyonunun ortalama doruk kemik kütesi ile kıyaslanmasının standart sapma olarak tanımlanmasıdır.

Z skor; hastanın kemik kütesinin yaş ve cinse göre referans değer ile kıyaslanarak standart sapma olarak tanımlanmasıdır (82).

$$T \text{ skoru} = \frac{\text{Hastanın ölçülen KMY değeri} - \text{Genç erişkin referans popülasyonunun ortalama değeri}}{\text{Genç erişkin standart deviasyonu}}$$

$$Z \text{ skor} = \frac{\text{Hastanın ölçülen KMY değeri} - 0 \text{ yaş grubunun ortalama değeri}}{\text{Popülasyonun standart deviasyonu}}$$

Dünya Sağlık Örgütü osteoporoz ile ilgili 4 tanı kriteri kabul etmiştir (83,84).

1- **Normal kemik yoğunluğu:** T skorlarına göre 1 standart sapmadan (SD) daha az sapma gösterenler.



2- **Düşük kemik kitlesi (Osteopeni):** T skorlarına göre – 1SD ile – 2,5 SD arasında olduğu değerler.

3- **Osteoporoz:** T skorlarına göre -2,5 SD ve daha düşük olduğu değerler.

4- **Yerleşmiş osteoporoz:** T skorlarına göre -2,5 SD veya daha fazla düşük olduğu değerler ve beraberinde bir veya daha çok kırığın eşlik etmesi.

## **2.5. Diyabet**

### **2.5.1. Diyabet Tanımı ve Sınıflaması**

Diyabet insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak yada göreceli azlığı sonucu karbonhidrat protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır. Diyabet açlık hiperglisemisi ile ya da daha erken evrede glukoz tolerans bozukluğu ile karakterizedir.

Diyabet klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı, görme kaybı, ketoasidoz veya hiperosmolar nonketotik koma, bazı durumlarda ise retinopati, nöropati, nefropati, kalp ve damar hastalıkları gibi uzun dönem komplikasyonları ile tanınır. Asemptomatik ya da hafif semptomlarla seyreden DM hastaları ise çoğunlukla rutin tarama testleri ile tespit edilir. Günümüzde birçok diyabet formunun etyolojisi tespit edildiğinden, yeni bir sınıflamaya ihtiyaç duyulmuştur. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından 1997’de önerilen klinik sınıflama, 1999’da WHO tarafından adapte edilmiş ve DM’nin, klinik evre ve etyolojisine göre sınıflaması yapılmıştır. Daha önceki yıllarda, tedavi veya başlangıç yaşı gibi kriterler esas alınarak yapılan diyabet sınıflaması günümüzde patolojik sürece bakılarak yapılmaktadır(85).

### **Diyabetin Etyolojik Sınıflaması (ADA, 1997)**

I. Tip 1 diyabet (B hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği)

A. İmmunolojik

B. İdiopatik

II. Tip 2 diyabet (relatif insülin eksikliği ve insülin direnci yada insülin salınım defekti ile birlikte insülin direnci)

III. Diğer spesifik diyabet tipleri

- $\beta$  hücre fonksiyonunda genetik defekt ile karakterize (MODY)
  - İnsülin etkisinde genetik defekt
  - Ekzokrin pankreas hastalıkları
  - Endokrinopatiler
  - İlaç ya da diğer kimyasallara bağlı gelişenler
  - Enfeksiyonlar (konjenital rubella, sitomegalovirus, koksaki virus)
  - İmmunolojik diyabetin az izlenen formları( anti insülin antikörleri)
  - Diyabetle ilişkilendirilen genetik sendromlar- Down sendromu
- IV. Gestasyonel Diyabet (86)

### ***2.5.2.Diyabet Tanısı***

- 1- Gün içerisinde rastgele ölçülen plazma glukozunun 200mg/dl'nin üzerinde olması ve poliüri, polidipsi,açıklanamayan kilo kaybı gibi diyabet semptomları.
- 2- En az 8 saatlik tam açlık sonrası plazma glukoz düzeyi  $\geq 126$ mg/dl
- 3- Oral glukoz tolerans testi sırasında 2.saat plazma glukoz düzeyi  $\geq 200$ mg/dl

Amerikan Diyabet Birliğine (ADA) göre diyabetin tanısı açlık glisemisinin venöz plazmada en az iki ardışık ölçümde 126 mg/dl veya daha yüksek olması ile konur.

Eğer hastada semptomlar yok veya hafif var ise ve glisemi tanılarını zorluyor ise Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) gerekebilir. Ayrıca bozulmuş glukoz tolerans tanısı içinde OGTT'ye gerek vardır.

**DİABETES MELLİTUS YENİ TANI KRİTELERİ (ADA) (87)**

**Açlık Plazma Glukozu**

Normal : &lt; 100 mg/dl

Bozulmuş açlık glukozu: 100 mg/dl -125 mg/dl

Diyabet :  $\geq 126$  mg/dl**OGTT sırasında 2.saat plazma glukozu**

Normal : &lt; 140 mg/dl altı

Bozulmuş glukoz toleransı: 140 mg/dl – 199 mg/dl

Diyabet :  $\geq 200$  mg/dl**2.5.3. Tip 2 Diyabet**

Tip 2 diyabet insülin rezistansı, yetersiz insülin sekresyonu ve aşırı hepatik glukoz yapımı ile karakterizedir. Hastalığın erken evresinde pankreas  $\beta$  hücrelerinden insülin sekresyonunu artırır böylece insülin rezistansına rağmen glukoz toleransı normal kalır. Ardından vücudun insülin rezistansını yenmek için gerekli hiperinsülinemik durumu sağlayamaması ile postprandial hiperglisemi gelişir. Sonunda insülin sekresyonunun iyice azalması ve karaciğerde glukoz sekresyonunun artması açlık kan glukozunu yükseltir. Tip 2 diyabet ve obezite birlikteliği sık görülür. Obezite insülin direncini artırarak hiperglisemiyi ağırlaştırmasına rağmen obezite olmadan da Tip 2 diyabet gelişir. İnsülin direnci, kilo verme, egzersiz ve farmakoterapiyle azaltılabilir. Tip 2 diyabet yıllarca asemptomatik kalabilir. Bu sessiz dönemde hastaların makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon riski artmıştır. Obezite, fiziksel aktivite azlığı, aile öyküsü, ırk, hipertansiyon, kardiovasküler hastalık öyküsü, hiperlipidemi daha önce bozulmuş açlık glukozu ya da bozulmuş glukoz toleransı görülmesi Tip 2 diyabet gelişmesinde önemli risk faktörleridir (88,89).

**2.5.4. Diyabet ve Osteoporoz**

Birçok araştırmada Tip 1 diyabette düşük BMD değerleri bildirilmektedir (90,91). Tip 2 diyabet'te ise diyabetik olmayan kontrol grubuna göre daha düşük, benzer veya daha yüksek BMD değerleri gösteren çalışmalar mevcuttur (92–94). Diyabet patogenezinin, özellikle Tip 1 ve Tip 2 diyabete yol açan farklı mekanizmaların daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, kemik metabolizmasındaki değişikliklerin tek bir patogenetik olayın sonucu olmadığı, kemik metabolizmasındaki değişikliklerin farklı klinik tablolarda ortaya çıkabilen multifaktöriyel bir olay olduğu netlik kazanmıştır (95).

Diyabetik osteopeni patogenezinin katkısı olan faktörlerin bazıları devamlı hiperglisemik durum, böbreklerden kalsiyum-fosfat kaybı, insülin/insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) etkisinde azalma, glikozilasyon son ürünlerinin oluşumu ve nöropati, nefropati gibi diyabetik komplikasyonlar, D vitamini metabolizma değişiklikleri ve osteoblast işlevlerinde azalma olarak sıralanabilir. Osteoblastik defisitinin diyabetik osteopeni oluşumunda major bir rol aldığı öne sürülmüştür. Tek başına devamlı hipergliseminin osteoblast proliferasyonunu ve osteoblastların parathormon ile 1-25 dihidroksi D vitaminine (1-25 (OH)<sub>2</sub> D) cevabını baskıladığı gösterilmiştir. 1-25 dihidroksi D vitaminine osteoblastların cevabının azlığı diyabetik hastalarda 1-25 dihidroksi D vitamini verilmesi sırasında serum osteokalsin düzeyindeki artışın düşük olduğunun gösterilmesi ile teyit edilmiştir (96).

Tip 2 diyabet olgularının kemik mineral yoğunluklarının normal hatta artmış olmasının nedenlerinden biri olarak vücut kitlesi gösterilmektedir. Bu olguların çoğu şişmandır. Şişmanlık yağ dokusunda testosteronun östradiole, androstenedionun da östrona dönüşümünü hızlandırarak osteoporoza karşı koruyucu rol oynamaktadır (97).

Tip 2 diyabette insülin direncine ikincil gelişen hiperinsülinizmin kemiklerde mitojenik ve anabolik etkisi vardır (98).

Kemik mineral kaybının şiddeti glukozüri, açlık kan şekeri ve glikozile Hb düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (99). Glisemik kontrol, insüline bağımlı olmayan diyabetik olguları kemik kaybından koruyabilir (100). Kötü glisemik kontrolün metabolik etkileri yeterli kemik yapımı olmadan artmış kemik yıkımına yol açar (101).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. GEREÇ:**

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 22.08.2006 gün ve 04 sayılı karar ile onaylanmıştır.

Çalışmaya, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Endokrinolojiji Polikliniğinde takip edilen tip 2 diyabeti olan 100 olgu (60 kadın, 40 erkek) alındı.

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

- 1) Erken menopoz
- 2) Hormon replasman tedavisi
- 3) KMY üzerine etki edecek ilaç kullanıyor olmak (tiazid diüretikleri, statinler, antikoagülanlar, hormon replasman tedavisi, antiepileptikler gibi)
- 4) Kemik metabolizmasını etkileyen hastalıklar (hipo/hipertiroidi, Cushing sendromu, primer hiperparatiroidi, renal yetmezlik, karaciğer hastalığı, enflamatuar barsak hastalığı ve malabsorbsiyonlar)
- 5) Alkolizm
- 6) Osteoporotik kırık hikâyesi
- 7) Osteoporoz tedavisi alıyor olmak
- 8) Skolyoz'du.

