

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MENOPOZ SONRASI KADINLARDA, OSTEOKALSİN, ÖSTROJEN
RESEPTÖR, KOLLAJEN1-A1 VE KALSİTONİN RESEPTÖR
GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİN OSTEOPOROZ İLE İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Şengül TURAL

**Samsun
Ocak-2011**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MENOPOZ SONRASI KADINLARDA, OSTEOKALSİN,
ÖSTROJEN RESEPTÖR, KOLLAJEN1-A1 VE KALSİTONİN
RESEPTÖR GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİN
OSTEOPOROZ İLE İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Şengül TURAL

Danışman: Doç. Dr. Nurten KARA

Samsun
Ocak-2011

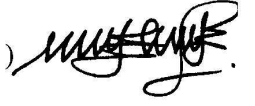
T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Hasan BAĞCI (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi)



Üye : Prof. Dr. Mehmet ELBİSTAN(Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi)



Üye : Doç. Dr. Gamze ALAYLI (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi)



Üye : Doç. Dr. Fahri UÇAR (Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi)



Üye : Doç. Dr. Nurten KARA (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi)



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof.Dr.Süleyman KAPLAN
Enstitü Müdürü

Tezin Adı: Menopoz Sonrası Kadınlarda, Osteokalsin, Östrojen Reseptör, Kollajen-1A1 ve Kalsitonin Reseptör Genlerindeki Polimorfizmlerin Osteoporoz İle İlişkisi

Tezi Teslim Eden: Şengül TURAL

Tez Savunma Sınav Tarihi: 11.02.2011

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Nurten KARA

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile beni yetiştiren, bu tezin gerçekleştirilmesinde, başlangıcından sonuna kadar karşılaştığım problemlerin çözümünde ve her konuda bana yardım ve desteğini büyük özveriyle gösteren çok değerli danışman hocam Doç.Dr. Nurten Kara'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımnda çalışma grubunun oluşturulmasında yardım ve desteğini özveriyle sağlayan hocam Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Gamze Alaylı'ya, yardımlarından dolayı Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Yeşim Akyol'a, ayrıca Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı asistanlarına ve tez çalışmalarımın istatistiksel analizinde yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç.Dr. Leman Tomak'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresi boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr.Hasan Bağcı'ya, yine doktora eğitimim süresi boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Tıbbi Genetik Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gülsen Ökten'e çok teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Mehmet ELBİSTAN'a, Yrd. Doç. Dr Sezgin Güneş'e ve tez çalışmalarım sırasında her türlü yardım ve desteğini gördüğüm Anabilim Dalımız Öğr. Gör. Dr.Nevin Karakuş'a teşekkür ederim. Ayrıca Anabilim Dalımız çalışanlarına teşekkür ederim.

Araştırma Görevlisi kadrosu ile doktora eğitimimde beni destekleyen OMU Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve kurumsal işlemlerimizi yürüten enstitü çalışanlarına teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım sırasında gösterdikleri sonsuz sabır ve desteklerinden dolayı anneme, kayınvalideme ve kardeşim Esra'ya, gösterdiği yardım ve desteği için eşim Ercan'a ve sabırları için kızlarım İpek ve Başak'a çok teşekkür ederim.

Not: Araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (T-593 No'lu Proje).

ABSTRACT

ASSOCIATION OF *OSTEOCALCIN*, *ESTROGEN RECEPTOR1*, *COLLAGEN1-A1* AND *CALCITONIN RECEPTOR* GENE POLIMORPHISMS WITH OSTEOPOROSIS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN

Şengül TURAL, Ph.D. Thesis
Ondokuz Mayıs University Samsun, March 2011

Osteoporosis is a common multifactorial disease characterized with reduced bone mass. The existence of many candidate genes which have effect on bone mass was reported. The purpose of this study was to investigate the relationship between osteoporosis and variants of osteocalcin (*OS*) -298 C>T, estrogen receptor 1 (*ESR1*) 397T>C, collagen type1 alpha 1 (*Col1A1*) 2046G>T and calcitonin receptor (*CALCR*) 1340T>C. The majority of the Central Black Sea Region, from Samsun and around, 158 postmenopausal women with postmenopausal osteoporosis in female patients and 108 healthy control subjects were studied. The DNA sample isolated from peripheral bloods of patients and controls by salting-out method and analyzed by the technics of PCR and RFLP.

ESR1 CC genotype compared with TT + TC genotypes were found to increase two fold the risk of osteoporosis. [p= 0,039 OR=2,156 %95CI (1,083-4,293)]. *CALCR* CC genotype compared with TT+TC genotypes were found to be protective effect against osteoporosis [p=0,045 OR=0,471 %95CI (0,237-0,9372)]. There was no statistically significant difference in the genotype and allele frequencies of patients and controls for *OS* -298 C>T (p= 0,293, p= 0,437, respectively) and *Col1A1* 2046 G>T polymorphisms (p= 0,283, p= 0,491, respectively). In the composite genotype analysis, *ESR1/CALCR* TCCC composite genotype was found to be protective effect against osteoporosis [p= 0,0125 OR=0,323 %95 CI (0,1383-0,755)]. However, *OS/Col1A1* CCTT and *ESR1/CALCR* CCTT composite genotypes were risk factors for osteoporosis (p=0,027, p=0,009).

According to the results of our study, *ESR1* CC genotype and *OS/Col1A1* CCTT, *ESR1/CALCR* CCTT composite genotypes cause a predisposition to osteoporosis. However, CC genotype of *CALCR* gene and *ESR1/CALCR* TCCC composite genotype have a protective effect against osteoporosis. This is the first study carried out in Middle Black Sea region. By enlarging the study population and combining these results, more

explanatory results can be obtained about predisposition of these polymorphic sites to osteoporosis.

ÖZET

MENOPOZ SONRASI KADINLARDA, *OSTEOKALSİN*, *ÖSTROJEN RESEPTÖR*, *KOLLAJEN1-A1* VE *KALSİTONİN RESEPTÖR* GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİN OSTEOPOROZ İLE İLİŞKİSİ

**Şengül TURAL, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Mart 2011**

Osteoporoz; kemik mineral yoğunluğunun azalması ve kemik dokunun mikro yapısının bozulması ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Kemik kütesini etkileyen bazı aday genlerin varlığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada *Osteokalsin (OS)*, *Österojen Reseptör Alfa (ESR1)*, *Kollajen Tip1 Alfa 1 (COL1A1)* ve *Kalsitonin Reseptör (CTR)* gen varyantlarının osteoporoz ile ilişkisini incelemeyi amaçladık. Yoğunluğu Orta Karadeniz Bölgesi, Samsun ve çevresinden gelen, menopoz sonrası osteoporozlu 158 kadın hasta ve 108 menopoz sonrası sağlıklı kontrol üzerinde çalışıldı. Yoğun tuz çözeltisinde çöktürme yöntemiyle periferik kandan elde edilen hasta ve kontrol DNA'ları PCR-RFLP yöntemleri uygulanarak elde edilen sonuçlar Ki-kare analizi ile değerlendirildi.

ESR1 geni CC genotipi TT+TC ile karşılaştırıldığında osteoporoz riskini iki kat arttırdığı saptandı [p=0.039 OR=2,156 %95CI (1,083-4,293)]. *CALCR* geni CC genotipi TT+TC ile karşılaştırıldığında osteoporoz için koruyucu olduğu saptandı [p=0,045 OR=0,471 %95CI (0,237-0,9372)]. *OS* -298 C>T ve *COL1A1* 2046 G>T polimorfizmi açısından hasta ve kontrollerin genotip dağılımı ve allel sıklıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (*OS* sırasıyla p=0,293 ve p=0,437, *COL1A1* sırasıyla p=0,283, p=0,491). Yapılan kompozit genotip analizinde, *ESR1/CALCR* TCCC kompozit genotipinin osteoporozla karşı koruyucu etkisinin olduğu saptandı [p=0,0125 OR=0,323 %95 CI (0,1383-0,755)]. Ancak, *OS/COL1A1* CCTT, *ESR1/CALCR* CCTT kompozit genotiplerinin ise osteoporoz için risk oluşturduğu tespit edildi (sırasıyla p=0,027, p=0,009).

Sonuç olarak, çalıştığımız polimorfik genotiplerden *ESR1* geni CC ve kompozit genotiplerden *OS/COL1A1* CCTT ve *ESR1/CALCR* CCTT'nin osteoporozla yakınlığa neden olduğu, buna karşın, *CALCR* geni CC genotipinin ve *ESR1/CALCR* TCCC genotipinin osteoporoz için koruyucu olduğu saptandı. Bu, Orta Karadeniz Bölgesinde yapılan ilk çalışmadır. Çalışma popülasyonunun genişletilmesi ve sonuçların birleştirilmesiyle

polimorfik bölgelerin osteoporozaya yatkınlığı ile ilgili daha açıklayıcı sonuçlar elde edilebilir.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFs	Aktivasyon fonksiyonları
AML	Transkripsiyon Faktörü
AP-1	Aktivatör Protein-1
BGLAP	Kemik gama karboksi glutamat asit proteini
Ca	Kalsiyum
CALCR	Kalsitonin Reseptör
cDNA	Komplementer DNA
CoA	Koaktivatör
Col1A1	Kollajen Tip1 Alfa 1
CoR	Koreseptör
CT	Kalsitonin
CTR	Kalsitonin Reseptör
CYP19	Aromataz Gen
DEXA	Dual Enerji X Ray Absorbsiyometre
DLX/ MSX	Homeodomain Proteinler
ECM	Ekstraselüler matriks
EDTA	Etilen Daimin Tetra Asetik asit
ESR	Östrojen Reseptör Alfa
E2	Estradiol
GH	Büyüme Hormonu
GPCR	G protein coupled receptor
GPR30	G Protein Reseptör 30
GRE	Glikokortikoid
HLH	Heliks Loop Heliks proteini
IGF	Dolaşımdaki büyüme faktörleri
IGF-1beta	Insülin-benzeri Büyüme Faktörü
IL-1	Interlökin
KMY	Kemik Mineral Yoğunluğu
MAPK	Mitojen aktivated protein kinaz-ERK

NO	Nitrik Oksit
OCBP2	Osteoblast-specific Kompleks
OS	Osteokalsin
P	Fosfor
PPAR gama	Peroksizom proliferator-aktive reseptör gama
PTH	Paratiroid Hormon
PI3K	PI3K (Phosphoinositide 3 kinase/AKT
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Uzunluk Polimorfizmi
RXR	Retinoid X Reseptör
SD	Serbestlik Derecesi
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
Sp1	Transkripsiyon Faktörü
TAFs	Transkripsiyon Faktörleri
TGF	Kemik kökenli büyüme faktörü
TGF-beta1	Transforming Büyüme Faktörü
TNF-reseptör	Tümör Nekrosis Faktör Reseptör
TBE	Tris/Borat/EDTA
TFIIB	Transkripsiyon Faktör IIB
TNF-α	Tümör Nekrosis Faktör alfa
VDRE	Vitamin D Responsive Element
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Osteoporozun Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	3
2.2. Osteoporozun Teşhisi ve Sınıflandırılması.....	4
2.2.1 Osteoporoz Tanısında Kullanılan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Kriterleri.....	4
2.2.2 Osteoporoz İçin Farklı Sınıflandırma Yöntemleri.....	5
2.3. Kemiğin Yapısı.....	6
2.4. Kemik Hücreleri.....	8
2.5. Kemik Yapılanması ve Yeniden Yapılanması.....	9
2.5.1 Kemik Formasyon ve Rezorbsiyonunu Etkileyen Faktörler.....	10
2.6. Osteoporozun Etiyolojisi ve Patofizyolojisi.....	11
2.7. Osteoporozun Gelişimindeki Risk Faktörleri.....	12
2.8. Osteoporozun Genetiği.....	15
2.9. Osteoporoz ve SNP'ler.....	18
2.9.1 <i>Osteokalsin</i> Geni ve C-298T Polimorfizmi.....	22
2.9.2 <i>Östrojen Reseptör 1</i> Geni ve T397C Polimorfizmi.....	24
2.9.3 <i>Kollajen Tip1 alfa 1</i> Geni ve G2046T Polimorfizmi.....	30
2.9.4 <i>Kalsitonin Reseptör</i> Geni ve T1340C Polimorfizmi.....	32
2.10 Osteoporozda Tedavi.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1 Hasta Grubu ve Biyolojik Örneklerin Eldesi.....	36
3.2 Kullanılan Kimyasal Materyaller.....	36
3.3 Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler.....	37
3.4. Uygulanan Yöntemler.....	38
3.4.1. Kullanılan Solusyonlar ve Bunların Hazırlanması.....	38
3.4.2. DNA İzolasyonu.....	40
3.4.3. DNA Miktarının Tayini.....	41
3.4.4. <i>OS</i> Geninin PCR-RFLP Yöntemleri ile Genotiplenmesi.....	43

3.4.5. <i>ESRI</i> Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi.....	46
3.4.6. <i>ColIA1</i> Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi.....	49
3.4.7. <i>CALCR</i> Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi.....	53
3.4.7. Agaroz Jelin Hazırlanışı.....	56
3.4.8. Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	56
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	57
4. BULGULAR.....	58
4.1. Çalışma Grubu İle İlgili Demografik Karakterlerin Değerlendirilmesi.....	58
4.2. <i>OS</i> Geni Polimorfizmi.....	59
4.3. <i>ESRI</i> Geni Polimorfizmi.....	60
4.4. <i>ColIA1</i> Geni Polimorfizmi.....	61
4.5. <i>CALCR</i> Geni Polimorfizmi.....	62
4.6. <i>OS, ESRI, ColIA1</i> ve <i>CALCR</i> Gen Polimorfizmleri Kompozit Genotip Analizleri.....	63
5. TARTIŞMA.....	78
5.1. <i>OS</i> Geni -298T>C Polimorfizmi.....	79
5.2. <i>ESRI</i> Geni 397T>C Polimorfizmi.....	80
5.3. <i>ColIA1</i> 2046G>T Polimorfizmi.....	83
5.4. <i>CALCR</i> Geni 1340T>C Polimorfizmi.....	85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
7. KAYNAKLAR.....	90
8. EKLER.....	111
8.1 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formları.....	111
8.2. Etik Kurul Raporları.....	115
9. ÖZGEÇMİŞ.....	118

1. GİRİŞ

Osteoporoz (OMIM166710); kemik kalitesi ve kantitesinin bileşimini yansıtan kemik gücündeki azalmaya bağlı olarak kırık riskinin arttığı iskelet bozukluğudur (Kutsal, 2004). Dünyada 200 milyonu aşkın kadında osteoporoz görülmektedir. Osteoporozun en önemli sağlık sorunu kırık oluşumu olup, bunlardan en önemlisi kalça kırıklarıdır. Özellikle osteoporozla bağlı gelişen kırıklar, önemli maddi ve manevi kayıplara yol açmaktadır. İnsan yaşamının uzaması ve dünya nüfusunun giderek yaşlanması ile osteoporoz ve osteoporozla bağlı gelişen kırıklar, morbidite ve yaşam kalitesi üzerine olan olumsuz etkileri nedeniyle önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Delaney ve Loboff, 2001).