Kontrol grubu olarak 71 (54 kadın, 17 erkek) sağlıklı olgu alındı.

Hastalar diyabet süresi, ailede diyabet varlığı, menopoz, ilaç kullanımı açısından sorgulandı. Hastaların vücut kitle indeksi (VKİ) ağırlık (kg) /

boy(m<sup>2</sup>) formülü ile hesaplandı. Hastalığa ait bilgiler düzenli takip dosyalarından edinildi

Kemik mineral yoğunluğu (KMY; g/cm<sup>2</sup> ) Dual foton X ray absorbtometre (DEXA) yöntemi ile Hologic-GDR 4500W Fan beam Xray bone densitometer ile Lunar-DPX teknolojisi kullanılarak ölçüldü. Her hastanın lomber bölgeden antero-posterior (L1-L4'ten) ve sol femoral bölgeden (boyun, trokanter ve total kalça) ölçüm yapıldı. Osteoporoz ve osteopeni tanısı için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterleri esas alındı.

Kan örnekleri 12 saatlik açlık periyodu sonrasında sabah saatlerinde alındı. Hasta ve kontrol grubundan serum örnekleri için tam kan pıhtılaşma aktivatörlü serum separatör içeren jel seperatörlü tüplere alındı. Tam kan örnekleri alındıktan sonra yarım saat içinde 1000×g'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri analize kadar -85°C'de saklandı. Bu örneklerde serum BALP, OC, β-CTX düzeylerinin ölçümü yapıldı.

Hasta ve kontrol grubundan 24 saatlik idrar örnekleri alındı. Örnekler analize kadar -85°C'de saklandı. Bu örneklerde DPD ve kreatinin ölçümü yapıldı.

### **3.2. YÖNTEMLER:**

#### **3.2.1.KMY Ölçümü**

Tip 2 diyabetik hastaların ve kontrol grubunun KMY, L1, L2, L3, L4 ve proksimal femur bölgelerinden dual enerji x-ray absorbsiyometri (DEXA) ile ölçüldü. Her iki bölgede T skorları değerlendirildi ve Dünya Sağlık Örgütünün kabul ettiği (-2.5) SD altındaki değerler osteoporoz olarak kabul edildi.

#### **3.2.2.BALP Ölçümü**

BALP konsantrasyonlarının saptanmasında kantitatif sandviç ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) tekniği kullanıldı (METRA● BAP

EIA kit). Grifols (Diagnostic Grifols, SA. ESPANA) ELISA okuyucuda okutuldu.

İnsan BALP'na karşı geliştirilmiş spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı bu teknik ile BALP düzeyleri tespit edilmektedir.

Solid fazlı bir ELISA tekniği olan bu yöntemde spesifik monoklonal antikorlarla kaplı kuyucuklar içeren mikropate kullanılmaktadır. İşaretlenmiş BALP'ın enzimatik aktivitesi PNPP substratı ile tespit edilir.

***Kullanılan BALP kitinin analitik performansı:***

Kemiğe spesifik ALP antikoruna BALP izoformuna selektiftir ve yüksek affinitesi vardır. Karaciğer ALP'ına düşük kross- reaktivitesi vardır. İntestinal ve plasental izoformlara bağlanması ihmal edilebilir düzeydedir.

| <u>ALP izoenzim</u> | <u>% Reaktivite</u> |
|---------------------|---------------------|
| Kemik               | 100                 |
| Karaciğer           | 3,8                 |
| Plasenta            | 0                   |
| İntestinal          | 0,4                 |

3 farklı merkezde yapılan çalışmada; kolorimetrik, elektroforez ve immunoradyometrik yöntemle elde edilen korelasyon katsayıları  $r=0,99$ 'du. METRA•BAP EIA kitinin üretici tarafından tespit edilmiş analitik sensitivitesi 0.7 U/L olup ölçüm için kesinlik göstergesi olarak CV (Coefficient of Variation) değeri 35 U/L'lik örnek için tekrarlanan 21 ölçümde %3,9'dir.

***3.2.3.OC Ölçümü***

Kemilüminesans yöntemle çalışan, Immulite-1 analizöründe DPC (Diagnostic Products Corporation Los Angeles, CA USA) orijinal kitleri kullanılarak belirlendi.

DPC osteokalsin (OC) ölçümleri bir solid faz kemilüminesans immünometrik yöntemlerdir. Solid faz olarak test ünitleri içindeki polistren bilyeler kullanılır. Bu bilyeler OC için spesifik monoklonal antikorlar ile

kaplanmıştır. Hasta serumu ve alkali fosfataz ile işaretlenmiş poliklonal antikorlar test ünit içinde, 37 °C'de 30 dakika inkübe edilir. Örnek içindeki OC bir antikor sandviç kompleksi oluşturmak üzere bağlanır. Bağlanmayan konjugat uzaklaştırılır. Adamantil dioksetan'ın fosfat esterinin substrat olarak ilavesinden sonra, enzimin meydana getirdiği hidroliz ile oluşan kararsız ara ürünler, lüminesans ışık ortaya çıkarır. Bu ışığın yoğunluğu örnekteki osteokalsin miktarı ile doğru orantılıdır.

#### ***OC Ölçüm Metodunun Analitik Performansı:***

DPC IMMULITE OC kitinin üretici tarafından tespit edilmiş analitik sensitivitesi 0,1ng/ml 'dir.

Kitin ölçüm içi kesinlik göstergesi olarak tespit edilmiş CV (Coefficient of Variation) değeri 1,52 ng/ml, 2,81 ng/ml, 6,92 ng/ml'lik örnekler için tekrarlanan 21 ölçümde % 2,8'dir.

#### ***3.2.4. DPD ölçümü***

Kemilüminesans yöntemle çalışan, Immulite-1 analizöründe DPC (Diagnostic Products Corporation Los Angeles, CA USA) orijinal kitleri kullanılarak belirlendi.

DPC deoksipiridinolin (DPD) ölçümleri bir solid faz kemilüminesans immünometrik yöntemlerdir. Solid faz olarak test ünitleri içindeki polistren bilyeler kullanılır. Bu bilyeler DPD için spesifik monoklonal antikorlar ile kaplanmıştır. Hasta idrarı ve alkali fosfataz ile işaretlenmiş poliklonal antikorlar test ünit içinde, 37 °C'de 30 dakika inkübe edilir. Örnek içindeki DPD bir antikor sandviç kompleksi oluşturmak üzere bağlanır. Bağlanmayan konjugat uzaklaştırılır. Adamantil dioksetan'ın fosfat esterinin substrat olarak ilavesinden sonra, enzimin meydana getirdiği hidroliz ile oluşan kararsız ara ürünler, lüminesans ışık ortaya çıkarır. Bu ışığın yoğunluğu örnekteki deoksipiridinolin miktarı ile doğru orantılıdır.

Kreatinin kinetik kolorimetrik metotla BM-911 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Made in Germany) ölçüldü. Sonuçlar mM(milimol) değerine çevrildi. DPD düzeyi nM DPD / mM Kreatinin olarak belirlendi.



### ***DPD Ölçüm Metodunun Analitik Performansı:***

DPC IMMULITE DPD kitinin üretici tarafından tespit edilmiş analitik sensitivitesi 6nM 'dür.

Kitin ölçüm içi kesinlik göstergesi olarak tespit edilmiş CV (Coefficient of Variation) değeri 100nM'lik ve 150nM'lük örnekler için tekrarlanan 21 ölçümde sırasıyla % 10 ve % 8'dir.

### ***3.2.5.β-CTX Ölçümü:***

Serum β-CTX ölçümleri, Elecsys β-CTX kiti kullanılarak E170 elektrokemiluminesans İmmunassay analizöründe(Roche Diagnostics, Mannheim, Made in Germany) yapılmıştır.

Kemiluminesans, kimyasal reaksiyon sırasında oluşan ışık saçılımıdır. Elektrokemiluminesans ise, yarışmalı ve sandviç immünölçümlerde işaretleyici olarak ruthenyum gibi elektrokemiluminesans moleküllerin kullanıldığı immünölçüm tipidir. Bu tip ölçümlerde ruthenyum(II) tris(bipiridil), elektrod yüzeyindeki tripropilamin ile 620 nm'de elektrokemiluminesans reaksiyona girer. Katı faz olarak manyetik bilyalar kullanılarak, bilyalar elektrod yüzeyinde tutulur ve bağlı olmayan işaretleyici yıkama solüsyonu ile uzaklaştırılır. Bilyaya bağlı işaretleyici, voltaj uygulanması ile elektrokemiluminesans reaksiyona girer ve oluşan ışık yayımı fotomultiplier tüp ile ölçülür (61).

Sandviç kompleks oluşumuna dayalı bir immünölçüm olan Elecsys β-CTX ölçümünde oluşan ışık yayımı, analitin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak analizör tarafından hesaplanır.

### ***β-CTX Ölçüm Metodunun Analitik Performansı:***

Elecsys β-CTX kitinin üretici tarafından tespit edilmiş analitik sensitivitesi 0,01ng/ml (10 pg/ml)'dir.

Kitin ölçüm içi kesinlik göstergesi olarak tespit edilmiş CV (Coefficient of Variation) değeri 0,14 ng/ml'lik ve 0,45 ng/ml'lik örnekler için tekrarlanan 21 ölçümde sırasıyla % 5,5 ve % 2'dir.

### ***3.2.6. İstatistiksel Analiz:***

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS for Windows 10.0 paket programı kullanıldı. Sonuçlar, ortalama  $\pm$  SEM olarak verildi. Grupların normal dağılıma uygunluğuna Kolmogorov-Smirnov testi ile bakıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal- Wallis Varyans analizi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Nominal veriler Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Korelasyon için Spearman Korelasyon Testi kullanıldı. Çok değişkenli analiz için lojistik regresyon yapıldı ve modelin uygunluğu Hosmer-Lemeshow testi ile değerlendirildi. p değerinin 0.05 değerinin altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## ***4. BULGULAR***

Bu çalışma, 100 (60♀, 40♂) tip 2 diyabetik, 71 (54♀, 17♂) sağlıklı kişide yapıldı. Yaş ortalaması diyabetik grupta  $58,3 \pm 1,3$ , sağlıklı kontrol grubunda  $57,3 \pm 0,6$  idi.