Osteoporoz; oluşumunda genetik faktörler ve çevresel etkilerin birlikte rol oynadığı multifaktöriyel hastalıklar grubuna dahil edilmektedir. Patogenezinde çeşitli çevresel faktörler rol almakla birlikte, genetik risk faktörlerinin de kemik gücünü sağlayan bileşenlerin oluşumunda önemli rol alması bakımından etkin olduğu anlaşılmaktadır (Gennari ve ark., 2002). Çeşitli ikiz (Pocock ve ark., 1987) ve aile çalışmaları (Cummins ve ark., 1995), kemik kütlelerinin oluşumunda genetik faktörlerin etkisinin %85 oranında olduğunu göstermiştir (Peacock ve ark., 2002).

SNP (Single nucleotide polymorphism) belirli bir baz pozisyonunda meydana gelen tek nükleotid değişiklikleridir. Bunlar fizyolojik fonksiyonlara etki ederek bireyler arasında hastalıklara karşı değişik yatkınlık düzeyleri oluştururlar. Osteoporoz ve SNP'ler arasındaki ilişki, çok sayıdaki araştırmaya konu edilmiş ve osteoporozun gelişmesinde bazı SNP'lerin küçük ama anlamlı bir risk artışına sebep olduğu gösterilmiştir. Yapılan araştırmalarda SNP'ler daha çok kanser, diabetes mellitus, alzheimer, migren ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili bulunmuştur. SNP'ler hastalıkların risk profillemesinde, epidemiyolojik çalışma planlanmasında, farmakogenomik ve fizyolojik genomikte, aday gen tayini, haritalamada ve adli tıpta kullanılmaktadır. (http://www.slidefinder.net/s/snp_analizleri_ar%C5%9F_grv_sacide/3951249/p3). Bu polimorfik çeşitlilikler; bireylerin tedaviye olan tepkilerini de belirleyebilmektedir. Çeşitli fonksiyonları etkileyerek osteoporoz oluşumuna yatkınlık oluşturan polimorfik genlerin; gözlemlendiği gen grupları; Kalsitotropik hormon ve reseptörleri; kemik matriks bileşenleri, sitokinler, büyüme faktörleri, cinsiyet hormonları ve reseptörleri, lokal düzenleyiciler ve diğer bazı gen grupları olduğu belirlenmiştir (Gennari ve ark., 2002).

Kemik matriks bileşenlerinden olan Osteokalsinin (OS), gen polimorfizmi çalışmaları sonucunda, osteoporoz ile ilişkilendirildiği anlaşılmıştır. *Osteokalsin* geninin

ürünü (kemik gama karboksi glutamat asit), kemik dokusu için spesifik non-kollajen küçük bir proteindir. Osteoblastlarda sentezlenen osteokalsin, kalsiyum iyonunu kemik matriksine bağlama görevi yapmaktadır. *Osteokalsin* geninde incelemeyi düşündüğümüz polimorfik bölge, *osteokalsin* geninin promotor bölgesinde -298 C>T polimorfizmidir (Chen ve ark., 2001). *Osteokalsin* geninin promotor bölgesinde görülen -298 C>T polimorfizmi, yapılan çalışmalarda osteoporoz ile ilişkilendirilmiştir (Chen ve ark., 2001). Bu kısım maksimum promotor aktivitesine sahiptir. Promotor bölgesindeki -298T polimorfik allelinin *OS* geninin ekspresyonunu azalttığı ifade edilmiştir (Dohi ve ark., 1998).

Kemik matriks bileşenlerini oluşturan diğer bir gen de *Kollajen Tip1 Alfa1* (*COL1A1*) genidir. *COL1A1* geni, kollajen tip1 alfa1 proteinini oluşturur. Osteoporozla ilişkilendirilen bulunan *COL1A1* geninin intron1 2046G>T polimorfizm bölgesi transkripsiyon faktörü *Sp1*'in bağlanma bölgesidir. Bu Polimorfizm, *Sp1* transkripsiyon faktörünün bağlanma etkinliğini artırarak *COL1A1* transkript düzeyini artırır. Böylece kollajen $\alpha 1$ ürününün kollajen $\alpha 2$ 'ye olan oranını artırır. Artmış kollajen $\alpha 1$ de, anormal homotrimer yapıda kollajen oluşumuna sebep olur. Bu durum, kemik kompozisyonu ve mekanik gücünü olumsuz olarak etkiler (Mann ve ark., 2001).

Lokal düzenleyicilerden *Östrojen Reseptör* (*ESR1*) geni ile ilişkili olarak yapılan çalışmalar, bu genin de osteoporozla ilişkili olduğunu göstermiştir. *ESR1* geni ürünü transmembran protein yapısındaki östrojen hormonudur. Ovaryumdan salgılanan östrojen hormonu, kemiğin kalsiyumu tutmasına yardım eder. Osteoporozla ilişkilendirilen intron 1'deki 397T>C polimorfizm bölgesi (Bandres ve ark, 2005) transkripsiyon faktörü *myb*'nin tanıma noktasıdır. 397T>C polimorfizmi *myb* transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkileyerek, transkripsiyonun azalmasına yol açmaktadır (Gennari ve ark., 2005).

Lokal düzenleyicilerden biri de *Kalsitonin Reseptör* (*CALCR*) genidir. *CALCR* geni kalsitonin reseptör proteinini oluşturmaktadır. *CALCR* geninin ekzon 13'ünde 1340T>C şeklinde gerçekleşen polimorfizm, transmembran proteini intraselüler üçüncü domaininde Lösin→Prolin (Leu447Pro) değişimine yol açarak, kalsitonin reseptörünün sekonder yapısını değiştirmekte ve böylece reseptörünün biyolojik aktivitesini değiştirmektedir (Taboulet ve ark., 1998).

Orta Karadeniz Bölgesi, Samsun ve çevresinde ilk kez yapılan bu çalışmada, menopoz sonrası osteoporozlu hastalar, osteoporozu olmayan sağlıklı kadın kontrollerle karşılaştırılarak, *Osteokalsin*, *Östrojen Reseptör alfa*, *Kollajen Tip 1 alfa 1* ve *Kalsitonin Reseptör* genleri varyantlarının osteoporoz ile ilişkisi incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 OSTEOPOROZUN TANIMI VE EPİDEMİYOLOJİSİ

Osteoporoz; düşük kemik kütlesi ve kemik ince yapısının bozulması sonucu, kemik kırılabilirliğinin ve kırık olasılığının artması ile karakterize sistemik iskelet hastalığı olarak tanımlanırken (Bonner ve ark., 1998; Gür, 2004; Kutsal, 2000), 2000 yılında yapılan Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health: NIH) toplantısında yapılan değerlendirmeden sonra, kemik gücünde azalmaya bağlı olarak kırık riskinin arttığı iskelet bozukluğu şeklinde tanımlanmıştır (Tanakol, 2004).

Multifaktoriyel bir hastalık olan osteoporoz, ileri yaşlarda görülmekte, kadınlarda daha fazla olmakla birlikte, her iki cinsiyeti de etkilemektedir (Pocock ve ark., 1987; Gennari ve ark., 2002). Kadınların %30-50'sinde ve erkeklerin de %15-30'unda görülmektedir (IOF: International Osteoporosis Foundation) (Caliri ve ark., 2007; Pietsch, 2006).

Etnik gruplara göre çok farklılık göstermeyen osteoporozun Beyaz Avrupalılar ve Kuzey Amerikalılarda görülme sıklığı %10-15 iken, Asyalılarda daha yüksektir (Cvijetic ve ark., 2007). Dünyada 200 milyonu aşkın kadında osteoporoz görülmektedir. Osteoporozun en belirgin özelliği kırık oluşumuna sebebiyet vermesidir. Ciddi sağlık sorununa neden olan kırıkların önemlileri kalça kırıklarıdır. Kalça kırıklarının tedavisinde harcanan maliyetin önümüzdeki 25 yılda 2 katına çıkacağı bildirilmektedir (Gennari ve ark., 2002). Osteoporozla ilgili kırık sıklığı beyazlarda siyahlara göre, daha yüksektir (Gennari ve ark., 2002). Beyaz ırkın, yaşlı kadınlarında görülen kalça ve omurga kırıklarının %90'ı, yaşlı erkeklerinde ise %70'i osteoporozdan kaynaklanmaktadır (Melton ve ark., 1997). Genel olarak yaşlılarda görülen kırıkların %75'inden yine osteoporoz sorumlu tutulmaktadır. Günümüz ABD'sinde osteoporozla ilgili yılda 1.3 milyon kırık olmakta ve bunların; 300.000'i kalça kırıkları ve 700.000'i ise omurga kırıklarıdır (Melton, 1995, Melton ve Cooper, 2001). Osteoporozla ilgili vertebra kırığı geçiren kadınların yaklaşık %20'si 1 yıl içinde yeni bir vertebra kırığı geçirmekte ve geçirilen her vertebra kırığı ise kalça kırığı riskini oldukça arttırmaktadır (Lindsay, ve ark., 2001).

Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY)'nin azalması ve kırık riskinin artması arasında kesin bir ilişki vardır. KMY'nin 1 standart sapma (SD) azalması ile, kırık riski 1,5-3 kat artış gösterir (O'Neil ve ark.,1996). Vücut boyutu dikkate alındığında erkeklerin kemikleri bayanlara göre daha iri ve güçlüdür. Bu nedenle, erkeklerde daha az kırık görülmektedir. Kemik gücü sadece KMY'ye bağlı değildir. Kemik boyutu, kalitesi ve diğer bileşenleri

de önemlidir. Osteoporozda kırıklara neden olan en önemli etken KMY olmakla birlikte, kas zayıflığı ile travma da önemli bir yer tutmaktadır (Gennari ve ark., 2002).

Osteoporoz, ömür uzunluğunun artması ile birlikte, halk sağlığı için önemli bir sorun olmuştur (Mohammed, 2000; Melton ve ark., 1997). Nüfus istatistik verilerine göre, önümüzdeki yıllarda ABD’de osteoporozu önleyici önlemler alınmazsa, osteoporoz sıklığında artış ve tedavisinde ise daha fazla bütçe gideri ile karşılaşılacaktır (Norris, 1992).

2.2 OSTEOPOROZUN TEŞHİSİ VE SINIFLANDIRILMASI

1996 yılında Amsterdam’da yapılan Dünya Osteoporoz Kongresinde varılan Konsensusa göre, osteoporozun tanısı, Dual Enerji X Ray Absorbsiyometre (DEXA) kullanılarak elde edilen değerler ve kırık varlığı dikkate alınarak yapılmaktadır (Eryavuz, 1998). Kemiklerin sağlamlığını ölçmek mümkün olmasa da “Kemik mineral yoğunluğunun” ölçülmesi kemik sağlığını %70 oranında yansıtmaktadır. Bu nedenle, kemik mineral yoğunluğu bir tanı parametresi olarak kullanılmaktadır (Hatun, 2002).

Kemik değerlendirmesi; kadın ve erkeklerde T skoru ile yapılmaktadır. Ancak çocuklar ile ve ileri yaştaki kişilerde (65 yaş) Z skoru ile değerlendirme yapılır. Yaşlılarda Z skorda -1 SD azalma, geriye kalan yaşamda kırık riskini iki kat, -2,5 SD azalma ise 4 kat arttırmaktadır. Z skorunun -2 SD altında olduğu durumlarda ise sekonder osteoporoz araştırmaya değer görülür.

T skor: Kemik kütlelerinin genç yetişkin referans popülasyonunun ortalama doruk kemik kütleleri ile kıyaslanmasının standart sapma olarak tanımlanmasıdır (Sindel, 2002).

Z skor: Ölçülen kişinin kemik kütlelerinin yaş ve cinse göre referans değer ile kıyaslanarak standart sapma olarak tanımlanmasıdır (Sindel, 2002).

2.2.1 Osteoporoz tanısında kullanılan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterleri:

Osteoporoz tanısında günümüzde WHO kriterleri kullanılmaktadır.

NORMAL: T skoru genç erişkin ortalamasına göre -1 standart sapmaya kadar olan kemik mineral yoğunluğu değerleri (T skoru > -1).

OSTEOPENİ (Düşük Kemik Kütleli): T skoru genç erişkin ortalamasına göre -1 ve -2,5 standart sapma arasında olan kemik mineral yoğunluğu değerleri (-1 < T skoru < -2,5).

OSTEOPOROZ: T skoru genç erişkin ortalamasına göre -2,5 standart sapma altında olan kemik mineral yoğunluğu değerleri (T skoru < -2,5).

YERLEŞMİŞ OSTEOPOROZ: T skoru genç erişkin ortalamasına göre -2,5 standart sapmanın altında olan kemik mineral yoğunluğu değerleri ve bir veya daha fazla osteoporotik kırık mevcudiyeti (T skoru < -2,5) (WHO: World Health Organization, 1994).

2.2.2. Osteoporoz için farklı sınıflandırma yöntemleri:

Yaşa göre; Jüvenil, erişkin, senil

Lokalizasyona göre; Genel, bölgesel

Tutulan kemik dokuya göre; Trabeküler, kortikal

Histolojik görünümüne göre; Hızlı döngülü (turnoverli), yavaş döngülü

Etiyolojiye göre osteoporoz sınıflaması:

1-Primer osteoporoz

a.İdiyopatik osteoporoz; jüvenil, adult

b.Postmenapozal osteoporoz (Tip 1)

c.Senil osteoporoz (Tip 2)

2-Sekonder osteoporoz

a.Endokrin nedenler: Hipogonadizm, over agenezisi, hipertiroidi, hiperparatiroidi, diabetes mellitus, Cushing Hastalığı

b.Malign nedenler: Multipl miyelom, lösemi, lenfoma, sistemik mastositozis

c.İlaçlar: Heparin, etanol, tiroid hormonu, antikonvülzanlar, steroidler, kemoterapiler

d.Kollajen sentez bozuklukları: Osteogenesis imperfecta, Marfan sendromu,

Ehler-Danlos Sendromu, homosistinüri

e.Hepatik ve gastrointestinal nedenler: Primer biliyer siroz, hemokromatozis
subtotal gastrektomi, malabsorbsiyon

f.Beslenme: Diyetle Ca azlığı, artmış protein tüketimi

g.İmmobilizasyon

h.Romatolojik nedenler: Romatoid artrit, Ankilozan spondilit, vb.

i.Diğer: Alkolizm, skorbüt, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, sigara (Bonner ve ark., 1998; Tüzün, 2003).

Primer osteoporozun en önemli formları Tip 1 ve Tip 2 osteoporoz olup (Tablo.1), bunlara involüsyonel osteoporoz da denilmektedir. Aslında iki tip içiçe girmiştir. Postmenapozal osteoporoz olarak başlayan kemik kaybına, yaşın ilerlemesi ile birlikte, senil osteoporoz da (Tip 2) eklenmektedir (Tanakol, 2004). Bu iki tip yaş, seks, kemiğin tutulma yeri, kemik kırıklarının özelliği, kemik kaybının hızı, olayın fizyopatolojisi yönünden farklılıklar göstermektedir (Kutlu, 1997).