Grupların yaşlarının karşılaştırmasında t testi kullanıldı. Gruplar arasında yaş değerleri istatistiksel olarak farklı değildi ( $p=0,246$ ).

#### **4.1.KMY ile OP Durumu**

Diyabetik ve sağlıklı kontrol grubunda T skorlarına göre tespit edilen OP durumunun karşılaştırılmasında Ki Kare testi kullanıldı. Sonuçlar Tablo.1 de gösterildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ( $p=0,745$ ).

**Tablo IV.1.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta OP durumu

|      |         | OP  |     | n   |
|------|---------|-----|-----|-----|
|      |         | YOK | VAR |     |
| Grup | Kontrol | 33  | 38  | 71  |
|      | Diyabet | 49  | 51  | 100 |
|      | Toplam  | 82  | 89  | 171 |

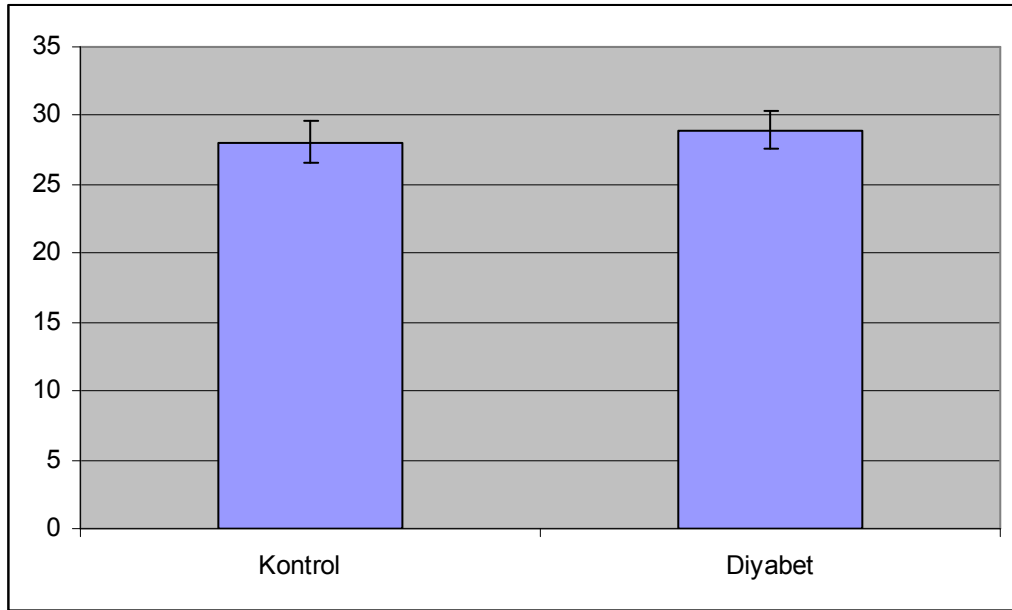
#### **4.2.BALP DÜZEYLERİ**

Diyabetik ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen BALP değerleri Tablo IV.2’de gösterilmiştir.

**Tablo IV.2.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta BALP değerleri  
(ortalama±SEM)

| <b>GRUPLAR</b>                  | <b>BALP ( U/L)</b> |
|---------------------------------|--------------------|
| Sağlıklı Kontrol Grubu<br>n: 71 | 28,10±1,49         |
| Diyabetik Grup<br>n: 100        | 28,96±1,37         |

Diyabetik grup serum BALP değerleri (28,96±1,37 U/L), sağlıklı kontrol grubundan (28,1±1,49 U/L) istatistiksel olarak farklı değildi (p=0,817).



**Şekil IV.1.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum BALP düzeyleri

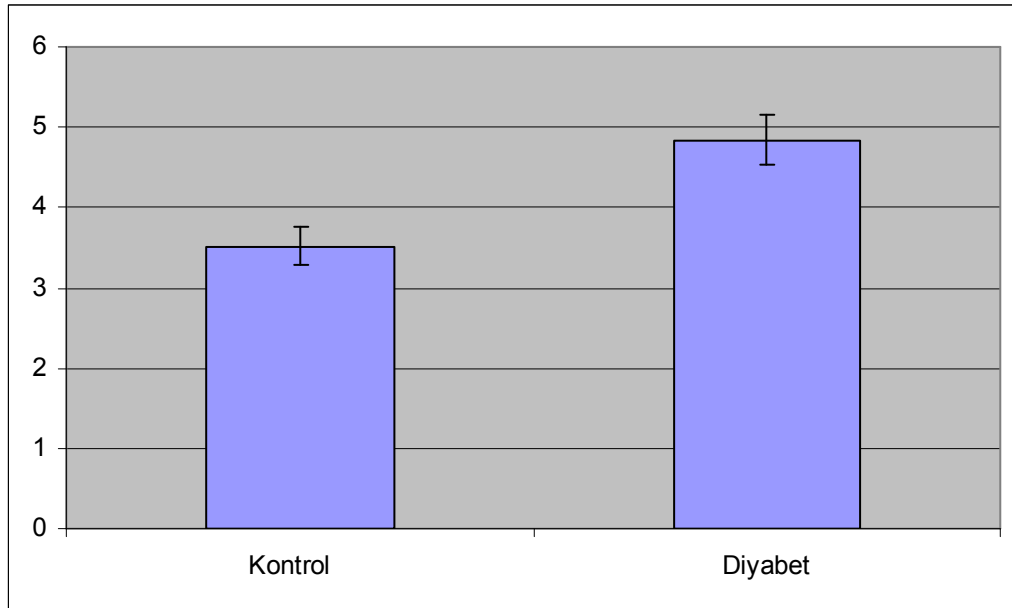
#### **4.3.OC DÜZEYLERİ**

Diyabetik ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen OC değerleri Tablo IV.3’de gösterilmiştir.

**Tablo IV.3.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta OC değerleri  
(ortalama  $\pm$  SEM)

| GRUPLAR                         | OC (ng/ml)      |
|---------------------------------|-----------------|
| Sağlıklı Kontrol Grubu<br>n: 71 | 3,52 $\pm$ 0,24 |
| Diyabetik Grup<br>n: 100        | 4,84 $\pm$ 0,32 |

Diyabetik grup serum OC değerleri (4,84  $\pm$  0,32 ng/ml), sağlıklı kontrol grubu (3,52 $\pm$ 0,24 ng/ml) değerlerinden yüksek bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.001).



**Şekil IV. 2.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum OC düzeyleri

#### **4.4.DPD DÜZEYLERİ**

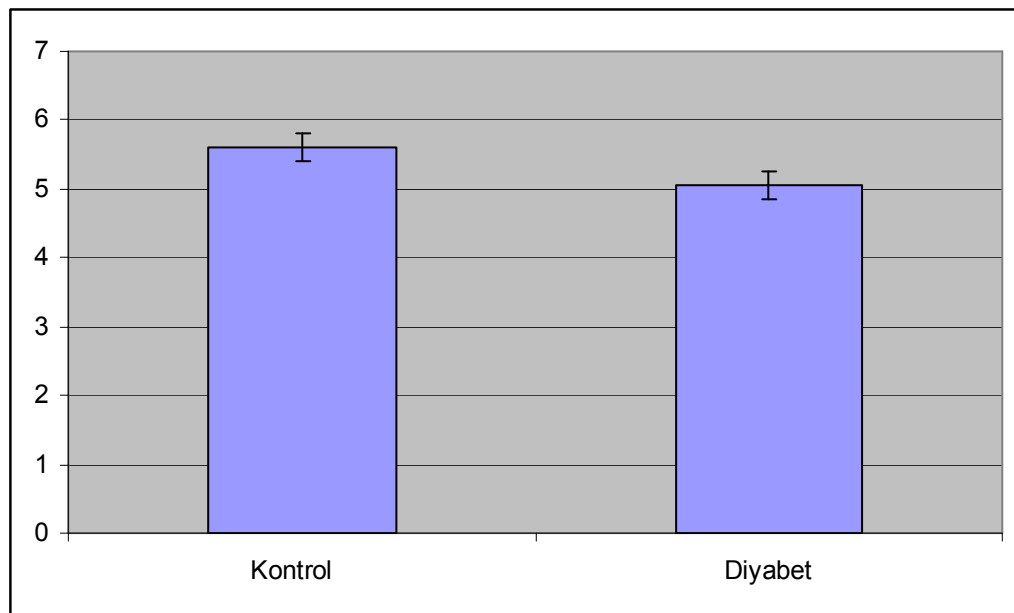
Diyabetik ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen DPD değerleri Tablo IV.4'de gösterilmiştir.

**Tablo IV.4.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta DPD değerleri

(ortalama  $\pm$  SEM)

| GRUPLAR                         | DPD (nM/mM kreatinin) |
|---------------------------------|-----------------------|
| Sağlıklı Kontrol Grubu<br>N: 71 | 5,60 $\pm$ 0,20       |
| Diyabetik Grup<br>N: 100        | 5,06 $\pm$ 0,21       |

Diyabetik grup idrar DPD değerleri (5,06 $\pm$ 0,21 nM/mM), sağlıklı kontrol grubundan (5,6 $\pm$ 0,2 nM/mM) istatistiksel olarak farklı değildi (p=0,085).



**Şekil IV.3.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup idrar DPD düzeyleri

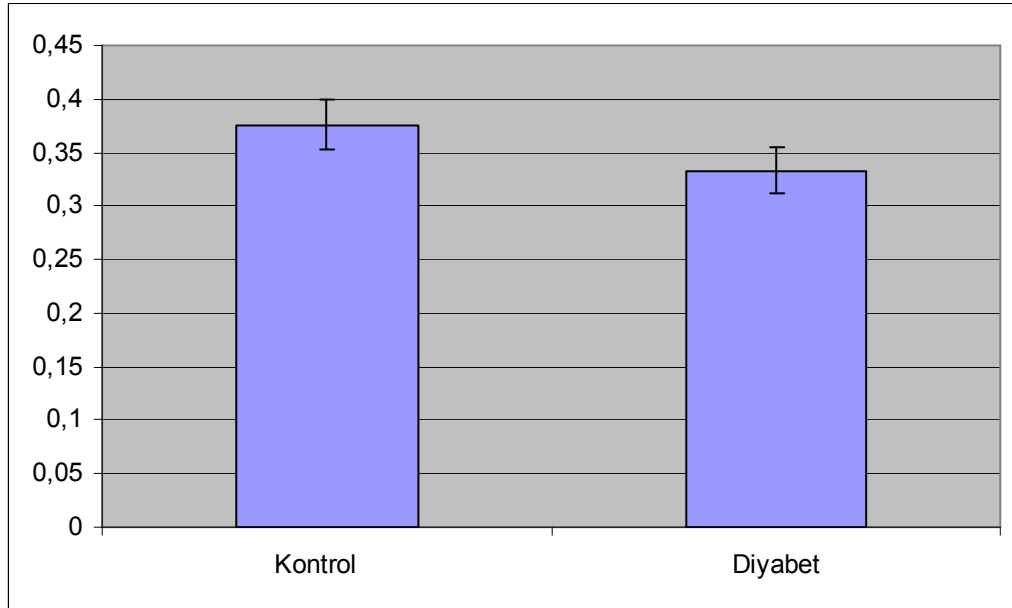
#### **4.5.β-CTX DÜZEYLERİ**

Diyabetik ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen β-CTX değerleri Tablo IV.5’de gösterilmiştir.