Tablo 1: Tip 1 ve Tip 2 osteoporozun farkları (Yılmaz C., 1997; Tüzün F., 2003)

	Tip 1(postmenopozal)	Tip 2(senil)
Kadın/Erkek	6/2	2/1
Yaş	50-70	75 yaş üstü
Kemik tutulumu	Trabeküler	Kortikal/trabeküler
Kırık lokalizasyonu	Vertebra, distal radius	Kalça, pelvis, tibia
Kemik kayıp hızı	Hızlı	Yavaş
PTH fonksiyonu	Azalmış	Artmış
Kalsiyum emilimi	Azalmış	Azalmış
Patofizyoloji	Rezorbsiyon artmış	Yapım azalmış
Olası etyopatogenez	Östrojen az	Yaşlanma Sekonder hiperparatiroidi
D-vitamini metabolizması	İkincil azalmış	Birincil azalmış

2.3. KEMİĞİN YAPISI

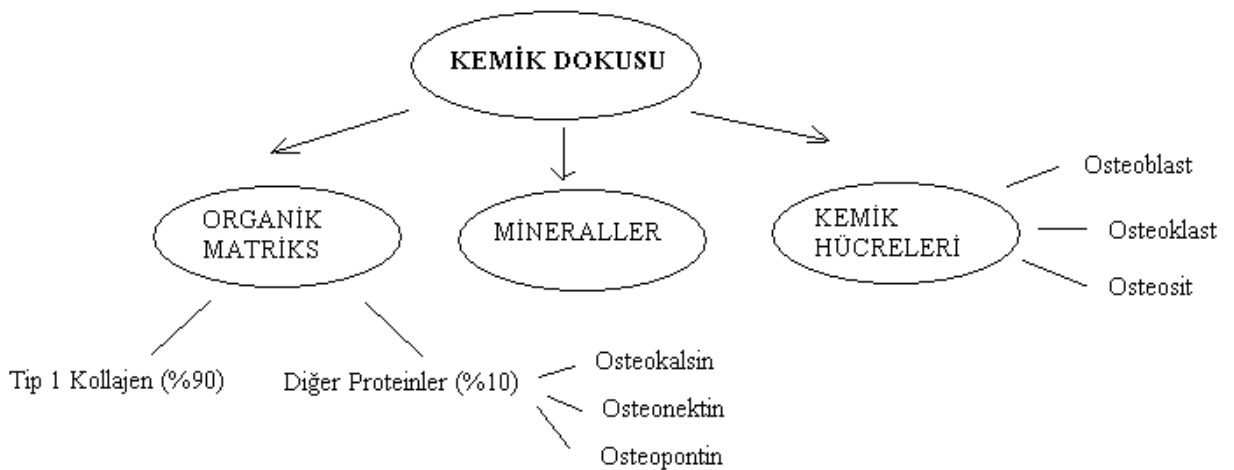
Kemik dokusu; inorganik kemik tuzları içeren, fibröz bir organik matriks içerisinde yer alan hücrelerin oluşturduğu, damar bakımından zengin bir bağ dokusudur (Stevenson ve Marshms, 2000). Hayati organları korumak, kan hücrelerinin kaynağını oluşturan kemik iliğinin çatısını oluşturmak, vücut sıvılarında belli sınırlarda tutulması gereken iyonların kaynağı ve depo yeri olmak, normal postürün sağlanması ve bedensel hareketlerin oluşmasını sağlamak gibi önemli işlevleri vardır (Tüzün, 2003).

Kemikler şekillerine göre uzun, kısa, yassı ve irregüler olarak ayrılır. İntramembranöz ve enkondral olmak üzere iki yolla şekillenir. İntramembranöz kemikleşme yassı kemiklerin, enkondral kemikleşme ise uzun ve kısa kemiklerin şekillenmesinden sorumludur (Tüzün, 2003).

Makroskopik olarak kemiklerin dış kısmına kortikal veya kompakt, iç kısmına trabeküler veya spongioz kemik denmektedir. Kortikal kemik iskeletin % 80'ini oluşturur ve kemik iliğinin bulunduğu medüller kaviteyi çevreler. Kortikal ve trabeküler kemik aynı hücre ve matriks elemanlarını içerir. Ancak yapısal ve fonksiyonel farklılıklar vardır. Yapısal olarak kortikal kemiğin % 80-90'ı kalsifiye olurken, bu oran trabeküler kemikte %15-25 arasındadır. Kortikal kemikte solid dokunun boşluklara oranı, trabeküler kemiğe

kıyasla çok daha yüksektir. Fonksiyonel olarak kortikal kemik mekanik ve koruyucu görev yaparken, trabeküler kemik metabolik etki gösterir (Baron, 1993; Stevason ve Marshms, 2000; Lappe, 2001). Her kemik için trabeküler/ kompakt kemik oranı değişiktir. Aksiyel iskelet sistemini oluşturan vertebralarda trabeküler, apendiküler iskelet sistemini oluşturan femur boynu, distal radius gibi uzun kemiklerde kompakt kemik yapısı hakimdir (Kutlu, 1997). Uzun kemiklerin her iki uç kısmına epifiz, orta kısmına diafiz, ikisi arasındaki geçiş bölgesine metafiz denir. Büyüme döneminde, epifiz ve metafiz bölgelerinin arasındaki büyüme plağında bulunan hücreler kıkırdak matriksinin artmasını ve kemiğin boyuna büyümesini sağlar (Kutlu, 1997; Baron, 1993). Kemikler eklem yüzeyleri dışında, kemik beslenmesinde önemli rol oynayan periost adında bir membranla kaplıdır. Kemiğin en iç kısmındaki kemik iliği boşluklarını endosteum adında bir membran döşer. Her iki membran kemik dokusunun büyümesi ve tamirinde rol alan hücreleri içermektedir (Kutlu, 1997).

Kemik organik ve inorganik unsurlardan oluşur. Kemiğin %30'unu oluşturan organik bölüm; kollajen, proteoglikanlar, glukoproteinler ve diğer proteinlerin oluşturduğu bir protein matriks (%98) ve kemik hücrelerinden (%2) meydana gelir. Protein matriksin %90'ı tip-1 kollajenden, kalan %10'unu osteokalsin, osteopontin, osteonektin gibi diğer proteinlerden oluşur. Kemiğin %70'ini oluşturan inorganik bölümün ise büyük çoğunluğunu hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunan kalsiyum fosfat oluşturur (Şekil 1). Ayrıca karbonat, sitrat, magnezyum, sodyum, flor ve stronsiyum içerir (Baron, 1993; Kutlu, 1997; Durmaz, 2004).



Şekil 1: Kemik dokusu

2.4. KEMİK HÜCRELERİ

Osteoblastlar: Osteoblastlar, lokal mezenkimal prekürsör hücrelerden (kemik iliği stromal kök hücre) orjin alırlar (Baron, 1993; Dequeker ve Mundy, 1998). Kemik matriksinin yapımı ve mineralizasyonundan sorumludurlar. Çeşitli büyüme faktörlerini sentezlerler. Ayrıca osteoklastların farklılaşmasında ve fonksiyonunda önemli görevleri vardır. Osteoblastların bir kısmı osteosit haline dönüşürken, bir kısmı da kemik yüzey hücresi olarak kalır ve kemik yıkımına olan etkileri koordine eder (Baron, 1993; Tüzün, 2003). Osteoblastlar, görünüm ve fonksiyon olarak tek değildirlir. Kemik yüzeyinde küboidal hücre kümeleri olarak bulunurlar (Baron, 1993; Dequeker ve Mundy, 1998). Osteoblastların birbirleriyle iletişimini sağlayan bağlantılar, yeniden yapılanma döneminde hücrelerin koordineli çalışmasını sağlar. Osteoblast hücre membranı alkale fosfatazdan zengindir. Bu nedenle, serum alkale fosfatazı, kemik formasyon indeksi olarak kullanılır. Paratiroid hormon reseptörlerinin olduğu ama kalsitonin reseptörlerinin olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca, çekirdekleri vitamin D3 ve östrojen reseptörünü de içerir (Baron, 1993; Dequeker ve Mundy, 1998).

Osteoklastlar: Osteoklastlar, hemapoetik sistemin ana hücrelerinden köken aldığı düşünülen büyük ve multinükleer hücreler olup, kemik rezorpsiyonundan sorumludurlar (Tüzün, 2003). Kemik yıkımı sırasında bir proton pompası yardımıyla hidrojen iyonlarını ortama salarak kemik mineralinin eritilmesini sağlarlar. Bu asidik ortama lizozomal enzimlerin salınması ile kemik matriksi parçalanır. Bu işlem sırasında osteoklastların kemik matrikse yapışması ise, integrin denilen yüzey proteinleri tarafından sağlanır. İntegrinlerin yokluğunda osteoklast işlev göremez (Tüzün, 2003). Osteoklastlar, kemik yüzeyi üzerinde veya rezorbe kemiğin bulunduğu Howship lakünası denilen boşluklarda bulunurlar. Sentezledikleri tartarata dirençli asit fosfataz, osteoklastların karakteristik enzimatik belirteçidir (Kutlu, 1997).

Osteositler: Osteositler kalsifiye kemik içerisinde örtülü olan osteoblastlardır. Kemik formasyonu sırasında, osteoblastların bir kısmı daha az salgı yapmaya başlar ve ilerleyen dokunun gerisinde kalırlar. Daha sonra da bu doku içinde gömülmeye başlarlar. Protein sentez aktivitesi belirgin azalır ve hücreler çoklu protoplazmik uzantılar geliştirir. Bu uzantılar diğer osteositler ve yüzey osteoblastlarıyla bağlantılar oluşturarak iletişimi sağlarlar (Kutlu, 1997; Stevenson ve Marshms, 2000). Osteositlerin fonksiyonunun ise mekanik uyarıları algılayarak kemik cevaplarını oluşturmak yönünde olduğu düşünülmektedir. Kemiğe binen fiziksel uyarının osteosit tarafından üretilen kimyasal haberciler yoluyla kemikte yeniden yapılanmaya neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu

kimyasal habercilere örnek olarak glukoz 6-fosfat dehidrojenaz, nitrik oksit, prostaglandinler ve insülin benzeri büyüme faktörü verilebilir (Tüzün, 2003).

2.5. KEMİK YAPILANMASI VE YENİDEN YAPILANMASI

Yapılanma: Büyüme sırasında kemiğin fonksiyonel amaçlı biçimlenmesinde, büyümesinde ve kemik hücrelerinin organizasyonunda rol oynar. Yapılanma büyük yüzeyler üzerinde meydana gelir ve kemik dokuda subperiostal artışla sonuçlanır. Yaşa bağımlıdır, adölesandan sonra görülmez (Dequeker ve Mundy, 1998).

Yeniden Yapılanma: Hem kortikal hem de trabeküler kemikte mekanik açıdan yetersiz eski kemiğin yerini, güçlü yeni kemiğin almasıyla sonuçlanan ve hayat boyunca devam eden bir süreçtir. Kemikte şekil değişikliği ve büyümeye neden olmaz (Tüzün, 2003; Durmaz, 2004). Kemiğin yeniden yapılanma yerleri; periostal kılıf, Haversian kılıf ve endosteal kılıftır (Kutlu, 1997). Kemik yeniden yapılanma bölgelerinde; sırasıyla, aktivasyon, rezorbsiyon, formasyon ve mineralizasyon gerçekleşmektedir (Tüzün, 2003).

Aktivasyon, sessiz dönem olarak tanımlanır. Kemik yüzey hücrelerinin yerini osteoklastlar alır. Sağlıklı kişilerde her 10 dakikada bir aktivasyon oluşur (Kanis, 1998). Kemiğin yeniden yapılanmasında tetiği çeken ya da osteoklastları aktive eden mekanizma iyi bilinmiyor. Osteoklastın aktive olması için ortamda aktif osteoblast varlığı gereklidir. Bu nedenle rezorbsiyonu başlatan uyarıcının osteoblast kökenli bir ürün olduğu düşünülmektedir (Kutlu, 1997).

Rezorbsiyon fazında, osteoklastlardan osteolitik enzimlerin yanısıra ortamın asiditesinin devamlılığı için H⁺ iyonu salgılanır. Böylelikle kemik mineralini ve organik matriksi hidroliz ederler. Rezorbsiyon aktivitesi belli bir derinliğe ulaştıktan sonra osteoklastlar buradan ayrılarak kemik boyunca yer değiştirirler (Majumdar, 2002).

Formasyon fazı, osteoblastların farklılaşıp, osteoid (mineralize olmamış matriks) salgılayarak yeni temel yapısal ünite oluşumunu başlattığı faz olup, mevcut osteoblast aktivitesi ve sayısına bağlıdır (Kanis, 1998). Kortikal kemikte tek bir temel yapısal ünite bir haversian sistem veya bir osteon, trabeküler kemikte ise kalsifiye çizgilerle ayrılan semilunar yapıdaki duvarlar, trabeküler osteonları kapsar (Kutlu, 1997).

Kemiğin rezorpsiyon ve formasyonu her zaman bir eşleşme şeklinde birbirini takip ederler. Hiç bir zaman sadece biri söz konusu olamaz. Böylece her siklus sonunda kemik kütlelerinde totalde farklılık olmaz. Bu eşleşmeyi düzenleyen faktörler halen araştırılmaktadır (Kutlu, 1997). Yeniden yapılanma siklusu; normal kadında 1 ayı rezorbsiyon ve 5 ayı formasyon olmak üzere ortalama 6 ay sürer (Gür, 2004) ve yaşla değişir (Kutlu, 1997).

Mineralizasyon; Matriks formasyonunun başlamasından birkaç gün sonra başlar. Yeni oluşan osteoid, mineralizasyona uğrar. Osteoid ve mineralize kemiğin arasındaki bileşkeye kalsifikasyon hattı denir (Gür, 2004; Kanis, 1998).

Kemiğin yeniden yapılanması oldukça karmaşık bir mekanizma tarafından düzenlenir. Mekanik stres, sistemik hormonlar ve lokal büyüme faktörleri bu düzenlemede rol alırlar (Tüzün, 2003).

2.5.1 Kemik formasyon ve rezorbsiyonunu etkileyen faktörler :

1.Kalsiyum seviyesini düzenleyenler

Paratiroid hormonu (PTH)

1,25 (OH)₂ vitamin D3

Kalsitonin

2.Sistemik hormonlar

Glukokortikoidler

İnsülin

Büyüme hormonu (GH)

Seks hormonları

Tiroid hormonları (T3-T4)

Dolaşımdaki büyüme faktörleri (IGF I-II)

3.Lokal faktörler

Prostoglandin E2

Kemik kökenli büyüme faktörü, TGF

Sitokinler

Kemik ile ilgili proteinler

Osteokalsin

Ostonektin

Kemik morfogolik proteinleri

2.6. OSTEOPOROZUN ETİYOLOJİSİ VE PATOFİZYOLOJİSİ

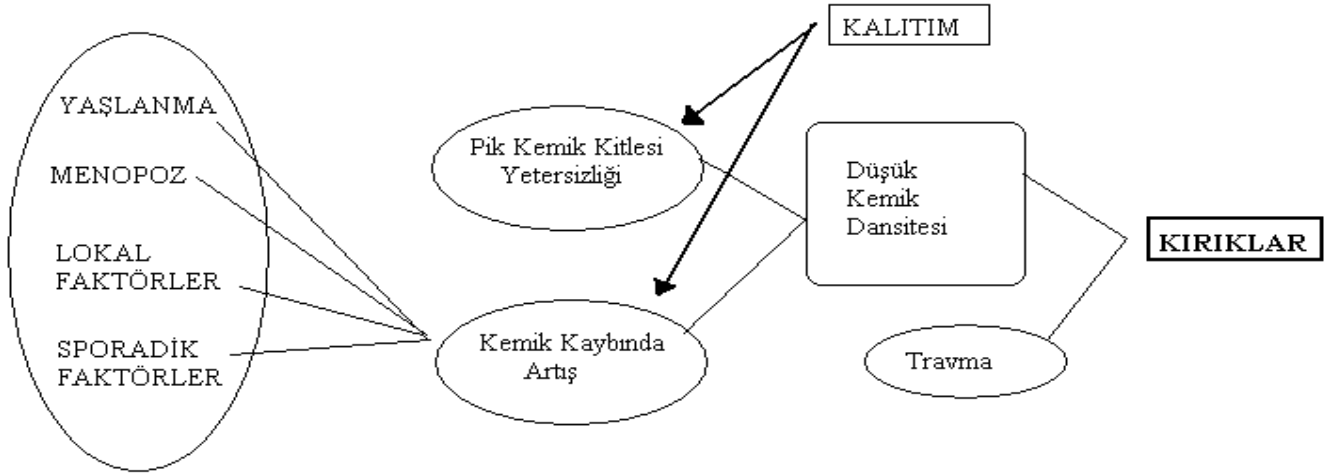
Kemik kütlesi erkeklerde kadınlara göre %25-30 daha yüksektir. Buna göre; osteoporoz gelişiminde kadınlarla erkekler arasında fark olduğu açıktır. Bununla birlikte her iki sekste yaş ilerledikçe kemik kütlesinin %0,05-1 oranında yıllık azalma gösterdiği de tartışmasız bir gerçektir. Menopozun eklenmesiyle bu kayıp 10 yılda kadınlarda %3-6 oranına varır. Siyah ırkta kemik kütlesinin fazla olması nedeniyle osteoporoz daha az sıklıkta görülmektedir. Doruk kemik kütlesinin oluşumunda özellikle puberte ve genç erişkinlik döneminde yeterli Ca alınması olumlu etki gösterir. Gebelik, laktasyon dönemi, menapoz ve sonrasında artan Ca ihtiyacının karşılanması pik kemik kütlesinin kaybını azaltır. Özellikle kemik büyümesinin hızlı olduğu puberte ve gençlik dönemindeki fizik aktivite ve egzersizin pik kemik kütlesi oluşumunda olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (Tüzün, 2003).

Osteoporoz patofizyolojisinde 3 faktör dikkate alınmaktadır. Bunlar:

- 1.Doruk kemik kütlesi
- 2.Kemik yapım-yıkım döngüsünün hızı
- 3.Kemiğin organik matriksinde meydana gelen değişiklikler.

Doruk kemik kütlesi çoğunlukla (%80) genetik olarak belirlenir. Ancak, kalsiyum alımı ile birlikte dengeli beslenme, egzersiz, normal pübertal gelişim ve sağlık durumu da doruk kemik kütlesinin belirlenmesinde etkilidirler (Tanakol, 2004). Doruk kemik kütlesine erişme yaşı en erken 17-18, en geç 35 olarak belirlenmiştir (Kutsal, 2000). Kemik dokusu, yaşam boyu oluşum ve yıkılım olaylarının sürdüğü yüksek derecede aktif bir dokudur. Bu nedenle, kemikte yeniden yapılanma görülür. Osteoporoz; yeni kemik yapımında duraklama veya kemik rezorbsiyonunda artma sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kemik kaybı, menopoza, yaşlanmaya, sistemik hastalıklar ile diğer nedenlere (beslenme, ilaç kullanımı, vb.) bağlı olarak ortaya çıkar (Tanakol, 2004).

Osteoporoz, genetik faktörler ve çevresel etkilerin birlikte rol oynadığı multifaktöriyel hastalıklar grubunda yer alır (Wood, 1998; Gennari ve ark., 2002; Zajickova ve ark., 2003). Multifaktöriyel hastalıklar, kantitatif fenotipik değişimler ve genotipin çevreyle etkileşimiyle birlikte ortaya çıkmaktadır (Peacock ve ark., 2002). Patogenezinde çeşitli çevresel faktörler rol almakla birlikte, kemik gücünü sağlayan bileşenlerin oluşumunda önemli rolleri alan genetik faktörler de osteoporoz oluşumuna neden olabilmektedir (Gennari ve ark., 2002) (Şekil 2).



Şekil 2. Osteoporozun Patogenezi

2.7. OSTEOPOROZ GELİŞİMDEKİ RİSK FAKTÖRLERİ

Osteoporoz ve osteoporotik kırıklar için risk faktörlerinin tanımlanması ile yüksek risk altındaki bireyler ortaya çıkarılabilir ve böylece değiştirilebilen risk faktörlerine müdahale edilmek suretiyle kırıklar önlenebilir. Bu risk faktörleri sırasıyla şunlardır;

Yaş, cinsiyet, ırk: Kemik kütlesi genellikle 20 ile 35 yaş civarına kadar artarak, maksimum seviyeye ulaşmaktadır (Gennari ve ark., 2002). Maksimum kemik kütlesi, 40 yaş civarına dek korunmakta ve bazı faktörlerin etkisinde fizyolojik olarak kayıba uğramaktadır. Yaş ilerledikçe, çevresel ve genetik etkenlere bağlı olarak azalmaya devam etmektedir (Gennari ve ark., 2002). Erkeklerde ve premenapozal kadınlarda yaklaşık yılda %0.25-1 kemik kaybı olmaktadır. Perimenapozal ve postmenapozal dönemdeki kadınlarda ise kayıp %2-5 oranına ulaşmaktadır. Postmenapozal dönemde kadınlar ilk on yılda tüm kemik kütlelerinin %15'i kayba uğramakta ve kaybın %50'si de ilk 5 yıl içinde ortaya çıkmaktadır. Erkeklerde tüm yaşam boyunca oluşacak kayıp ise %20-30 düzeyinde olmaktadır (Saridoğan, 2001). Erkeklerin kemik çapının fazla olması, onlara biyomekanik avantaj sağlamak ve gonad fonksiyonları da geç bozulabilmektedir. Tüm bunlar; erkek kemiklerinin daha dayanıklı olmasını sağlamaktadır (Tanakol ve ark., 2004). Kemik gücü sadece KMY'ye de bağlı değildir. Kemiğin boyutu, kalitesi ve diğer bileşenleri de kemik gücünün oluşumunda önemlidir. Osteoporozda kırıklara neden olan en önemli etken KMY olmakla birlikte bunun yanında kas zayıflığı ve travmanın da kırık etkeni olduğu

bilinmektedir (Gennari ve ark.,2002). Osteoporozla bağlı kırık insidansı beyazlarda siyahlara göre daha yüksektir (Gennari ve ark., 2002) . Beyaz ırkın, yaşı kadınlarda görülen kalça ve omurga kırıklarının %90'ı ve yaşı erkeklerde ise %70'i osteoporozdan kaynaklanır (Melton ve ark., 1997). Osteoporoz, ırksal farklılıkların yanısıra, coğrafi bölgelere göre de değişiklik gösterebilmektedir. İskandinav ülkelerinde, Kuzey Akdeniz ülkelerine göre, daha fazla kalça kırığının görülmesi bu durumu kanıtlamaktadır (Saridoğan, 2001). Siyah ırkın KMY'si yüksektir ve PTH ile D₃ vitamininin rezorbtif etkilerine karşı yüksek direnç bulunmuştur. Kas kuvveti ve yağ kitlesi de siyahlarda daha yüksek olup kırıklardan koruyucu rol oynar. Trabeküler mimaride ve turnover değişkenlerinde siyah ırk lehine anlamlı farklar bulunmuştur (Tanakol, 2004; Tüzün, 2003).

Vücut tipi: Osteoporozlu kadın prototipi, ince yapılı, zayıf ve kısa boylu olarak tasvir edilir (Tanakol, 2004). Vücut ağırlığı, iskelet üzerine mekanik yük bindirerek kemik yoğunluğunu artırmaktadır. Ayrıca, yağ dokusunda depolanan östrojenlerin de kemik yoğunluğu üzerine pozitif etkileri vardır. Obeslerde Ca absorpsiyonunun daha fazla oluşu, kemik döngüsünü etkiler. Zayıflarda kırığa yatkınlık, düşük kemik kütlesi yanısıra düşmelerden koruyucu yağ dokusunun ince olmasından kaynaklanmaktadır (Saridoğan, 2001). Uzun boylu insanların kemikleri daha iridir ve KMY daha yüksektir, ama femur boynu uzunlukları daha fazla olduğundan kalçaları daha kolay kırılır. Boyda 9 cm'lik artış, kalça kırığı riskini %50 artırmaktadır (Tanakol, 2004).

Üreme ile ilgili (reprodüktif) faktörler: Geç menarş, erken menapoz, 6 aydan uzun süreli amonore, kısa doğurganlık süresi, ooferektomi sonrası gelişen iatrojenik menapoz, doğum sayısı, doğum kontrol hapı kullanımı, emzirme varlığı ve süresi reprodüktif faktörler arasında sayılabilir (Saridoğan, 2001).

Beslenme alışkanlıkları: Doğru beslenme kemik sağlığını optimize etmede önemli bir etken olmakla birlikte, Ca alımının en önemli etkenlerden olduğu bilinmektedir (Bronner, 1994). Yapılan çalışmalar, büyüme sırasında alınan Ca'un KMY ile kemik kütlesini doğrudan etkilediğini göstermiştir (Saridoğan, 2001). Ca alımı bilinçli olarak arttırıldığında kemik sağlığının optimize olduğu ve osteoporoz riskinin de azaldığı görülmüştür (NIH Consensus Development, 1994). Sağlıklı kadınların önerilen Ca ihtiyacının 400 ile 1500 mg olduğu belirlenmiştir. Gebelik ve adolosan döneminde ise daha yüksek dozlar önerilmektedir (Kanis, 1998). Farklı diyet uygulamalarının Ca metabolizmasını bozduğu da gerçektir. Örn: Yüksek miktarda protein ve tuz tüketimi üriner Ca miktarının artmasına neden olarak negatif Ca dengesine ve kemik kaybına yol açmaktadır (Kerstetter ve Allen,

1990; Nordin, 1993). Premenopozal kadınlarda yapılan bir çalışmada yüksek sodyumlu diyet düşük kemik yoğunluğu ile ilişkili bulunmuştur (Devine ve ark., 1995). Aşırı miktarda kahve tüketimi, idrar ve bağırsakta Ca'un atılımını etkilemektedir. Günlük 150 mg kafein (1 bardak kahve) idrar kalsiyumunu günde 5 mg artırmaktadır. Düşük dozlarda etkisi önemsizdir (Yılmaz, 1997; Sarıdoğan, 2001). Proteinden zengin diyet idrarla Ca'un atılımını artırır. Bu etki yüksek fosfor (P) içeriği nedeniyle hayvansal proteinlerde daha fazladır. Yüksek P alınması idrarla kalsiyum atılımını azaltırken, feçesle atılımını artırmaktadır (Yılmaz, 1997; Sarıdoğan, 2001). D vitamini eksikliği, Ca'un bağırsaklardan emilimini bozmakta, hafif sekonder hipertiroidi yaparak kemik kaybını artırmaktadır. Diyetle D vitaminine ağırlık verilmeli, deri yoluyla oluşan sentezi artırmak amacıyla, güneşe maruz kalma ihmal edilmemelidir. Diyetle aşırı tuz alınması da Ca'un idrarla atılımını artırmaktadır (Sarıdoğan, 2001). K vitamini, osteokalsin sentezini olumsuz etkileyerek, osteoporoz oluşumuna katkı sağlamaktadır. Çünkü osteokalsin, K vitaminine bağımlı olarak sentez edilmektedir (Yılmaz, 1997). K vitamini eksikliği, KMY'nin düşmesine neden olmaktadır (Cooper ve Umbach, 1996). Alkol, Ca'un emilimini azaltır ve atılımını artırır. Ayrıca, vitamin D metabolizmasında bozukluğa yol açar, protein ve sodyum alımını azaltır ve protein kaybını (parasentez ve varis kanamaları sonucu) artırır.

Testesteron azalması, kortikosteroid artışı gibi endokrin değişiklikler yaparak osteoporozu kolaylaştırır (Yılmaz, 1997; Sarıdoğan, 2001). Sigara, östrojenlerin hepatik metabolizmasını artırır (Yılmaz, 1997). Bağırsaklardan Ca absorpsiyonunu azaltıp, sekonder hiperparatiroidi geliştirerek kemik rezorpsiyonunu artırır. Sigara içenlerde içmeyenlere göre kırık riski 1,5-2,5 kat fazladır (Sarıdoğan, 2001). Çeşitli hayvan çalışmaları, kollagen matriks formatının doğru oluşması için yeterli Askorbat ve bakır alımının gerekli olduğunu göstermiştir (Jonas ve ark., 1993; Padh, 1990).

Genetik faktörler; bu besinlerin absorpsiyonunu, metabolizmasını ve korunmasını yönlendirerek osteoporoz için risk faktörü olabilmektedir (Wood, 1998).

Yaşam şekli ve egzersiz: Kemik sağlığını etkileyen önemli faktörlerden biri de egzersizdir. Yapılan çalışmalar, kullanılmayan kasların kemiklerinde ciddi kemik kayıplarına yol açtığını göstermiştir (Frost, 1992). Buna karşın egzersizle uyarılan fiziksel stres, kemik yoğunluğunun artmasına yol açmaktadır (Smith ve Gilligan, 1991). Düzenli yapılan egzersize olumlu yanıt, kişinin beslenmesiyle doğru orantılıdır. Özellikle kişinin Ca alımının egzersize yanıtta önemli bir etken olduğu göz ardı edilmemelidir (Specker, 1996). Kahve, sigara ve alkol tüketimi de kemik yoğunluğunun oluşumunu etkilemektedir (Haris ve Dawson, 1994; Kiel ve ark., 1996; May ve ark., 1995).