**Tablo IV.5.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grupta  $\beta$ -CTX değerleri  
(ortalama  $\pm$  SEM)

| GRUPLAR                         | $\beta$ -CTX (ng/ml) |
|---------------------------------|----------------------|
| Sağlıklı Kontrol Grubu<br>n: 71 | 0,376 $\pm$ 0,024    |
| Diyabetik Grup<br>n: 100        | 0,333 $\pm$ 0,021    |

Diyabetik grup serum  $\beta$ -CTX değerleri (0,333 $\pm$ 0,021 ng/ml), sağlıklı kontrol grubundan (0,376  $\pm$ 0,024 ng/ml) istatistiksel olarak farklı değildi (p=0,069).



**Şekil IV.4.** Sağlıklı kontrol ve diyabetik grup serum  $\beta$ -CTX düzeyleri

#### 4.6. Osteoporozu Etkileyen Faktörlerin Çok Değişkenli Analizi

Osteoporozu etkileyen faktörleri incelemek için ikili lojistik regresyon analizi yapıldı. Bağımlı değişken olarak osteoporoz, bağımsız değişkenler olarak diyabet varlığı, yaş, cinsiyet, VKİ alındı. Elde edilen regresyon modeli, Hosmer- Lemeshow testine göre geçerlidir (p=0.491).

Analiz sonuçlarına göre sadece yaşın osteoporoz üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi vardır ( $p= 0.002$ ). Yaş arttıkça osteoporoz artmaktadır.

VKİ' nin anlamlılık sınırına yakın olduğu dikkati çekmektedir ( $p=0.056$ ). VKİ ile osteoporoz arasında ters ilişki bulunmaktadır (Tablo IV.6).

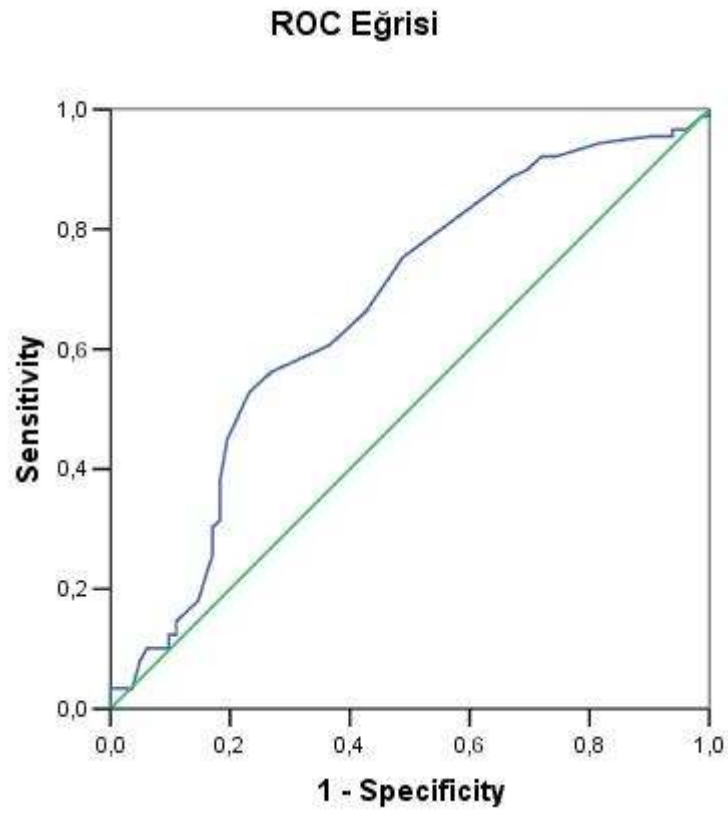
**Tablo IV.6.** İkili lojistik regresyon analizi sonuçları

| <b>Değişken</b> | <b>B (Tahmini Katsayı)</b> | <b>S.E.M</b> | <b>P</b> |
|-----------------|----------------------------|--------------|----------|
| Grup            | -0,030                     | 0,330        | 0,927    |
| Cins            | -0,028                     | 0,356        | 0,937    |
| Yaş             | 0,065                      | 0,021        | 0,002    |
| BMI             | -0,063                     | 0,033        | 0,056    |
| Sabit           | -1,851                     | 1,479        | 0,211    |

### ***ROC (Receiver Operating Characteristics) Analizi***

Yaşın osteoporoz için ne derecede açıklayıcı olduğunu incelemek için ROC analizi yapıldı. Buna göre yaşın osteoporoz için ROC eğri altında kalan alanı (AUC, area under curve), 0.665'tir (Şekil IV.1). Bu değer istatistiksel olarak anlamlıdır (TabloIV.6,  $p=0.000$ ).





**Şekil IV.5.** Yaşın osteoporoz etkisini gösteren gösteren ROC eğrisi.

**Tablo IV.7.** Yaş ile osteoporoz ilişkisi.

| Alan  | SEM   | p     | % 95 Güven aralığı |           |
|-------|-------|-------|--------------------|-----------|
|       |       |       | Alt sınır          | Üst sınır |
| 0,665 | 0,042 | 0,000 | 0,583              | 0,748     |

## 5. TARTIŞMA

Osteoporoz kemik kaybı ve kırıklara yol açan bir durumdur. Laboratuvar çalışmalarına dayanan bilgiler, kemik hücre fonksiyonunun lokal ve sistemik düzenleyicileri ve osteoporoz arasında kompleks bir etkileşim olduğuna dikkat çeker (102). Osteoporozun ve komplikasyonlarının yüksek tedavi maliyeti de göz önünde bulundurulduğunda ana amaç osteoporozun erken tanısı ve önlenmesi olmalıdır (103).

Osteoporozun tanı ve takibinde görüntüleme yöntemleri osteoporozun derecesini ve kırık riskini belirleme, kemik kayıp hızını takip etme ve uygulanan tedavinin etkinliğini izleme gibi genel amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır. Biyokimyasal kemik markırları primer ve sekonder osteoporoz ayırıcı tanısını yapmak, kırık riski yüksek olan hastaları belirlemek, tedavi tipini seçmek ve özellikle antirezorbtif tedavinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla kullanılır (104). Bu markırlar osteoblast ve osteoklastların enzimatik aktivitelerini, osteoblastların enzim olmayan ürünlerini, yapım ve yıkım sırasında serbestlenen kemik matriks bileşenlerini spesifik olarak gösterirler (105). Bu yeni markırlar alkale fosfataz, hidroksiprolin ve kalsiyum gibi spesifik olmayan markırların yerini almıştır. Kemik döngüsünün biyokimyasal markırları; yapım ve yıkımı göstermelerine göre sınıflandırılabilirler. Yapım markırları; osteoblast aktivite ürünleri (BALP, OC, PICP, PINP) ve yıkım markırları; osteoklast aktivite ürünleri (DPD, CTX, NTX, TRAP)dır (106). Sağlıklı bir değerlendirme için en az bir yapım ve bir yıkım markırı seçilmelidir.

Biz bu çalışmada kemik döngüsünün biyokimyasal markırı olarak kemik yapım markırı olan BALP ve OC, kemik yıkım markırı olan DPD ve CTX ( $\beta$ - CrossLaps) kullandık. Diyabetik grup serum BALP değerleri ( $28,96 \pm 1,37$  U/L), sağlıklı kontrol grubu değerlerinden ( $28,1 \pm 1,49$  U/L) farklı değildi ( $p=0,817$ ). Diyabetik grup serum OC değerleri ( $4,84 \pm 0,32$  ng/ml), sağlıklı kontrol grubu değerlerinden ( $3,52 \pm 0,24$  ng/ml) yüksek bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0,001$ ). Diyabetik grup idrar DPD değerleri ( $5,06 \pm 0,21$  nM/mM), sağlıklı kontrol grubu değerlerinden ( $5,6 \pm 0,20$  nM/mM) farklı değildi ( $p=0,085$ ). Diyabetik grup serum  $\beta$ -

CrossLaps değerleri ( $0,333\pm 0,021$  ng/ml), sağlıklı kontrol grubu değerlerinden ( $0,376 \pm 0,024$  ng/ml) farklı değildi ( $p=0,069$ ).

Alkalin fosfatazın kemik spesifik izoenzimi (BALP) yalnızca osteoblast membranına yerleşiktir ve osteoblast aktivasyonu varsa dolaşıma salınır. BALP'ın ölçümü, kemik dışı patolojilerden daha az etkilenir (47). Klinik açıdan kemik spesifik izoenzimin ölçümü yüksek spesifikite gösterdiği için artan oranda tercih edilmektedir(48). Osteokalsin (OC), osteoblastlar tarafından sentezlenir. Serum OC düzeyi osteoblast fonksiyonu için spesifik bir belirteç olarak kabul edilmektedir (107).

DPD kemik rezorpsiyonu esnasında Tip I kollajenin hidrolizi ile dolaşıma salınır ve idrarla atılır. DPD kemik rezorpsiyonunun sensitif ve spesifik bir markırıdır (25). Kemik metabolizması fizyolojik ve patolojik olarak arttığı zaman, Tip I kollajenin idrar ve serumda artmış yıkım ürünleri görülür. Bu yıkım ürünlerinden çapraz bağlı C- terminal telopeptidten oluşana  $\beta$ - CrossLaps denir. C terminal telopeptidlerin serumda ölçülmesi osteoporozda veya diğer kemik hastalıklarında uygulanan antirezorptif tedavinin etkinliğini izlemek için önerilmiştir. Tedavinin indüklediği değişiklikler birkaç hafta sonra gösterilebilir (77).

Diyabetik hastalarda genel olarak bir kemik kaybı veya kazancı olup olmadığı kemik döngüsünde bir bozukluk olup olmadığı henüz netleştirilememiş bir sorudur. Hepsinde olmasada çoğu çalışmada tip 1 diyabetik genç bireylerde KMY'de azalma görülmüştür (108,109). tip 2 diyabetiklerde diyabetik olmayanlara kıyasla yüksek (110-112), düşük (113,114) ve benzer (115-118) KMY değerleri olduğu gösterilmiştir.

Osteoporoz genellikle 45 yaşından sonra başlar ve yaş ilerledikçe insidansı artar. 50-60 yaş arası kadınlarda prevelans % 40-45 iken 70 yaş üzerinde % 85-90 olarak bildirilmektedir (119). Bizim çalışmamızda osteoporozu etkileyen faktörler çok değişkenli analizle incelendiğinde yaşın osteoporoz üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi vardı ( $p=0,002$ ). Yaş arttıkça osteoporoz artmaktadır. Ayrıca VKİ anlamlılık sınırına yakın olarak osteoporoz durumunu etkilemiştir ( $P=0,056$ ). VKİ ile osteoporoz arasında ters ilişki vardır. Biridges MJ ve ark. (115)nın yaptığı çalışmada da tip 2

diyabetlilerde KMY sadece VKİ ve yaşla korele bulunmuştur. Verilerimiz bu çalışmanın sonuçları ile uyumludur.

Diyabet ve osteoporoz toplum sağlığına etkileri olan iki büyük sendromdur. Diyabette düşük kemik kitlesinden sorumlu birçok mekanizma olabilir:

İnsülinopeni (120,121)

Mikroanjyopati (122,123)

İnterlökin (IL) yükselmesi (124)

Metabolik kontrolün bozuk olması kemik kütlesinin korunmasını etkiler (125,126). Bu sadece mineral metabolizmasının dengesini değil remodelingi de etkiler (127). Hiperglisemi ile provake olan poliüri idrar ile Ca, P ve Mg kaybını uyarır (126).

Diyabet değişik klinik ve etyolojik yönleri olan ve tümünde hipergliseminin ortak olduğu heterojen bir hastalıktır. Diyabetin osteopeni ile ilişkili olma olasılığı bu hastalığın heterojenitesi açısından bazı kuşkular oluşturur. Tip 2 diyabet, obezite, hiperandrojenizm, yüksek östrojen seviyeleri, normal IGF düzeyleri ve sıklıkla hiperinsülinemi ile birlikte olan bir hastalıktır (128,129). Bu faktörlerin tümü kemik kütlesinin kaybına karşı koruyucudur. Tersine tip 1 diyabette insülinopeni kilo kaybı ve düşük IGF düzeyleri vardır (121). Sıklıkla amenore hipoöstrojenizm vardır. Bunlar da osteopeni ile ilişkilidir.

Cutrim ve ark.(117) nın yaptıkları çalışmada hipergliseminin kemik döngüsüne etkisi açısından plazma glukozu ile kemik markırları arasında korelasyon saptanamamıştır. Metabolik kontrolün bozuk olmasının mineral metabolizmasını kontrol eden kemik markırlarında değişiklik yapmadığı gösterilmiştir.

Okazaki ve ark.(130) nın yaptıkları çalışmada kötü kontrollü tip 2 diyabette metabolik düzeltmenin kemik yapım ve yıkım markırlarında OC hariç olmak üzere bir azalma olduğu gösterilmiştir. OC ekspresyonu mineralizasyon fazında osteoblast gelişimi ile ALP ekspresyonunda azalma olduktan sonra meydana gelir (131). Bizim çalışmamızda OC seviyeleri diabetik hasta grubunda, sağlıklı kontrol grubundan yüksek, BALP ise benzer

bulunmuştur. Bu, bizim hastalarımızda ALP ekspresyonunun tamamlanıp mineralizasyon fazına geçildiğini düşündürebilir.

OC'nin glikozillendiği bilinmektedir (132). Bu nedenle kötü kontrollü diyabetlilerde OC kemik durumunu doğru yansıtmayabilir.

Lokal sitokinlerin yanı sıra hücre-hücre, hücre-matriks etkileşimleri, sistemik hormonların yanı sıra hiperglisemi kemik döngüsünü düzenleyen mikroçevreyi etkileyebilir. Takagi ve ark.(133) ileri glikozilasyon son ürünleri (AGE)'nin IL-6 yapımını uyardığı, bunun kemiği rezorbe eden sitokin olduğunu insan ve fare osteoblast benzeri hücre kültürlerinde göstermişlerdir. AGE oluşumu irreversibl kabul edildiği için bu mekanizma tip 2 diyabette glisemik kontrolden sonra kemik yıkım markırlarındaki ani düşüşü izah edemez.

Diyabet kemik dayanıklılığını azaltabilir. Bunun nedenlerinden biri kemik kollajeninde AGE'lerin birikmesidir. AGE'ler protein ve glukoz arasında bir seri non-enzimatik reaksiyonla meydana gelir. Son ürün çapraz bağlı stabil bir üründür. AGE'ler yaş ile birlikte birikir ve diyabette artar. Diyabette vasküler komplikasyonlara, elastisiteyi azaltarak ve kan damarlarında permeabiliteyi artırarak etki ettiği düşünülür (134).

AGE vücutta birçok dokuda bulunur. Bunlardan biri de kemik kollajenidir. Kemik kollajenindeki AGE kemik frajilitesini artırabilir. İnsan kadavralarında Wang ve ark.(135) nın yaptıkları çalışmalarda yüksek AGE'ler dayanıklılığın azalması ile ilişkili bulunmuş. AGE'lerin kemik dayanıklılığına etki mekanizmaları ile ilgili açık bir bilgi yoktur. AGE varlığı kemik kollajenin yapısını değiştirebilir (136). Hücre dizileri ile yapılan çalışmalarda AGE'lerin kemik metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir. Kollajendeki AGE'lerin osteoblast fenotipini inhibe ettiği (137), osteoklastlarla kemik yıkımını artırdığı (138), kemik kaynaklı insan hücrelerinde IL-6'yı uyardığı (133) bildirilmiştir. AGE spesifik reseptörler osteoblast benzeri hücrelerde saptanmıştır (139). AGE'lerin kemik kırılma riskine etkileri ve kırık riskindeki ilişkiyi araştırmak için önemli bir alan olduğu bilinmektedir. Ancak kemikte AGE belirlenmesi için var olan metodlar minimal olarak invazivdir.

Yaşlı diyabetiklerde kemik kaybına yol açan muhtemel mekanizmalar kilo kaybı, ilave olarak hiperkalsiüri (140), bozulmuş renal fonksiyon (141), diyabet ilerledikçe azalan endojen insülin düzeyleri (142), mikrovasküler komplikasyonlar (143) ve sitokinlerdir (144).

İnsülin ve IGF'ler diyabette kemik metabolizmasında hem direk etki ile hem de diğer büyüme faktörleri ve sitokinleri etkileyerek değişiklik meydana getirebilirler. Ayrıca son bulgulara göre osteoblast ve kemik kitlesine leptinin de etkisi vardır. Tip 2 diyabetteki kemik metabolizması üzerine çok fazla değişkenin etkili olması meydana gelen değişikliklerin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır (145).

Tip 2 diyabette kemik dokunun korunduğu gözlenir. Tip 2 diyabetlilerde artmış adipoz doku nedeniyle metabolik olarak aktif steroid hormonlar ve IGF'ler kemik yapımını uyarıcı etki gösteriyor olabilir (146). Hayvan çalışmalarında IGF-1'in kemik yapımını düzenleyici etkisi gösterilmiştir. Osteoblastlarda IGF-1 ve insülin reseptörleri vardır. IGF-1 kemik hücrelerine aminoasit alımını ve kollajen sentezini uyarır (147). Tip 2 diyabetlilerde özellikle aşırı kilolu olanlarda KMY normal veya artmış olarak bulunmuştur (148). Adipoz dokuda androjenlerin östrojene aromatisasyonu sağlanır. Düşük VKİ olanlarda daha az dönüşüm meydana gelir. Adipoz dokuda % 10-15, kas dokusunda % 25-30 dönüşüm vardır (149).

KMY ölçümleri ile biyokimyasal kemik markırları arasında net bir ilişki gösterilememiştir (150). Keminks ve ark.(151) KMY ölçümlerine göre osteopenisi olsun veya olmasın hastalarla kontrol grubu arasında serum BALP ve OC seviyelerinde anlamlı farklılık bulunamamıştır. Bu çalışmaya göre KMY değerleri hiçbir kemik yapım ve yıkım markırı ile ilişkili değildir. Bizim çalışmamızda da serum BALP, serum  $\beta$ - CrossLaps ve idrar DPD, düzeyleri diyabetli hastalar ve kontrol grubu arasında farklı değildi.

Çakatay ve ark.(152) nın çalışmasında DPD düzeyleri kontrol grubu ve diyabetlilerde önemli şekilde farklı değildi. Bu da tip 2 diyabetlilerde kemik döngüsü esnasında yıkım fazının değişmeden kaldığını gösterir. Bizim çalışmamızda da DPD düzeyleri diyabetik hastalarla kontroller karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Dennison ve ark.(153) yaptıkları çalışmada tip 2 diyabetli ve bozulmuş glukoz toleransı olan hastalar arasındaki karşılaştırmada glukoz metabolizmasındaki değişikliklerin OC ve CTX düzeyleri üzerinde farklılığa yol açmadığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda kemik yıkım markırı olarak kullandığımız  $\beta$  CTX her iki grupta farklı değildi. C terminal telopeptidlerin serumda ölçülmesi osteoporozda veya diğer kemik hastalıklarında uygulanan antirezorbtif tedavinin etkinliğini izlemek için önerilmiştir (77). Antirezorbtif tedavi uygulandıktan sonra düzeylerin karşılaştırılması anlamlı değişiklikler gösterebilir.