Kemiğin yeniden yapılanmasında etkili mekanik faktörler; kas kontraksiyonu ile yerçekimidir (gravite). Yerçekiminin olmadığı uzayda yolculuk yapan astronotlarda kemik kütlelerinde aylık %4'lük bir kayıp gözlemlendiği ifade edilmiştir. Uzun süreli kesin yatak istirahati de kemik kütlelerinde azalmaya neden olmaktadır (Saridoğan, 2001). Kemiğin kütlesi, yoğunluğu, dayanıklılığı ve sertliği gibi özellikleri mekanik stres altında artış göstermektedir. Fiziksel aktivitenin kemik kütlelerini %40-50 oranında artırdığının tespit edilmesi, bu durumu kanıtlamaktadır. Kemiğe mekanik yük bindirilmesi, büyümekte olan kemikte, erişkin kemiğe oranla, daha olumlu sonuçlara yol açmaktadır. Egzersiz etkisi; osteoklastik etkiyi baskılamadan çok, osteoblastik aktiviteyi artırarak kemik formasyonunu uyarma şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden, erişkinlerin kemiklerini korumak amacıyla düzenli egzersiz yapmaları gerekmektedir (Tanakol, 2004).

İlaç kullanımı: Glukokortikoidler (GK), adrenokortikotropik hormon (ACTH), tiroksin, antikonvülzanlar, heparin, lityum, sitotoksik ilaçlar, gonodotropin salgılayıcı hormon analogları (GnRH), tamoksifen, aliminyum kullanımı ve iatrojenik vitamin D osteoporoz riskini artırmaktadır. Diğer yandan, Teofilin, fenotiazin, nitrit, Ca kanal blokerleri ile siklosporin gibi ilaçların da kullanımında osteoporoza yol açtığı ifade edilmektedir (Kanis, 1998).

Düşme ile ilgili risk faktörleri: Yaşlanma ile kas gücünün azalması, yürüme bozuklukları, görme bozukluğu, dengesizlik gibi kişisel faktörlerin yanısıra, kötü aydınlatma, kaygan zemin, merdivenler gibi çevresel faktörler de düşmeye zemin hazırlamakta ve böylece kırık riski artmaktadır (Saridoğan, 2001).

2.8. OSTEOPOROZUN GENETİĞİ

İkiz ve aile çalışmaları kemik oluşumunda genetik faktörlerin önemli etkisinin olduğunu göstermiştir (Pocock ve ark., 1987; Cummings ve ark., 1995; Zajickova ve Ivana, 2003). Çeşitli çevresel faktörlerin yanında, genetik faktörler kemik kütlesi ile bileşimini %50-80 oranında etkilemektedir (Smith ve ark. , 1973; Pocock ve ark., 1987). Osteoporoz, beslenme, hormonlar çevre ve genetik faktörlerin etkisi altında ortaya çıkan, kompleks multifaktöriyel bir hastalıktır (Gennari ve ark., 2002). Osteoporoz tanısında kullanılan KMY, klasik mendeliyen kalıtım kalıplarına uymayan, tek gen lokusunda dominant resesif özellik göstermeyen kompleks karakterli bir özelliktir. Fakat bazı nadir durumlarda Mendeliyen kalıtım gösteren örneklere de rastlanmıştır. Bunlar; Osteogenezis İmpfekta (Tip1 Prokollagen) (Kuivaniemi ve ark., 1991; Willing ve ark., 1994), Ailesel Osteoporotik sendromlar (aromataz gen mutasyonu) (Morishima ve ark.,1995), Östrojen

Reseptör Alfa gen mutasyonu (Smith ve ark., 1994), Osteoporozis pseudoglioma sendromundan (Ralston, 2010) ibarettir. Örneğin, Vitamin D dirençli ricket (kemiğin yumuşaması hastalığı) (Vitamin D reseptör Geni mutasyonu) (Cockerill ve ark., 1997) tek gen mutasyondan kaynaklı görüldüğü düşük KMY hastalığıdır (Morishima ve ark.,1995; Smith ve ark., 1994). İskelet yapısının kompleks biyolojisi düşünüldüğünde, kemik kütlelerinin çok sayıda genin kontrolü altında geliştiği anlaşılır. Çeşitli epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, osteoporozun patogeneğinde genetik etkenlerin önemini göstermiştir (Gennari ve ark.,2002).

KMY, kırıkların en önemli nedeni olsa da, kemik kırılabilirliğine yada kırığına neden olan ve KMY ile ilişkili olmayan farklı genlerin de mevcut olduğu gösterilmiştir (Rizzoli ve ark., 2001). Genetik etkenler daha detaylı olarak belirlendiğinde, osteoporozun tanı ve tedavisinde yeni yaklaşımlara ışık tutacaktır. Ayrıca, tedaviye kişisel cevabın nasıl olacağı ve genotip analiziyle risk grupları tanımlanıp erkenden önlem alınabilmesi de sağlanacaktır (Uitterlinden ve ark., 2006).

2.8.1 Irksal Farklılıklar: Yaş, boy, kilo, kalsiyum tüketimi ve fiziksel aktivite bakımından farklı özellik gösteren siyah kadınlar, beyaz kadınlara göre, farklı iskelet bölgelerinde daha yüksek KMY değerine sahipler (Luckey ve ark., 1989; Schnitzler ve ark., 1990). Benzer şekilde, Polinezyalı ve Avrupa popülasyonlarında yapılan karşılaştırmalar, grupların farklı KMY değerleri gösterdiği görülmüştür (Cundy ve ark., 1995).

2.8.2. Aile Çalışmaları: Annesinde kalça kırığı öyküsü olan kadınların, aile öyküsü olmayan kadınlara oranla iki kat risk taşıdıkları saptanmıştır (Melton ve ark., 1992). Yaşla uyumlu kontrol grubu eşliğinde yapılan karşılaştırmalar, osteoporotik kadınların kızlarının daha düşük kemik yoğunluğuna sahip oldukları ve menopozdan sonra daha yüksek oranda kırık riski taşıdıklarını göstermiştir (Seeman ve ark., 1989; Kanis ve ark., 1996). Yine postmenapozal osteoporozu olan kadınların premenapozal dönemdeki kızlarında, aynı yaş grubu kontrollerine göre göre, lomber ve femur boynu dansitenin daha az olduğu gözlenmiştir (Saridoğan, 2001). Kemik mineral yoğunluğu bakımından premenopozal kadınlar ve kızlarında, postmenopozal kadınlar ve kızlarına oranla daha güçlü bir ilişki saptanmıştır (Luds, 1990). Bazı araştırmacılar ailesel benzerlik derecesini tahmin edebilmek için çeşitli hipotezlerle segregasyon analizi uygulamışlardır. Fransa'da 129 çekirdek aile incelenmiş ve KMY'yi etkileyen major bir gen bulunamamıştır (Gueguen, 1995). Fakat, kemik kütlelerinin gelişiminde birden fazla genin etkisinin olabileceği 137 ailede 535 Amerikalı kadınla yapılan çalışmanın sonucunda saptanmıştır (Livshits, 1996).

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, OP'da pozitif aile hikayelerinin osteoporotik kırık riski oluşumunda bir risk faktörü olabileceğini göstermiştir (Seeman ve ark., 1989). Çalışmalardan elde edilen çelişik verilerin nedeninde; farklı kemik bölgelerinin, örnek azlığının, farklı etnik gruplarının çalışılmasından kaynaklandığına dayandırılmıştır.

2.8.3 İkiz Çalışmaları: İkizlerde yapılan çalışmalar, doruk kemik kütlesindeki değişkenliğin %70'inden genetik faktörlerin sorumlu olduğunu göstermiştir (Tanakol, 2004). Monozigotik ve dizigotik ikizlerde, farklılıkları gösteren karşılaştırma analiz çalışmaları, kemik kütlesi oluşumunda genetik ve çevresel etkenlerin katkısının ne kadar olduğunu ölçebilme imkanı vermiştir. DZ (Dizigotik) ikizler iki kardeş oranında ortak gene sahiptir. Bu kişilerin KMY'nin farklı olması çevresel ve genetik etkenlerden kaynaklanmaktadır. Genetik yapı bakımından özdeş olan MZ (Monozigotik)'lerin, KMY farkı ise sadece çevresel etkenlerden kaynaklanmaktadır. Sağlıklı MZ ikizlerle yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, ikizler yaşlandığında elde edilen veriler ile karşılaştırılmış ve kilo, boy, vücut ebatları, vertebral şekil, yapı ve kemik mineral yoğunluğu bakımından hemen hemen benzer görülmüştür. Bu sonuç; bir bakımdan kemik kütlesinin oluşumunda genetik etkisi bakımından önemini ortaya koymuştur (Pocock ve ark., 1987; Slemenda ve ark., 1991; Smith ve ark., 1973; Moller ve ark., 2002; Dequeker ve ark., 1987).

Son yıllarda yapılan ikiz çalışmalarından elde edilen verilere göre, MZ ikizler, DZ ikizlere oranla, kemik kütlesinde yüksek konkordans göstermişlerdir (Gennari ve ark., 2002). Bu da, kemik metabolizmasında genetik faktörlerin etkili olduğuna kanıt olmuştur. Finlandiyalı 2308 MZ ve 5241 DZ ikizle yapılan çalışma sonucu, kırık konkordansının MZ'lerde DZ'lere oranla, daha yüksek olduğunu göstermiştir (Kannus ve ark., 1999). Farklı ikiz çalışmaları da, kantitatif USG, kemik geometrisi ve diğer kemik parametreleri açısından benzer oranlar ortaya koymuştur (Arden ve ark., 1996; Howard ve ark., 1998).

2.8.4. Bağlantı Analizi Çalışmaları: Bağlantı Analizinde, markır ve kalıtsal fenotip arasındaki ilişki lod skor yöntemi ile hesaplanır (Steward ve Ralston, 2000). Bu yöntemde geniş ailelere ihtiyaç vardır (Wood, 1998). Bu yöntem, zor bir yöntemdir. Basit Mendeliyen kalıtım için bir model olup, kompleks kalıtımlar için uygulanması zor bir yöntemdir. Yanlış modelin kullanılması, yanlış bağlantı sonuçlarına neden olabilir (Lander ve Schork,1994). Johnson ve arkadaşları 11q12-13 kromozomal lokusunda yüksek kemik kütlesi fenotipi ile ilişkili bağlantı saptamışlarken (Lander ve Schork, 1994), Gong ve arkadaşları, aynı kromozomal bölgenin osteo-pseudoglioma sendromuna neden olduğunu göstermişlerdir (Gong ve ark., 1996). Deng ve arkadaşlarınca yapılan bir ikiz çalışması ile,

KMY ile 11q12-13 bantı arasında bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir (Deng ve ark., 2001).

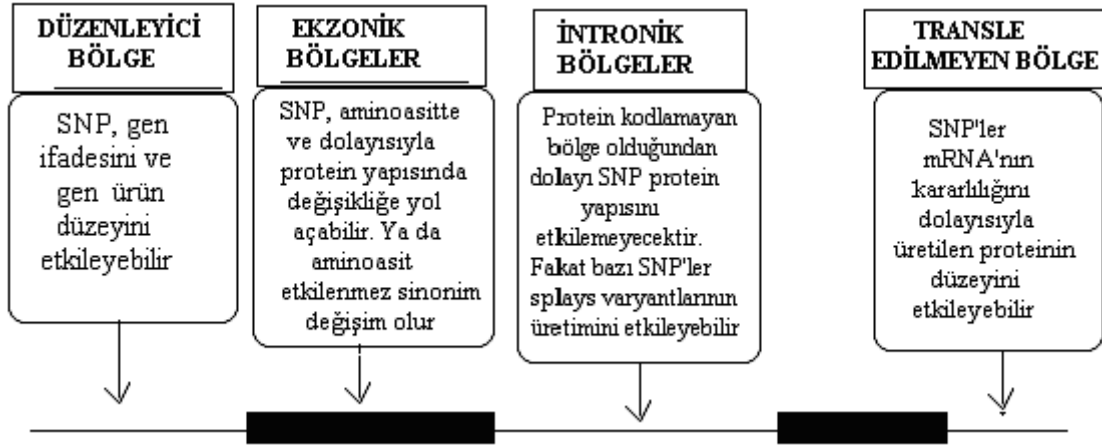
2.8.5. Asosiasyon Çalışmaları ve Aday Gen Yaklaşımları: Osteoporoz gibi kompleks patofizyolojisi olan hastalıklarla, ilişkili genlerin tanımlanmasında, polimorfik genetik bir markırla hastalığın fenotipi arasında bir ilişkinin olup olmadığı araştırılır. Osteoporozda düşük KMY ve kırık olmak üzere, iki önemli fenotipik özellik mevcuttur (Gennari ve ark., 2002). İlişkilendirme çalışmalarının en basit ve etkili olanı, hasta ve kontrollerin allel sıklıklarını karşılaştıran hasta-kontrol yaklaşımıdır. Hasta-kontrol çalışmaları, polimorfizmler ile popülasyonda sık gözlenen hastalıklar arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığını saptamak amacıyla kullanılan en yaygın çalışma yöntemidir. Bu tür çalışmalarda genetik etkileri %80 güvenilirlikle ($OR \geq 2.0$) tesbit etmek için en az 200 hasta ve 200 kontrolün çalışılması gerektiği önemle belirtilmektedir (Garcia- Closas ve ark., 2000).

Popülasyonlarda hasta ve kontrol grubu karşılaştırılarak yapılan ilişki çalışmalarında dikkat edilmesi gereken bazı önemli parametreler bulunmaktadır. Osteoporozda olduğu gibi, hastalık geç yaşta ortaya çıkıyorsa, hasta grubunun oluşturulmasında buna dikkat edilmesi gerekmektedir. Benzer şekilde, kontrol grubu da iyi seçilmelidir (Econs ve Speer, 1996). Çalışma sonucunda pozitif bir ilişkinin çıkmasına neden olabilecek durumlar mevcuttur. Bunlar; Allel gerçekten hastalık nedeni olabilir, allel hastalık nedeni değildir, fakat bağlantı eşitsizliği mevcuttur ya da popülasyon heterojen bir popülasyon olup yanlış pozitif bir sonuç vermiştir (Gennari ve ark., 2002) şeklindeki pozisyonlardan ibarettir. Son yıllarda yapılan ve çeşitli aday genleri içeren ilişki çalışmaları ile osteoporotik kırık patogenezi ve kemik kütlesi düzenlenmesinde rol alan bazı bölgeler ile genler tanımlanmıştır. Bu genler ve gen grupları osteoporoz ve SNP'ler bölümünde tartışılmıştır.

2.9. OSTEOPOROZ VE SNP'LER

İnsan genomunun dizilenmesiyle birlikte, DNA'nın yaklaşık %99.9'unun bütün insanlarda benzer olduğu görülmüştür (Kotnis ve ark., 2005). %0.1'lik fark, bireyler arası varyasyondan ve her bireyin bireysel fenotipinden sorumludur. Tek baz değişimi şeklinde görülen bu küçük genetik varyasyonlar, SNP'ler olarak adlandırılırlar. SNP (Single nucleotide polymorphism) belirli bir baz pozisyonunda meydana gelen tek nükleotid değişiklikleridir. SNP'ler, genel popülasyonda sıklıkla oluşan (>%1) tek nükleotid değişimler adı altında sınıflandırılırken, proteinler üzerinde bariz fonksiyonel değişiklikler

oluşturan nadir varyantlar ise mutasyon olarak sınıflandırılırlar. Mutasyonlarla karşılaşıldığı zaman, SNP'lerin, fonksiyonel bakımdan anlamsız olduğu düşünülürken daha sonraki bulgular, SNP'lerin dikkate değer bir kısmının proteinlerin iç özelliklerini ve fonksiyonlarını çeşitli derecelerde etkilediğini göstermiştir (Collins ve ark.,1997; Chakravarti, 1998; MehrianShai ve Reichardt, 2004). SNP'ler insan genomunda en fazla görülen genetik değişimlerdir (Don Haeng ve Ki-Baik, 2008). SNP'lerin yaklaşık 30.000'i klinik olarak görülebilir bir fenotipik etkiye sahiptir. Bunların önemli bir kısmının artmış/azalmış transkripsiyon, transkripsiyon sonrası değişim ve translasyon sonrası aktivite veya proteinin dördüncül yapısında değişikliklerle ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Li ve ark., 2001; Shastri, 2002) (Şekil 3).



Şekil 3. SNP'ler ve olası sonuçları
(Ollier'den, 2004)

Populasyonlar arasında görülen genetik farklılıklar, hastalıklara karşı duyarlılık, direnç ve hastalığın prognozunu etkileyebilmektedir. Epidemiyolojik ve biyomedikal araştırmalar, farklı populasyonlarda hasta bireyler ve sağlıklı kontroller arasındaki SNP farklılıklarını ortaya koymaktadır.

SNP'ler, bireyler arasındaki kan basıncı, ilaç metabolizması, kan pıhtılaşması ve kardiyovasküler fonksiyon bozuklukları gibi birçok fizyolojik fonksiyon çeşitliliğinden sorumludur (Herrington, 2003; McGillavry ve Prins, 2003; Tempfer ve ark., 2004).

Yapılan araştırmalarda SNP'ler daha çok kanser, diabetes mellitus, alzheimer, migren ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili bulunmuştur. SNP'ler hastalıkların risk profillemesinde, epidemiyolojik çalışma planlanmasında, farmakogenomik ve fizyolojik genomikte, aday gen tayini, haritalamada ve adli tıpta kullanılmaktadır (http://www.slidefinder.net/s/snp_analizleri_ar%C5%9F_grv_sacide/3951249/p3).

Osteoporozla ilişkili polimorfizm çalışmalarında incelenen genler aşağıdakilerden oluşmuştur;

Kalsitotropik hormon ve reseptörleri olarak; *Vitamin D reseptörü (VDR)* (Gross ve ark., 1996; Morrison ve ark., 1994; Riggs ve ark., 1995), *Östrojen Reseptör alfa* (Kobayashi ve ark., 1996; Han ve ark., 1997; Jurada ve ark., 2001; Sano ve ark., 1995), *Östrojen Reseptör beta* (Ogawa ve ark., 2000), *Kalsitonin Reseptörü (CALCR)* (Taboulet ve ark., 1998; Masi ve ark., 1998), *Kalsitonin* (Miyao ve ark., 2000), *Paratiroid Hormon* (Hosoi ve ark., 1999), *Glikokortikoid Reseptör* (Huizenga ve ark., 1998), *Androjen Reseptör* (Sowers ve ark., 1999), *Kalsiyum Duyarlı Reseptör* (Cole ve ark., 1999) geni polimorfizm çalışmalarına konu edilmiştir.

Kemik Matriks Bileşenlerinden sorumlu genlerden olan; *Kollajen Tip I alfa 1 (COL1A1)* (Grant ve ark., 1996; Willing ve ark., 1998; Baker ve ark., 1991), *Kollajen Tip I alfa 2* (Willing ve ark., 1998), *Osteokalsin* (Dohi ve ark., 1998), *Osteonektin* (Willing ve ark., 1998), *Osteopontin* (Willing ve ark., 1998), *Alfa 2-HS-glikoprotein* (Zmuda ve ark., 1998), *Matriks Gla protein* (Tsukamoto ve ark., 2000b) geni polimorfizm açasından değerlendirilmiştir.

Lokal Düzenleyici genlerden olan; *TGF-beta1* (Langdahl ve ark., 1997), *IGF-1beta* (Miyao ve ark., 1998), *IL-1* (Langdahl ve ark., 2000b) *IL-1-reseptör antagonisti* (Keen ve ark., 1998; Langdahl ve ark., 2000a), *IL-6* (Murray ve ark., 1997; Ferrari ve ark., 2001; Tsukamoto ve ark., 1999), *TNF-reseptör R2* (Spotila ve ark., 2000), *Kemik morfogenetik proteini (BMP-4)* (Semprini ve ark., 2000) geni de polimorfik açağan değerlendirilmiştir.

Diğer genlerden olan; *Metilentetrahidroksifolat (MTHFR)* (Miyao ve ark., 2000b), *Apolipoprotein E* (Shiraki ve ark., 1997), *Kollajenaz* (Thiry-Blaise ve ark., 1995), *CYP19 aromataz* (Gennari ve ark., 2000), *Peroksizom proliferator-aktive reseptör gama geni (PPAR gama)* (Ogawa ve ark., 1999) *VitaminD bağlayıcı protein* (Papiha ve ark., 1999), *Beta2 adrenarjik Reseptör* (Matkovic ve ark., 1997), *Werner helikaz* genidir. (Ogata ve ark., 2001) Daha sonra yapılan çalışmalarda farklı aday genler de ilave olmuştur.

Tablo 2. Osteoporozla ilişkili polimorfizm çalışmalarında incelenen genler;

GEN	SEMBOL	LOKALİZASYON
<i>Matrix protein molecules</i>		
<u>Osteocalcin</u>	BGLAP	1q25-q31
α 2HS Glycoprotein	AHSG	3q27
Osteopontin	SPP1	4q21-q25
Osteonectin	SPOCK	5q31.3-q32
<u>Collagen type Iα1*</u>	COL1A1	17q21.3-q22.1
Collagen type I α 2	COL1A2	7q22.1
<i>Matrix associated enzymes</i>		
Cathepsin K	CTSK	1q21
Alkaline Phosphatase	ALPL	1p36.1-p34
Carbonic Anhydrase II	CA2	8q22
Matrix metalloproteinase 3	MMP3	11q22.3
Lysyl Oxidase	LOX	5q23.3-q31.2
Lysine Hydroxylase	PLOD	1p36
Lysine Hydroxylase 2	PLOD2	3q23-q24
Lysine Hydroxylase 3	PLOD3	7q36
<i>Calcitropic (Steroid) Hormone Receptors/Enzymes</i>		
<u>Estrogen Receptor α*</u>	ESR1	6q25.1
Estrogen Receptor β	ESR2	14q23
Aromatase	CYP19	15q21.1
Androgen Receptor	AR	Xq11
Glucocorticoid Receptor	GR/NR3C1	5q31
Vitamin D Receptor*	VDR	12q13
Vitamin D binding protein	DBP/GC	19q13.3
B3-adrenergic Receptor	ADRB3	8p12-p11.2
Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma	PPARG	3p25
Calcium Sensing Receptor	CASR	3q21-q24
<u>Calcitonin receptor</u>	CALCR	7q21.3
Parathyroid Hormone	PTH	11p15.3-p15.1
PTH receptor	PTH1R	3p22-p21.1
Epidermal Growth Factor	EGF	4q25
Gonadotropin releasing hormone 1	GNRH1	8p21-p11.2
Gonadotropin releasing hormone receptor	GNRHR	4q21.2
Luteinizing Hormone beta peptide	LHB	19q13.32
LH-choriogonadotropin receptor	LHCGR	2p21
<i>Growth Factors/Cytokines/Receptors</i>		
Interleukin-1 β Receptor Antagonist	IL-1RN	2q14.2

Interleukin-4	IL-4	5q31.3
Interleukin-6	IL-6	7p21
Transforming Growth Factor β 1*	TGFB1	19q13.2
Transforming Growth Factor β 2	TGFB2	1q41
Growth Hormone	GH1	17q22-q24
Growth Hormone Receptor	GHR	5p13-p12
Insulin-like Growth Factor I	IGF1	12q22-q23
Insulin-like Growth Factor I Receptor	IGF1R	15q25-q26
Insulin-like Growth Factor 2	IGF2	11p15.5
Insulin-like Growth Factor II Receptor	IGF2R	6q26
IGF-binding protein 3	IGFBP3	7p14-p12
Tumour Necrosis Factor α	TNF	6p21.3
TNF receptor superfamily/1 β	TNFRG5	1p36.3-p36.2
Bone Morphogenetic Protein 2	BMP2	20p12
Bone Morphogenetic Protein 3	BMP3	4p14-q21
Sclerostin	SOST	17q12-q21
Osteoprotegerin	OPG/TNFRSF11B	8q24
RANK	RANK/TNFRSF11A	
18q22.1		
RANKL-ligand/OPG-ligand	RANKL/TNFSF11	13q14
<i>Wnt-signalling pathway</i>		
Low density lipoprotein receptor-related protein 5*	LRP5	11q12
<i>Homocystein pathway</i>		
Methylene TetraHydroFolate Reductase	MTHFR	1p36.3
Cystathionine beta-synthase	CBS	21q22.3
Methionine synthase reductase	MTRR	5p15.3-p15.2
Methyltetrahydrofolate-homocysteine s-methyltransferase	MTR	1q43
Thymidylate synthetase	TYMS	18p11.32
<i>Miscellaneous</i>		
Major Histocompatibility Complex	MHC/HLA	6p21.3
Apolipoprotein E	APOE	19q13.2

(Utterlinden'den, 2006)

2.9.1 *Osteokalsin (OS) Geni ve HindIII (C-298T) Polimorfizmi:*

[=Bone Gamma-carboxyglutamate (gla) Protein (BGLAP)], (MIM:112260).

İnsan osteokasini kodlayan *OS* geni fare ve rat cDNA klonları kullanılarak izole edilmiştir. Üç intron ve 64, 33, 70 ve 130 bç'lik dört ekzondan oluşur (Celeste, 1986) (Şekil 4).

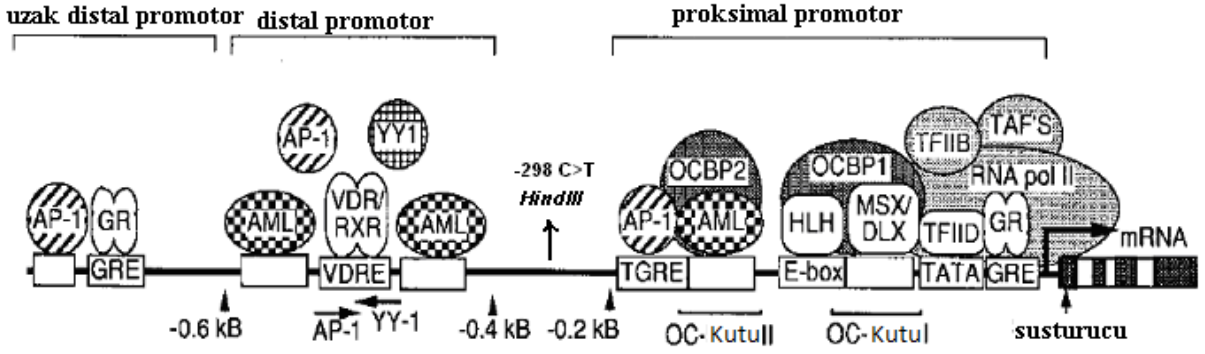


Şekil 4. *OS* Geninin yapısı

OS geni; 1q25-32 lokalizasyonlu, nükleotid dizisi 1075 bç., mRNA'sı 498 bç uzunluğunda olan bir gendir. Kemiğe özgü *OS* geninin ürünü, 100 aa'lık ve 10kD'luk osteokalsin (kemik gama karboksi glutamat asit) proteindir. Osteokalsin, kemik dokusu için, spesifik olan non-kollajen küçük bir proteindir. Daha çok olgun osteoblastlar tarafından sentezlenirken, osteosit, hipertrofik kondrosit, sementoblast ve odontoblastlar tarafından da sentezlenmektedir (Stein ve ark., 1997). Kalsiyum iyonunu kemik matriksine bağlayan osteokalsin, osteoblast sekresyonundan sonra, büyük kısmı osteoid matrikste kalırken, %15-30'u dolaşıma serbest olarak geçer ki, immun tayini yöntemi ile ölçülebilen kısım bu serbest kısmıdır.. Esas olarak böbrekte metabolize edilir ve dolaşımdaki yarı ömrü ise 5 dakikadır. Osteokalsin üretimi, 1,25 Dihidroksi vitamin D, vitamin K ve vitamin C'ye bağlıdır. Osteokalsin çeşitli metabolik kemik hastalıklarında, osteoblast işlevinin doğru yürüdüğüdürün duyarlı ve spesifik bir göstergesidir. Rezorbsiyon sırasında matriksten kana salınır. Yani hem formasyonu hem de rezorbsiyonu gösterir. Osteokalsin miktarı, kemik dönüşümünün hızlı olduğu hiperparatiroidizm, hipertiroidizm, akromegali ve Paget hastalığında yükselir. Yaşlılarda osteokalsinin gama karboksilasyonu bozulmaktadır (Durmaz, 2004).

***OS* geni promotor bölgesi ve incelediğimiz polimorfizmin olası sonuçları;**

Osteokalsin geninin promotor bölgesinde yer alan düzenleyici elementler ve transkripsiyon faktörleri, postproliferasyon transkripsiyonal aktivasyona destek olur ve osteoblast farklılaşması sırasında ekstraselular matriks mineralizasyonunda steroid hormonların etkisini artırır (Stein ve ark., 1997).



Şekil 5. *Osteokalsin* Geni promotor bölgesinin organizasyonu ve transkripsiyonel kontrolü (Stein'den, 1997).

Bazal ekspresyonda bir dizi element rol alır (Şekil 5). Bunlar TATA dizisi (-39/-42) ve *OS* kutu 1 içerisinde merkezi kor olarak da adlandırılan 24 nükleotidlik CCAAT motifidir. Bu iki promotor elementi *OS* geninin transkripsiyonunda önemlidir (Towler ve ark., 1994; Hoffmann ve ark., 1994).