Çalışmamızda OC sonuçları diyabetli hasta grubunda sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulundu. Horiuchi ve ark.(154)nın yaptıkları çalışmada tip 2 diyabetli hastalarda osteoporotik olan ve olmayanlar arasında OC düzeyleri farklı olmamasına karşın karboksillenmemiş osteokalsin (ucOC) düzeyleri farklı bulunmuştur. Osteoporotik diyabetlilerde ucOC düzeyleri osteoporotik olmayanlardan daha yüksekti. Bu da bize ucOC düzeylerinin daha fazla yol gösterici olacağını düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda KMY ölçümlerine göre tip 2 diyabetlilerde sağlıklı kontroller arasında osteoporoz rastlanma sıklığı açısından bir fark bulunamamıştır. Kemik döngüsünün biyokimyasal markırları açısından incelendiğinde OC dışındaki markırlarda bir farklılık bulunamamıştır. Kemik döngüsündeki değişikliklerin mekanizmalarını açıklamak için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

## **6. SONUÇ**

Sonuç olarak bizim verilerimize göre osteoporoz tip 2 diyabetin bir komplikasyonu olarak düşünülmemelidir. Tip 2 ye göre tip 1 diyabetliler sekonder osteoporoz riskine daha açıktırlar. Tip 2 diyabetlilerde kemik döngüsünün biyokimyasal markırlarında hızlı kemik döngüsünü

düşündürecek değişiklikler gözlenmemiştir. Tip 2 diyabetlilerde KMY ölçümlerine göre de osteoporoz gözlenmemesi tip 2 diyabetin osteoporoz açısından ek bir risk oluşturmadığını düşündürmektedir.

Yaşlılıkta ve tip 2 diyabette kemik döngüsündeki değişiklikleri açıklamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

### ***KAYNAKLAR***

1- Mauck KF, Clarke BL. Diagnosis, Screening, Prevention, and Treatment of Osteoporosis. Mayo Clin Proc. 2006; 81(5): 662–672.



- 2- National Osteoporosis Foundation. Osteoporosis Disease Statistics: “Fast Facts.” Available at: [www.nof.org/osteoporosis/diseasefacts.htm](http://www.nof.org/osteoporosis/diseasefacts.htm). Accessed March 21,2006.
- 3- Consensus Development Conference: Diagnosis Prophylaxis and Treatment of Osteoporosis. *Am. J. Med.* 1993;94: 646–650.
- 4- Eryavuz-SaridoğanM. Osteoporozun tanımı ve sınıflandırması. Kutsal YG (ed). Osteoporoz (Modern Tıp Seminerleri 19). Ankara. Güneş Kitabevi. 2001: 1–4
- 5- Rodan GA. Introduction bone biology. *Bone* 1992;13: 3–6.
- 6- Bork P. The modular architecture of vertebrate collagens. *FEBS Lett* 1992;307(1):49–54.
- 7- Seibel MJ. Bone metabolism. In Offermans S, Rosenthal W (eds.). *Encyclopaedic Reference of Molecular Pharmacology*: Springer Heidelberg, New York 2003. 457–65.
- 8- Garnero P, Delmas PD. Measurement of biochemical markers: methods and limitations. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. *Principles of bone biology*. San Diego: Academic Pres, 1996: 1277–91.
- 9- Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr Rev* 1992;13(1): 66–80.
- 10- Chatterjee D, Chakraborty M, Leit M, Jasma-Kellokumpa S., Fuchs R. and Baron R. Sensitivity to vanadate and isoforms of subunits A and B distinguish the osteoclast proton pump from other vacuolar H ATPases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6257–61.
- 11- Bell NH, Key LL Jr.Acquired osteomalacia. *Curr Ther Endocrinol Metab.* 1994;5: 495–9.
- 12- Canalis E, McCarthy TL, Centrella M. Growth factors and cytokines in bone cell metabolism. *Annu Rev Med* 1991;42: 17–24.
- 13- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic*. Fourth Edition. 2006;49: 1912–20.

- 14- Carda C, Silvestrini G, Gomez de Ferraris ME, Peydro A, Bonucci E. Osteoprotegerin(OPG) and RANKL expression and distribution in developing human craniomandibular joint. *Tissue and Cell*. 2005;37(3): 247–255.
- 15- Linkhart TA, Mohan S. Parathyroid hormone stimulates release of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II from neonatal mouse calvaria in organ culture. *Endocrinology*. 1989; 125(3): 1484–91.
- 16- Bowler WB, Gallagher JA, Bilbe G. G-protein coupled receptors in bone. *Front Biosci*. 1998;1(3): 769–80.
- 17- Shen Y, Li M, Wronski TJ. Calcitonin provides complete protection against cancellous bone loss in the femoral neck of ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*. 1997; 60(5): 457–61.
- 18- Simon LS. Osteoporosis. *Clin Geriatr Med*. 2005; 21(3): 603–629
- 19- Lappa V, Dontas IA, Trovas G, Constantelou E, Galanos A, Lyritis GP. Quantitative ultrasound is better correlated with bone mineral density and biochemical bone markers in elderly women. *Clin Rheumatol*. 2006;(epub ahead of print).
- 20- Chailurkit LO, Ongphiphadhanakul B, Piaseu N, Saetung S, Rajatanavin R. Biochemical markers of bone turnover and response of bone mineral density to intervention in early postmenopausal women: An experience in a clinical laboratory. *Clin Chem*. 2001;47(6): 1083–8.
- 21- Seibel MJ. Clinical application of biochemical markers of bone turnover. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006; 50 (4): 603–20.
- 22- Kim SW, Park DJ, Park KS, Kim SY, Cho BY, Lee HK, Shin CS. Early changes in biochemical markers of bone turnover predict bone mineral density response to antiresorptive therapy in Korean postmenopausal women with osteoporosis. *Endocr J*. 2005;52(6): 667–74.
- 23- Bonnick SL, Shulman L. Monitoring osteoporosis therapy: bone mineral density, bone turnover markers, or both? *Am J Med* 2006; 119 (4)1: 25–31.

- 24- Emerk K. Bone markers and osteoporosis. *Jugoslav Med. Biochem.* 2004;23: 221–228.
- 25- Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2000; (11)6: 2–17 © 2000 International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation.
- 26- Tüzün F, Akarırmak Ü, Dinç A: Kemik Döngüsünün Değerlendirilmesinde Biyokimyasal Belirteçler. In *Kemik ve Eklem Dekadında Osteoporoz* Tüzün F, Akarırmak Ü, Dinç A, Eds. İstanbul, 2002.
- 27- Fatayerji D, Eastell R. Age-related changes in bone turnover in men. *J Bone Miner Res* 1999;14(7):1203–10.
- 28- Khosla S, Atkinson EJ, Melton LJ 3rd, Riggs BL. Effects of age and estrogen status on serum parathyroid hormone levels and biochemical markers of bone turnover in women: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(5): 1522–7.
- 29- Henry YM., Eastell R. Ethnic and gender differences in bone mineral density and bone turnover in young adults: Effect on bone size. *Osteoporos Int.*2000;11(6): 512–7.
- 30- Ingle BM, Hay SM, Bottjer HM, Eastell R. Changes in bone mass and bone turnover following distal forearm fracture. *Osteoporos Int* 1999;10: 399–407.
- 31- Yasumizu T. Kato J. Concentrations of serum markers of type I collagen synthesis and degradation and serum osteocalcin in maternal and umbilical circulation. *Endocr J.* 1996 Apr;43(2): 191–5.
- 32- Naylor KE, Iqbal P, Fledelius C, Fraser RB, Eastell R. The effect of pregnancy on bone density and bone turnover. *J Bone Miner Res* 2000;15(1):129–37.
- 33- Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for monitoring osteoporosis with antiresorptive drugs. *Osteoporos Int* 2000; 11(6): 66–76.
- 34- Duda RJ Jr, O'Brien JF, Katzman JA, Peterson JM, Mann KG, Riggs BL. Concurrent assays of circulating bone Gla-protein and bone alkaline

phosphatase: effects of sex, age and metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66(5): 951–7.

35- Garnero P, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Decreased bone turnover in oral contraceptive users. *Bone*. 1995; 16(5): 499–503.

36- Zerwekh JE, Ruml LA, Gottschalk F, Pak CY. The effects of twelve weeks of bed rest on bone histology, biochemical markers of bone turnover, and calcium homeostasis in eleven normal subject. *J Bone Miner Res*. 1998;13(10): 1594–601.

37- Kim H, Iwasaki K, Miyake T, Shiozawa T, Nozaki S, Yajima K. Changes in bone turnover markers during 14-day 6 degrees head-down bed rest. *J Bone Miner Metab*. 2003;21(5):311–5.

38- Blumsohn A, Herrington K, Hannon RA, Shao P, Eyre DR, Eastell R. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(3): 730–5.

39- Schlemmer A, Hassager C. Acute fasting diminishes the circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption. *Eur J Endocrinol*. 1999;140(4):332–7.

40- Zitterman A, Schwarz I, Scheld K, Sudhop T, Berthold HK, von Bergman K, van der Ven H, Stehle P. Physiologic fluctuations of serum estradiol levels influence biochemical markers of bone resorption in young women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(1): 95–101.

41- Woitge HW, Scheidt-Nave C, Kissling C, Leidig-Bruckner G, Meyer K, Grauer A, Scharla SH, Ziegler R, Seibel MJ. Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: result of a population based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(1): 68–75.

42- Thorsen K, Kristofferson A, Lorentzon R. The effect of brisk walking on markers of bone and calcium metabolism in postmenopausal women; *Calcif Tissue Int*. 1996;58: 221–225.