OS kutu1 ve *OS* kutu 2 dokuya özgü transkripsiyonel elementlerdir ve homeodomain proteinlere bağlanır (MSX ve DLX) ve osteoblasta özgü transkripsiyon faktörü oluşturur. Fos-jun-ilişkili proteinler heterodimer oluşturur ve GRE, TGRE (TGF β) ve VDRE'in AP-1 bölgesine bağlanır. VDRE arttırıcı etki göstermektedir. Osteoblast farklılaşması sırasında osteokalsin ekspresyonunu artırır. VDRE/RXR heterodimerik reseptör kompleksi ile maksimum aktivite gösterir. Ayrıca, vitamin D yokluğunda *OS* geni inaktif ya da bazal seviyede eksprese olduğunda VDRE, YY1 transkripsiyon faktörleri ile birleşir. Vitamin D varlığında ise VDRE/RXR kompleksi ile birleşir. Nükleer matriksin bileşeni olan osteoblasta özgü AML-ilişkili transkripsiyon faktörü için şekil 5'te görülen üç bağlanma bölgesi bulunmaktadır. AML ilişkili transkripsiyon faktörü dokuya özgü ekspresyonda görev alır. Kemik ve kemik dışı (timus, dalak) dokulardaki ekspresyonunda AML 1, 2 ve 3 görev almaktadır. Özellikle AML3 farklılaşmış osteoblastlarda artış gösterir ve OCBP2'nin major bileşenidir (Banerjee ve ark., 1997). HLH proteinleri OC kutusu devamındaki E-kutusuna bağlanır. Transkripsiyon RNA pol II, TFIIB, TFIID ve TAF's'lerin promotor bölgeye bağlanması ile başlar (Stein ve ark., 1997) (Şekil.5).

Osteokalsin geninde incelemeyi düşündüğümüz polimorfik bölge, osteokalsin geninin promotor bölgesinde -298 C>T polimorfizmidir (Chen ve ark., 2001). Bu kısım maksimum promotor aktivitesine sahiptir. -298T polimorfik allelinin *OS* geninin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (Dohi ve ark., 1998). Bu durum, kemik organik matriks bileşiminde Osteokalsin düzeyini azaltmaktadır. Farklı Populasyonlarda yapılan *Osteokalsin* Geni *HindIII* Gen Polimorfizmi ile Osteoporoz Arasındaki İlişki Çalışmaları Tablo 3'te görülmektedir.

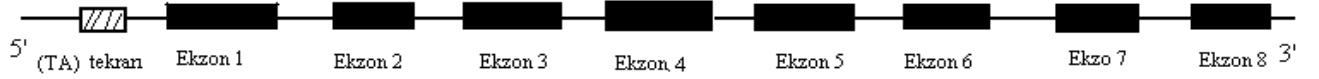
Tablo 3.Farklı Populasyonlarda Osteokalsin Geni-*HindIII* Gen Polimorfizmi ile Osteoporoz Arasındaki İlişki Çalışmaları

Populasyon	(n)*	İlişki P Değeri	Kaynak
Postmenapozal Japon kadınlar	160	P<0,05	Dohi ve ark., 1998
Beyaz Amerikan kadınlar	261	İlişki yok	Sowers ve ark., 1999
Adelosan İsviçreli kadınlar	97	P<0,05	Gustavsson ve ark., 2000
Menopoz sonrası Tayvanlı kadınlar	175	P<0,05	Chen ve ark., 2001
Avrupa kökenli beyaz Amerikalılar	596	P<0,05	Deng ve ark., 2002
Menopoz öncesi Japon kadınlar	279	P<0,05	Yamada ve ark., 2002
Menopoz sonrası Japon kadınlar	817	P<0,05	Yamada ve ark., 2002
Menopoz öncesi Çinli kadınlar	388	İlişki yok	Mo ve ark.2004
Menopoz sonrası Çinli kadınlar	169	İlişki yok	Mo ve ark., 2004
Menopoz sonrası Çinli kadınlar	205	İlişki yok	Zhao HY ve ark., 2005
Menopoz sonrası Koreli kadınlar	267	P<0,05	Kim ve ark., 2006
Menopoz öncesi Çinli kadınlar	402	İlişki yok	Jiang DK ve ark., 2007
Menopoz sonrası kadınlar	996	P<0,02	McGuigan ve ark., 2010
Menopoz öncesi Çinli kadılar	328	P=0,03	Xu ve ark., 2010

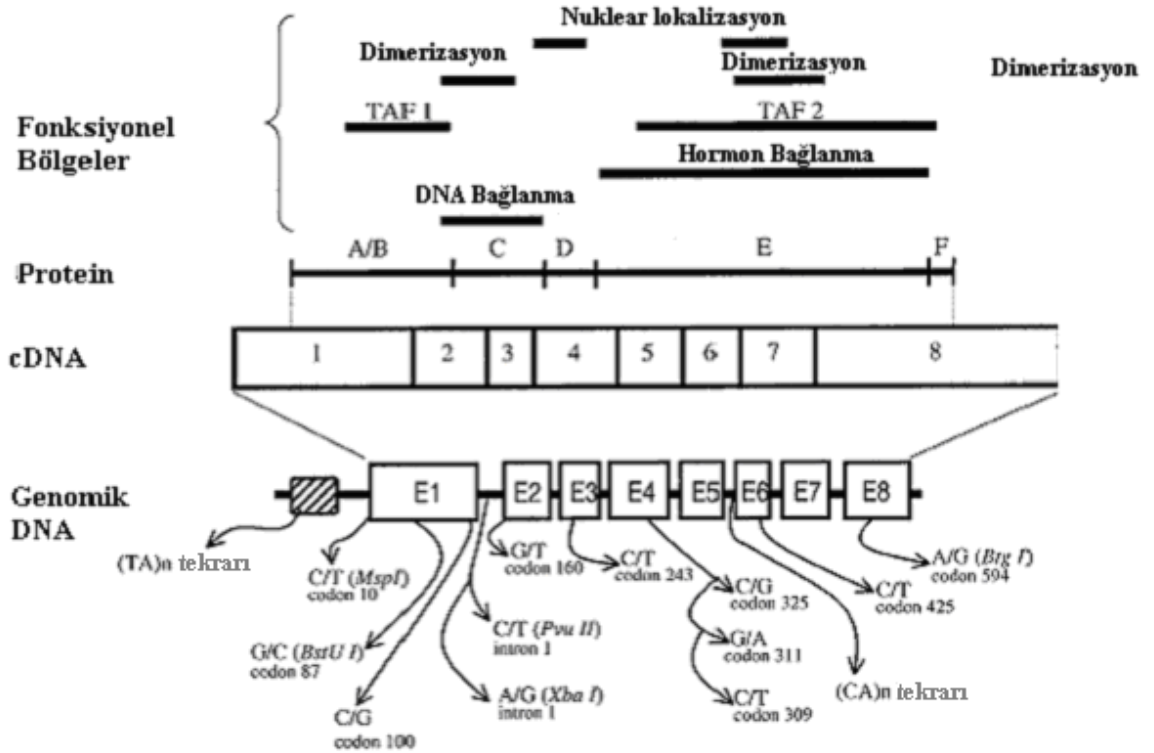
*n: Araştırılan hasta sayısı
p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

2.9.2 Östrojen Reseptör 1 Geni (*ESR1*) ve *Pvu II* (T397C) Polimorfizmi: [=*ER-alfa* (*Estrogen Receptor Alpha* geni)], (MIM: 133430).

Östrojen Reseptörü ilk olarak 1950 yılında Şikago Üniversitesinden Elwood V. Jensen tarafından tanımlanmıştır (Jensen ve Jordan, 2003). *ESR1* geni 1985 yılında Walter ve ark. tarafından klonlanmıştır (Walter ve ark., 1985). 6q25.1 lokalizasyonlu nükleotid dizisi 295720 bç., mRNA'sı 6456 bç., 8 ekzon 7 introndan oluşan ve ürünü 595 aa.'lik östrojen hormonu transmembran proteini olan bir gendir (Şekil 7).



Şekil 6. *ESR1* geninin yapısı



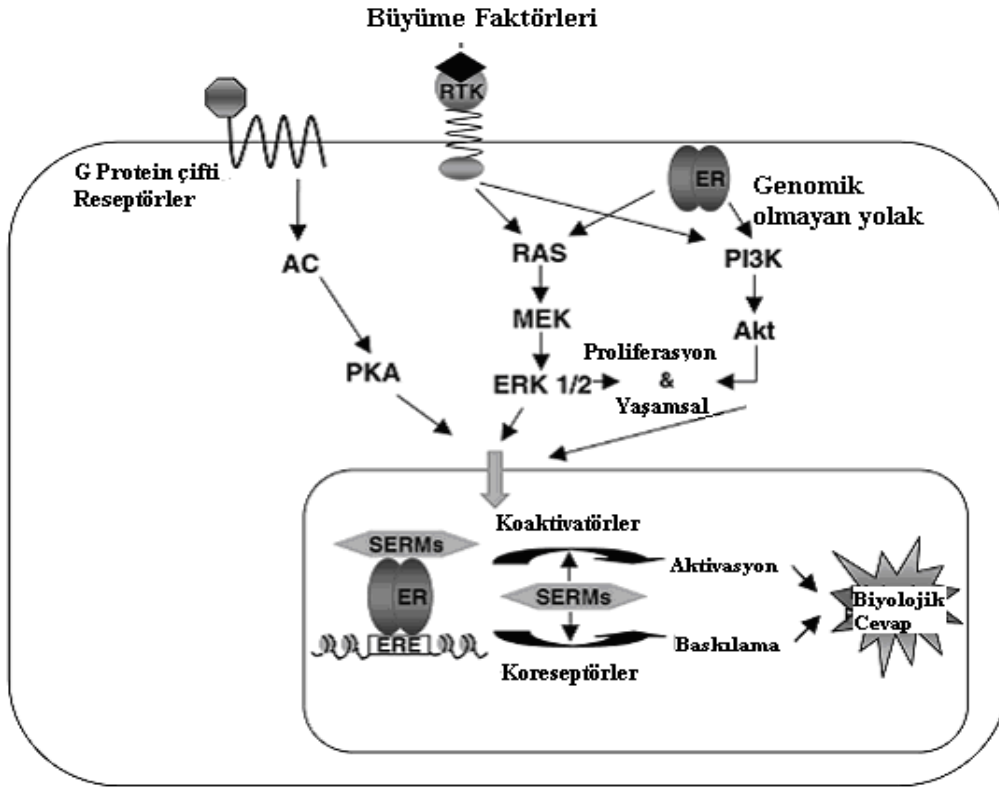
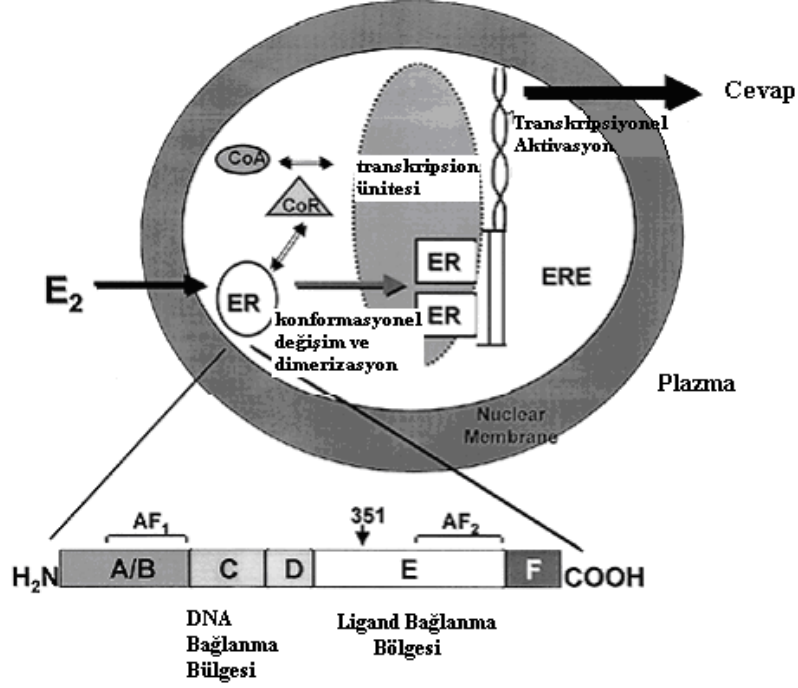
Şekil 7. *ESR1* Geni SNP'leri ve fonksiyonel bölgeleri (Gennari'den, 2005)

Bu genin ürünü olan Östrojen Reseptörü, 17β -estradiol hormonu tarafından aktive olan bir reseptör grubudur. Östrojen reseptörleri iki gruptur. Bir grubu nukleer hormon ailesinden intraselular reseptörlerdir. İkinci grup G protein çifti reseptörleridir (GPR30)(GPCR:G protein coupled receptor). Bizim gen ürünümüz nukleer hormon reseptör grubu ER'dür. ER'lerin ana fonksiyonu DNA'ya bağlanan transkripsiyon faktörleri gibi gen ekspresyonunu regule etmektir. DNA'ya bağlanmasının yanında başka fonksiyonları da bulunmaktadır (Levin, 1951). Östrojen Reseptörünün α ve β olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır ve bunlar sırasıyla *ESR1* (6q25.2) ve *ESR2* (14q) genleri kodlar. Bu reseptörler birçok hücrede hormon ile aktif hale gelerek $ESR\alpha(\alpha\alpha)/ESR\beta(\beta\beta)$ homodimeri ya da $ESR(\alpha\beta)$ heterodimeri şeklinde bulunabilir (Li ve ark., 2004). *ESR1* ve *ESR2* genleri yüksek derecede homoloji gösterir. Alternatif Splays ile *ESR\alpha*'nın üç, *ESR\beta*'nin beş izoformu bulunmaktadır (Nilsson ve ark., 2001; Leung ve ark., 2006). ER'ler geniş eksprese olduğu doku yelpazesine sahip olmakla birlikte, farklılık gösterdiği dokular; *ESR\alpha*; endometrium, meme kanserli hücreler, ovarian stroma hücreleridir. (Yaghmaie ve ark., 2005) *ESR\beta*; böbrek, beyin, kemik, kalp, akciğer, intestinal mukoza, prostat ve endotelial hücrelerde eksprese olur (Babiker ve ark., 2002). ESR'ler liganda bağlanmamış durumda iken, stoplazmik reseptörler şeklindedir. Fakat görüntüleme araştırmaları ER'lerin çekirdekte de görüldüğünü göstermiştir (Hatun ve ark., 1999).

Genomik Sinyal aktarımında; Hormon yokluğunda ESR'ler sitozolde lokalizedir. Hormon reseptöre bağlandığında reseptörün sitozolden çekirdeğe girmesiyle birlikte birçok olay başlar. Bu olaylardan ilki reseptör dimerizasyonudur. Daha sonra reseptör dimerinin hormon response element olarak adlandırılan spesifik DNA bölgelerine bağlanması gerçekleşir. DNA/Reseptör kompleksi transkripsiyon için gerekli diğer proteinleri de toplar. ESR'ler ayrıca hücre çekirdeğinde de bulunur ve her iki ESR alttipi de DNA bağlama bölgesi içerir ve protein üretiminin düzenlenmesinde fonksiyonel olarak transkripsiyon faktörü gibi davranır. Reseptör aynı zamanda çeşitli koaktivatör olarak adlandırılan aktivatör proteinlerle de etkileşir (Levin, 2005).