- 43- Garnero P, Delmas PD. Variability and response of urinary resorption markers to hormone replacement therapy. *J Bone Miner Res.*1999;14(3): 470–2.
- 44- Harris H. The human alkaline phosphatase: what we know and we don't know. *Clin Chim Acta.* 1990; 186(2): 133–50.
- 45- Price CP. Multiple forms of human serum alkaline phosphatase: detection and quantitation. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 355–72.
- 46- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic.* Fourth Edition. 2006;21: 607–611.
- 47- Delmas PD. :Biochemical markers of bone turnover I: Theoretical considerations and clinical use in osteoporosis. *Am J Med,* 1993; 30; 95(5A):11-16.
- 48- Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover part I: Biochemistry and Variability. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(4): 97–122.
- 49- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic.* Fourth Edition. 2006;49: 1940–41.
- 50- Broyles DL, Nielsen RG, Bussett EM, Lu Wd, Mizrahi IA, Nunnely PA, Ngo TA, Noell J, Christenson RH, Kress BC. Analytical and clinical performance and characteristics of Tandem-MP Ostase, a new immunoassay for serum bone alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1998;44(10): 2139–47.
- 51- Garnero P, Delmas PD. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77(4): 1046–53.
- 52- Kress BC. Bone alkaline phosphatase: methods of quantitation and clinical utility. *J Clin Ligand Assay* 1998;21: 139–48.
- 53- Calvo MS, Eyre DR, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endoc Rev.*1996;17(4): 333–68.
- 54- Gundberg CM. Osteocalcin. In: Eastell R, Baumann M, Hoyle NR, Wiczorek L. EDS. *Bone Markers: Biochemical and clinical perspectives.* London: Martin Dunitz 2001: 65–72.

- 55- Gundberg CM. Biochemical markers of bone formation. *Clin Lab Med* 2000;20(3): 489–501.
- 56- Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP, editors. Dynamics of bone and cartilage metabolism. San Diego: Academic Pres. 1999; 43–58.
- 57- R. Swaminathan Biochemical markers of bone turnover. *Clin Chim Acta*. 2001; 313(1-2): 95–105
- 58- Power MJ, Fottrell PF. Osteocalcin: diagnostic methods and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1991;28(4): 287–335.
- 59- Yasui T, Uemura H, Tomita J, Miyatani Y, Yamada M, Miura M, Irahara M. Association of serum undercarboxylated osteocalcin with serum estradiol in pre-, peri- and early post-menopausal women. *J Endocrinol Invest*, 2006;29(10): 913–8.
- 60- Rix M, Andreassen H, Eskildsen P, Langdahl B, Olgaard K. Bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in patients with predialysis chronic renal failure *Kidney Int*.1999; 56(3): 1084–93.
- 61- Tracy RP, Andrianorivo A, Riggs BL, Mann KG. Comparison of monoclonal and polyclonal antibody-based immunoassays for osteocalcin: a study of sources of variation in assay results. *J Bone Miner Res* 1990; 5(5): 451–61.
- 62- Garnero P, Grimaux M, Seguin P, Delmas P. Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin in vivo and in vitro. *J Bone Miner Res* 1994;9(2): 255–64.
- 63- Blumsohn A, Hannon R, Eastell R. Apparent instability of osteocalcin in serum as measured with different commercially available immunoassays. *Clin Chem* 1995; 41(2): 318–9.
- 64- Rossert J, de Crombrughe B. Type I collagen. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. Principles of bone biology, 2nd ed, Vol. 1. San Diego: Academic Press, 2002: 189–210.

- 65- Robins SP, Brady JD. Collagen cross-linking and metabolism. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. Principles of bone biology, 2nd ed, Vol. 1. San Diego: Academic Press, 2002: 211–23.
- 66- Bettica P, Moro L, Robins SP, Taylor AK, Talbot J, Singer FR, Baylink DJ. Bone resorption markers galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks, and hydroxyproline compared. *Clin Chem* 1992; 38(11): 2313–18.
- 67- James IT, Walne AJ, Perrett D. The measurement of pyridinium crosslink: a methodological overview. *Ann Clin Biochem* 1996; 33: 397–420.
- 68- Alvarez L, Guanabens N, Peris P, Monegal A, Bedini JL, Deulofeu R, Martinez de Osaba MJ, Munoz-Gomez J, Rivera-Fillat F, Ballesta AM. Discriminative value of biochemical markers of bone turnover in assessing Paget's disease. *J Bone Miner Res.*1995; 10(3): 458–65.
- 69- Blumsohn A, Naylor KE, Assiri AM, Eastell R. Different responses of biochemical markers of bone resorption to bisphosphonate therapy in Paget's disease. *Clin Chem* 1995;41(11): 1592–8.
- 70- Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1991;6(6): 639–44.
- 71- Ebeling PR, Atley LM, Guthrie JR, Burger HG, Dennerstein L, Hopper JL. Bone turnover markers and bone density across the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(9): 3366–71.
- 72- Garnero P, Gineyts E, Arbault P, Christiansen C, Delmas PD. Different effects of biphosphonate and estrogen therapy on free and peptide-bound bone crosslinks excretion. *J Bone Miner Res* 1995; 10(4): 641–9.
- 73- Cloos PA, Fledelius C. Collagen fragments in urine derived from bone resorption are highly racemized and isomerized: a biological clock of protein aging with clinical potential. *J Biochem* 2000;345: 473–480.
- 74- Fledelius C, Johnsen AH, Cloos PA, Bonde M, Qvist P. Characterization of urinary degradation products derived from type I collagen. *J Biol Chem* 1997; 272(15): 9755–63.

- 75- Cloos PA, Fledelius C, Christgau S, Christiansen C, Engsig M, Delmas P, Body JJ, Garnero P. Investigation of bone disease using isomerized and racemized fragments of type I collagen. *Calcif Tissue Int*, 2003; 72(1): 8–17.
- 76- Cloos PA, Lyubimova N, Solberg H, Qvist P, Christiansen C, Byrjalsen I, Christgau S. An immunoassay for measuring fragments of newly synthesized collagen type I produced during metastatic invasion of bone. *Clin Lab*. 2004;50(5-6): 279–289.
- 77- Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Applications of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (crosslaps): follow-up on hormone replacement therapy and osteoporosis risk assesment. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995; 80(3): 864–868.
- 78- Bonde M, Garnero P, Fledelius C, Qvist P, Delmas PD, Christiansen C. Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the C-telopeptide of type I collagen. *J Bone Miner Res*. 1997; 12(7): 1028–34.
- 79- Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, Herling C, Qvist P, Christiansen C. Clinical evaluation of the serum crosslaps one step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone derived degradation products from type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem*. 1998; 44(11): 2290–300.
- 80- Gökçe KY: Osteoporozda Görüntüleme Yöntemleri ve Histomorfometre. In: Osteoporoz. Gökçe Kutsal Y, Ed. İstanbul, 1998; 81–103.
- 81- Gökçe KY: Görüntüleme Yöntemleri. In: Osteoporozda Kemik Kalitesi. Gökçe Kutsal Y, Ed. Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti. 2004; 193–211.
- 82- Watts NB. T-scores and osteoporosis. *Menopause Med*. 2002;10: 1–4.
- 83- WHO. Assesment of osteoporotik fracture risk and its role in screening for postmenopausal osteoporosis. WHO Technical report. 1994. Geneva.
- 84- Faulkner KG. The tale of the T-score: review and perspective. *Osteoporos Int*. 2005;16(4):347–52.



- 85-The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26: 3160–3167.
- 86- The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20: 1183–1197.
- 87- 2006 by the American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2006;29(S1): 43–48.
- 88- Powers AC. Diabetes Mellitus. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 16th ed. USA: McGraw Hill, 2005; 2152–80.
- 89-Altuntaş Y. Diabetes Mellitus'un tanımı, tanısı ve sınıflaması. In: Yenigün M, Altuntaş Y,ed. *Her yönüyle diabetes mellitus*. 2. baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi.2001; 51–62.
- 90- Rozadilla A, Nolla JM, Montana E, Fiter J, Gomez-Vaquero C, Soler J, Roig-Escofet D. Bone mineral density in patients with type 1 diabetes mellitus. *Joint Bone Spine*. 2000; 67(3): 215–8.
- 91- Campos Pastor MM, Lopez-Ibarra PJ, Escobar-Jimenez F, Serrano Pardo MD, Garcia-Cervigon AG. Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus: a prospective study. *Osteoporos Int*. 2000;11(5): 455–9.
- 92- Isaia G, Bodrato L, Carlevatto V, Mussetta M, Salamano G, Molinotti GM. Osteoporosis in type II diabetes. *Acta Diabetol Lat*. 1987;24(4): 305–10.
- 93- Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D. Does hyperinsulinemia preserve bone? *Diabetes Care*.1996;19(12): 1388–92.
- 94- Tuominen JT, Impivaara O, Puukka P, Ronnema T. Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*.1999;22: 1196–200.

- 95- Leidig-Bruckner G, Ziegler R: Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2001;109 (2): 493–514.
- 96- Biberoglu S: Sekonder Osteoporoz. In *Osteoporoz* Gökçe Kutsal Y, Ed. İstanbul, 1998; 56–72.
- 97- Glauber HS, Vollmer WM, Nevitt MC, Ensrud KE, Orwoll ES. Body weight versus body fat distribution, adiposity and frame size as predictors of bone density. *J Clin Endocrinol Metab*.1995; 80(4): 1118–23.
- 98- Stolk RP, Van Daele PL, Pols HA, Burger H, Hofman A, Birkenhager JC; Lamberts SW, Grobbee DE. Hyperinsulinemia and bone mineral density in elderly population: The Rotterdam Study. *Bone*.1996; 18(6): 545–9.
- 99- Achemlal L, Tellal S, Rkiouak F, Nouijai A, Bezza A, Derouiche el M, Ghafir D, El Maghraoui A. Bone metabolism in male patients with type 2 diabetes. *Clin Rheumatol*. 2005; 24(5): 493–6.
- 100- Okazaki R, Totsuka Y, Hamano K, Ajima M, Miura M, Hirota Y, Hata K, Fukumoto S, Matsumoto T: Metabolic improvement of poorly controlled noninsulin-dependent diabetes mellitus decreases bone turnover. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(9): 2915–20.
- 101- Yasuda S, Wada S. Bone metabolic markers and osteoporosis associated with diabetes mellitus. *Clin Calcium*. 2001;11(7): 879–83.
- 102- Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts and prospects. *J Clin Invest*. 2005;115(12): 3318–25.
- 103- Akın O, Göl K, Aktürk M, Erkaya S. Evaluation of bone turnover in postmenopausal patients with type 2 diabetes mellitus using biochemical markers and bone mineral density measurements. *Gynecol Endocrinol* 2003;17(1): 19–29.
- 104- Sindel D. Tanı Yöntemleri. Kutsal YG (ed). *Osteoporoz*. HBY. 2002; 2(1): 17–29.

- 105- Delaney MF, LeBoff MS. Metabolic bone diseases. In: Ruddy S, Harris EDJr, Sledge CB editors. *Kelley's Textbook of Rheumatology*, Philadelphia WB Saunders. 2001; 1635–52.
- 106- Pagani F, Francucci CM, Moro L. Markers of bone turnover: biochemical and clinical perspectives. *J Endocrinol Invest*. 2005; 28(10): 8–13.
- 107- Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem*. 2000; 37: 432–46.
- 108- Nicodemus KK, Folsom AR. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. *Diabetes Care*. 2001; 24(7): 1192–7.
- 109- Forsen L, Meyer HE, Midthjell K, Edna TH. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: Results from the Nord-Trondelag Health Survey. *Diabetologia*. 1999; 42(8): 920–925.
- 110- Isaia GC, Ardisson P, Di Stefano M, Ferrari D, Martina V, Porta M, Tagliabue M, Molinatti GM. Bone metabolism in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 1999; 36(1–2): 35–8.
- 111- Gerdhem P, Isaksson A, Akesson K, Obrant KJ. Increased bone density and decreased bone turnover, but no evident alteration of fracture susceptibility in elderly women with diabetes mellitus. *Osteoporos Int*. 2005;16(12):1506–12.
- 112- Van Daele PL, Stolk RP, Burger H, Algra D, Grobbee DE, Hofman A, Birkenhager JC, Pols HA. Bone density in non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Rotterdam Study. *Ann Intern Med*. 1995; 122(6): 409–414.
- 113- Gregorio F, Cristallini S, Santeusano F, Filippini P, Fumelli P. Osteopenia associated with non-insulin-dependent diabetes mellitus: what are the causes? *Diabetes Res Clin Pract*. 1994;23(1); 43–54.
- 114- Kwon DJ, Kim JH, Chung KW, Kim JH, Lee JW, Kim SP, Lee HY. Bone mineral density of the spine using dual energy X-ray absorptiometry in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol Res* 1996;22(2): 157–62.

- 115- Bridges MJ, Moochhala SH, Barbour J, Kelly CA. Influence of diabetes on peripheral bone mineral density in men: a controlled study. *Acta Diabetol* 2005;42(2): 82–6.
- 116- Al-Elq AH, Sadat-Ali M. Diabetes mellitus and male osteoporosis. Is there a relationship? *Saudi Med J*. 2006;27(11): 1729–33.
- 117- Cutrim DM, Pereira FA, de Paula FJ, Foss MC. Lack of relationship between glycemic control and bone mineral density in type 2 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res*. 2007; 40(2): 221–7.
- 118- Hampson G, Evans C, Petitt RJ, Evans WD, Woodhead SJ, Peters JR, Ralston SH. Bone mineral density collagen type 1 alpha 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1998; 41(11): 1314–20.
- 119- Tüzün F. Osteoporozu genel bakış. Tüzün F(ed). *Kemik ve eklem dekadında osteoporoz ve kemik kalitesi*. İstanbul 2003; 1–12.
- 120- Buysschaert M, Cauwe F, Jamart J, Brichant C, De Coster P, Magnan A. Proximal femur density in type 1 and 2 diabetic patients. *Diabete Metab*. 1992; 18(1): 32–37.
- 121- Jehle PM, Jehle DR, Mohan S, Bohm BO. Serum levels of insulin-like growth factor system components and relationship to bone metabolism in type 1 and type 2 diabetes mellitus patients. *J Endocrinol*. 1998; 159(2): 297–306.
- 122- Campos Pastor MM, Lopez-Ibarra PJ, Escobar-Jimenez F, Serrano Pardo MD, Garcia-Cervigon AG. Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus: a prospective study. *Osteoporos Int* 2000; 11(5): 455–9.
- 123- Rix M, Andreassen H, Eskildsen P. Impact of peripheral neuropathy on bone density in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22(5): 827–31.
- 124- Rachon D, Mysliwska J, Suchecka-Rachon K, Semetkowska-Jurkiewicz B, Zorena K, Lysiak-Szydlowska W. Serum interleukin–6 levels and bone mineral

density at the femoral neck in post-menopausal women with type 1 diabetes. *Diabet Med.* 2003;20(6): 475–480.

125- McNair P, Madsbad S, Christiansen C, Christensen MS, Faber OK, Binder C, Transbol I. Bone loss in diabetes: effects of metabolic state. *Diabetologia.* 1979; 17: 283–6.

126- Monnier L, Colette C, Aguirre L, Sany C, Mirourze J. Intestinal and renal handling of calcium in human diabetes mellitus: influence of acute oral glucose loading and diabetic control. *Eur J Clin Invest.* 1978; 8(4): 225–31.

127- McNair P, Madsbad S, Christensen MS, Christiansen C, Faber OK, Binder C, Transbol I. Bone mineral loss in insulin-treated diabetes mellitus: studies on pathogenesis. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1979; 90(3): 463–72.

128- Cortizo AM, Lee PD, Cedola NV, Jasper H, Gagliardino JJ. Relationship between non enzymatic glycosylation and changes in serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein-3 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 1998; 35(2): 85–90.

129- Frystyk J, Skjaerbaek J, Vestbo E, Fisker S, Orskov H. Circulating levels of free insulin-like growth factors in obese subjects: the impact of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 1999; 15: 314–22.

130- Okazaki R, Totsuka Y, Hamano K, Ajima M, Miura M, Hiroto Y, Hata K, Fukumoto S, Matsumoto T. Metabolic improvement of poorly controlled noninsulin-dependent diabetes mellitus decreases bone turnover. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(9): 2915–20.

131- Stein GS, Lian JB. Molecular mechanism mediating proliferation/differentiation interrelationship during progressive development of the osteoblast phenotype. *Endocr Rev.* 1993; 14(4): 424–42.

132- Gundberg CM, Anderson M, Dickson I, Gallop PM. “Glycated” osteocalcin in human and bovine bone. The effect of age. *J Biol Chem.* 1986; 261(31): 14557–61.

- 133- Takagi M, Kasayama S, Yamamoto T, Motomura T, Hashimoto K, Yamamoto H, Sato B, Okada S, Kishimoto T. Advanced glycation endproducts stimulate interleukin-6 production by human bone-derived cells. *J Bone Miner Res.* 1997;12(3): 439–46.
- 134- Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med.* 1988; 318: 1315–21.
- 135- Wang X, Shen X, Li X, Agrawal CM. Age-related changes in the collagen network and toughness of bone. *Bone.* 2002; 31(1): 1–7.
- 136- Vashishth D, Gibson GJ, Khoury JI, Schaffler MB, Kimura J, Fyhrie DP. Influence of nonenzymatic glycation on biomechanical properties of cortical bone. *Bone.* 2001; 28(2): 195–201.
- 137- Katayama Y, Akatsu T, Yamamoto M, Kugai N, Nagata N. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia. *J Bone Miner Res.* 1996; 11(7): 931–7.
- 138- Miyata T, Notoya K, Yoshida K, Horie K, Maeda K, Kurokawa K, Taketomi S. Advanced glycation end products enhance osteoclast-induced bone resorption in cultured mouse unfractionated bone cells and in rats implanted subcutaneously with devitalized bone particles. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(2): 260–70.
- 138- McCarthy AD, Etcheverry SB, Cortizo AM. Advanced glycation endproduct-specific receptors in rat and mouse osteoblast-like cells: regulation with stages of differentiation. *Acta Diabetol.* 1999; 36(1–2): 45–52.
- 140- Schwartz AV. Diabetes mellitus: does it affect bone? *Calcif Tissue Int.* 2003; 73(6): 515–519.
- 141- Yendt ER, Cohan M, Jarzylo S, Jones G, Rosenberg G. Reduced creatinine clearance in primary osteoporosis in women. *J Bone Miner Res.* 1993; 8(9): 1045–52.

- 142- Stolk RP, van Daele PL, Pols HA, Burger H, Hofman A, Birkenhager JC, Lamberts SW, Grobbee DE. Hyperinsulinemia and bone mineral density in an elderly population: The Rotterdam Study. *Bone*. 1996; 18(6): 545–9.
- 143- Bouillon R. Diabetic bone disease. *Calcif Tissue Int*. 1991; 49(3): 155–160.
- 144- Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 1995;332(5): 305–11.
- 145- Leidig-Bruckner G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2001; 109: 493–514.
- 146- Ziegler R. Diabetes mellitus and bone metabolism. *Horm Metab Res Suppl*. 1992; 26: 90–4.
- 147- Inzerillo AM, Epstein S. Osteoporosis and diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord*. 2004; 5(3): 261–8.
- 148- Piepkorn B, Kann P, Forst T, Andreas J, Pfutzner A, Beyer J. Bone mineral density and bone metabolism in diabetes mellitus. *Horm Metab Res*. 1997;29(11):584–91.
- 149- Papakitsou EF, Margios AN, Dretakis KE, Trovas G, Zoras U, Lyritis G, Dretakis EK, Stergiopoulos K. Body mass index(BMI) and parameters of bone formation and resorption in postmenopausal women. *Maturitas*. 2004; 47(3): 185–93.
- 150- Ilic J, Kovacev B. Diabetic osteopathy. *Med Pregl*. 2005; 58(3–4): 147–52.
- 151- Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, Lutterman JA, Smals AG. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology. *J Endocrinol Invest*. 2000; 23(5): 295–303.
- 152- Cakatay U, Telci A, Kayalı R, Akcay T, Sivas A, Aral F. Changes in bone turnover on deoxypyridinoline levels in diabetic patients. *Diabet Res Clin Pract*. 1998; 40(2): 75–9.

153- Dennison EM, Syddall HE, Aihie Sayer A, Craighead S, Phillips DI, Cooper C. Type 2 diabetes mellitus is associated with increased axial bone density in men and women from the Hertfordshire Cohort Study: evidence for an indirect effect of insulin resistance? *Diabetologia*. 2004; 47(11): 1963–8.

154- Horiuchi T, Kazama H, Araki A, Inoue J, Hosui T, Onouchi T, Mizuno S, Ito H, Orimo H. Impaired gamma carboxylation of osteocalcin in elderly women with type II diabetes mellitus: relationship between increase in undercarboxylated osteocalcin levels and low bone mineral density. *J Bone Miner Metab*. 2004; 22(3): 236–40.