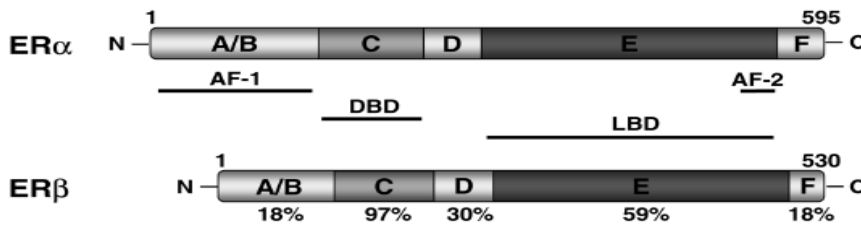
Genomik Olmayan Sinyal aktarımında; Bazı ESR'ler hücre yüzey membranı ile ilişkiye geçerek aktive olur. Bunlara ek olarak, bazı ESR'ler caveolin-1 ile bağlanır ve G proteini, striatin, reseptör tirozin kinaz ya da non reseptör tirozin kinaz (örn.Src) ile kompleks oluşturarak hücre yüzey reseptörü ile ilişki kurar (Levin, 2005; Zivadinovic ve ark., 2005) (Şekil 7). Striatin vasıtasıyla bazı membrana bağlı ER'ler Ca geçişini sağlar ve Ca seviyesi ile NO seviyesi artar (Lu ve ark., 2004). Reseptör Tirozin kinaz vasıtasıyla sinyal

çekirdekdeki MAPK (mitojen aktivated protein kinaz-ERK) ve PI3K (Phosphoinositide 3 kinase/AKT) yoluna aktarılır (Kato ve ark., 1995).



Şekil 8. ESR Geninin Yapısı ve Sinyal Yolağı (Honnie'den, 2008)

ESR'nin her iki formu da transkripsiyonel aktiviteye katkıda bulunan aktivasyon fonksiyon bölgeleri içerir (AFs) (Şekil 8 ve 9). AF-1, amino terminal bölgede (A/B) lokalize olup esas aktif olan bölgedir ve ligand bağımsızdır (Kumar ve ark., 1987; Metzger ve ark., 1995). AF-2 karboksi terminal bölgede yer alır ve ligand bağımlıdır. Mutasyon analizleri ER transkripsiyonu için bu bölgenin önemini gösterir. Çünkü AF-2 ligand bağımlı yolda bir çok transkripsiyonel koaktivör ile ilişkiye geçer (Beato ve sanchez-Pacheo, 1996; L'Horset ve ark., 1996). AF-1 ve AF-2 transkripsiyonu bağımsız olarak aktive edebilir. Şekil 8'de görüldüğü gibi, steroid reseptör kompleksi (ERE) estrogen response elemente bağlanmadan önce koformasyonel değişime uğrar ve dimerize olur. Transkripsiyon ünitesi, RNA sentezini başlatmak için CoA koaktivatör moleküller ile ilişkiye geçer, ki burada, CoR koreseptör moleküllerin transkripsiyonunu engellediğine inanılmaktadır. ER'ler 6 bölgeden oluşmaktadır (A-F). DNA bağlama bölgesi (C), ER'lerin ERE'ler ile etkileşmesinde rol alır. Ligand bağlanma domaini (E), E2'nin bağlandığı bölgedir. ER'nin fonksiyonel alanlarından biri steroid bağlanma bölgesi olan E bölgesidir. Bu bölge östrojenin bağlanması ile konformasyonel değişime uğrar. Bu durum ER'lerin ısı şok proteinlerden ayrılmasına izin verir, dimerize olur ve östrojen responsive geni spesifik DNA dizisine bağlanmasını sağlar. ER'deki yapısal değişim ortaklaşa regülatör proteinlerle (koaktivatör ve koregülatörler) ilişkiye geçmesini sağlar. Bu da ER'ler ile transkripsiyon arasındaki sinyal aracılığı yapar (Horwitz ve ark., 1996).



Şekil 9. ERα ve ERβ yapısı (http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen_receptor)

ESR'lerin; meme, over, prostat, kolon ve endometrial kanserleri (Clemons ve ark., 2002; Fabian ve Kimber, 2005; Haris ve ark., 2003), yaşlanma (Yaghmaie ve ark., 2005) ve obezite (Ohlsson ve ark., 2000) ile ilişkili çalışmalarda rolünün olduğu saptanmıştır.

Ovaryumdan salgılanan östrojen hormonu, kemiğin kalsiyumu tutmasına yardımcı olur. Östrojenin iskelet oluşumu ve gelişiminde yararlı etkileri bulunmaktadır. Bunlar arasında kortikal ve trabeküler kemik metabolizmasının düzenlenmesi, doruk kemik

kütlesine ulaşılması ve kemik kaybının önlenmesi gibi görevleri önemli yer tutar. Östrojen, etkilerini sitozol ve çekirdekte bulunan spesifik östrojen reseptörlerine (ER) bağlanarak gösterir. Bu reseptörler, çekirdek reseptör hormon süper ailesinden olup ligand-indüklenebilir transkripsiyon faktörleridir (Gennari ve ark. 2005). Menopozda hızlı kemik kaybının asıl nedeni östrojen eksikliğidir. Over fonksiyonlarının durmasından sonraki ilk yıllarda başlayan kemik rezorpsiyonu ile formasyonu arasındaki dengesizlik, kemik yıkılışında belirli bir artıştan, özellikle postmenopozal kemik kaybından sorumludur (Garnero ve ark., 1996; Christiansen ve Lindsey, 1991).

İncelemeyi düşündüğümüz polimorfizm, *ESR1* geninin intron 1. intronundaki 397T>C polimorfizmidir (Badres ve ark., 2005). İntragenik regülasyon elementler gen regülasyonunda önemli rol alırlar (Albagha ve ark., 2001). İntron 1 397T>C polimorfizmi (Bandres ve ark., 2005) bölgesi transkripsiyon faktörü *myb*'nin potansiyel tanıma noktasıdır, 397C alleli *myb* transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkileyerek transkripsiyonu azaltır ve ESR daha az miktarda transkribe olur (Gennari ve ark., 2005). Farklı populasyonlarda yapılan *Östrojen Reseptör Alfa Geni PvuII* gen polimorfizmi ile osteoporoz arasındaki ilişki çalışmaları Tablo 4'te görülmektedir.

Tablo 4. Farklı Populasyonlarda Östrojen Reseptör Alfa Geni PvuII gen Polimorfizmi ile Osteoporoz Arasındaki İlişki Çalışmaları

Populasyon Çalışma Alanı,	(n)	İlişki P Değeri	Kaynak
Postmenapozal Japon kadınlar	238	P=0,003	Kobayashi ve ark., 1996
Menopoz sonrası Koreli kadınlar	312	İlişki yok	Han ve ark., 1999
Menopoz öncesi Doğu Çinli kadınlar	64	P<0,05	Ho ve ark. 2000
Menopoz sonrası Doğu Çinli kadınlar	118	P<0,05	Ho ve ark. 2000
Danimarkalı menopozsonrası kadınlar	315	İlişki yok	Bagger ve ark., 2000
İskoçlu kadınlar	220	İlişki yok	Albagha ve ark., 2001
Pekinli Kadınlar	159	P<0,05	Yang ve ark., 2003
Menopoz sonrası Japon kadınlar	286	P<0,05	Kobayashi ve ark., 2002
Menopoz sonrası Koreli kadınlar	174	P<0,05	Nam ve ark. 2005
İspanyol menopoz sonrası kadınlar	177	İlişki yok	Bandres ve ark., 2005
Menopoz sonrası Hintli kadınlar	246	P<0,05	Mitra ve ark. 2006
Menopoz sonrası Amerikan Kadınlar	489	İlişki yok	Rapuri ve ark., 2006
Çinli Kadınlar	4297	P=0,038	Wang ve ark., 2007
Menopoz sonrası İspanyol kadın	719	P=0,03	Bustamente ve ark., 2007
Arjantinli Kadınlar	54 osteopenik 64 osteoporotik	P<0,05	Perez ve ark., 2008
Menopoz sonrası Kadınlar	3054	P=0,009	Albagha ve ark., 2005
Meksikalı Osteoporozlu Kadınlar	100	P<0,0001	Ramirez ve ark., 2010
Menopoz sonrası Kadınlar	126	P<0,05	Erdoğan ve ark., 2010

*n: Araştırılan hasta sayısı

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

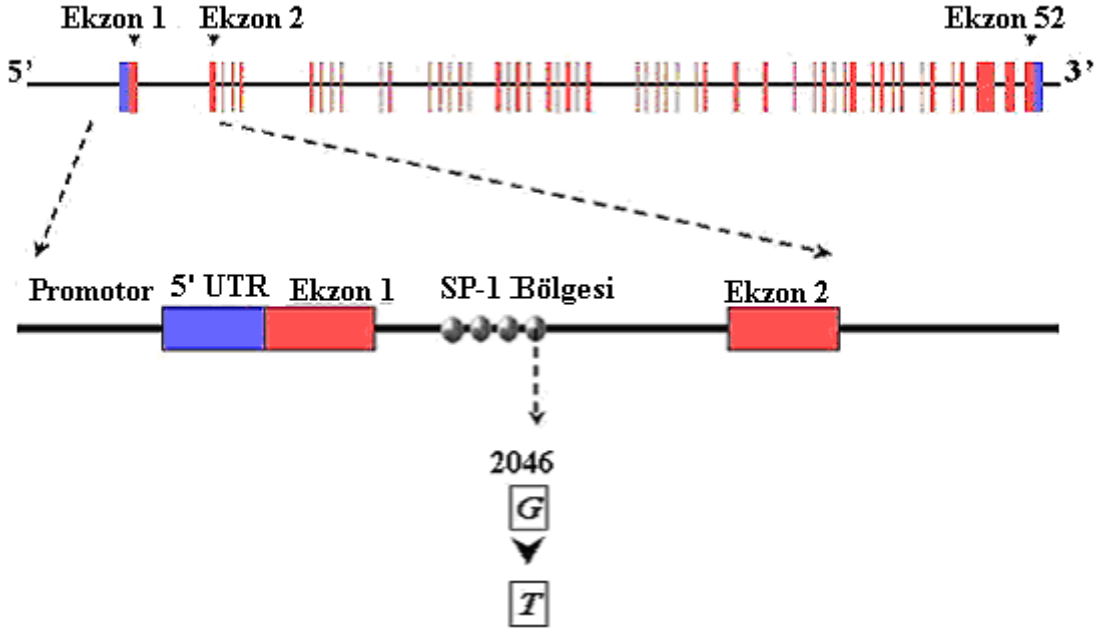
2.9.3. Kollajen Tip1 alfa 1 Geni (*Col1A1*) ve *Sp1* (G2046T) Polimorfizmi:

[=*Collagen Type1 Alpha 1*] (MIM: 120150).

17q21.33 lokalizasyonlu, nükleotid dizisi 17557 bç. ve mRNA'sı 5921 bç. olan 52 ekzon 50 introndan oluşan ve ürünü 1464 aa.'lik kemik matriks bileşenlerinden kollajen tip1 alfa1 proteini olan bir gendir. Kollajen, memelilerde büyük oranda fibroblast ve osteoblastlar tarafından üretilir. Granüllü endoplazmik retikulum lümeninde prokollagen moleküller olarak sentezlenir, golgi aygıtına geçer ve salgı vesikülleri ile ekstraselular alana aktarılır. Kollajen hareket sisteminin yapı taşlarını, özellikle kemik, kıkırdak, lif ve eklemleri oluşturan proteindir. Bu protein birbiri üzerine sarılmış üç alfa zincirinden meydana gelir. 19 tane değişik tipi tanımlanmış olup, tip I, tip II şeklinde isimlendirilir. Bu çeşitlilik moleküler yapıdan kaynaklanmaktadır. Kollajenin ana molekülü tropokollajendir. Tropokollajenler de hücrenin içinde üretilen prokollajenlerden oluşur. Kollajen, dokular arası alanı dolduran ekstraselüler matriksin (ECM) önemli bir bileşenidir. Tip I kollajen ECM'de en fazla bulunan kollajen tipidir (Ghosh, 2002). İki $\alpha 1$ ve bir tane $\alpha 2$ zincirlerinden oluşan heterodimerik bir molekül olan kollajen, *COL1A1* ve *COL1A2* genleri tarafından şifrelenir (Trojanowska, 2002).

Kemiğin organik matriksini oluşturan Tip I kollajen, heliks şeklinde bir proteindir. Molekül uçlarındaki N ve C terminalleri ile çapraz bağlantı yaparak, kemik dokusunun tensil kuvvetini ve temel yapısını oluşturur. Kemik yıkılırken kollajenin N ve C terminal parçaları üzerinde çapraz bağlarla birlikte ortama salınır. Üzerlerine çapraz bağlar eklenmiş bu parçalara telopeptidler denir (Durmaz, 2004). NTX; Ostex (Osteomark) ve CTX; Croslaps (osteometer) olarak bilinir ve kemik yıkımını gösteren en hassas testlerdir (Clemens ve ark., 1997; Rosenquist ve ark., 1998).

İncelediğimiz polimorfizm *Col1A1* genindeki polimorfik bölge intron1'de 2046G>T değişimidir. Polimorfizm bölgesi transkripsiyon faktörü *Sp1*'in bağlanma bölgesidir. Bu bölgedeki polimorfizm transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkileyerek transkripsiyonu artırır. *COL1A1* geninin 1. intronunda bulunan *Sp1* transkripsiyon bölgesi, kollajen transkripsiyonunun kontrolünde önemlidir. Bu bölgede bulunan tek nükleotid polimorfizmi (*Sp1* polimorfizmi, 1546 G-T nükleotid değişimi) *Sp1* transkripsiyon faktörünün bağlanma oranını değiştirerek *COL1A1* proteininin yüksek miktarlarda üretilmesinden sorumlu tutulmaktadır. Fazla miktarda üretilen $\alpha 1$ kollajen zinciri de, $\alpha 2$ kollajen zinciri ile birlikte anormal homotrimer yapıda kollajen oluşumuna sebep olmaktadır (Mann ve ark., 2001; Deak, 1985; Ateş, 2010).



Şekil 10. *Coll1A1* Geninin yapısı (www.genomos.eu/index.php?page=history)

Farklı Populasyonlarda *Coll1A1* Geni 2046G> T Polimorfizmi ile Osteoporoz Arasındaki İlişki Çalışmaları Tablo 5’te görülmektedir.

Tablo 5. Farklı Populasyonlarda *Coll1A1* Geni 2046G> T Polimorfizmi ile Osteoporoz Arasındaki İlişki Çalışmaları

Populasyon Çalışma Alanı	(n)	İlişki P Değeri	Kaynak
Menopoz sonrası İngiliz kadınlar	205 İskoç 94 Londralı	P<0,01	Grant ve ark., 1996
İskoçyalı post menopozal kadın	734	P<0,05	MacDonald ve ark., 2001
Asyalı kadınlar	1873 kadın	İlişki yok	Long ve ark., 2004
Menopoz sonrası İspanyol kadınlar	177	İlişki yok	Bandres ve ark., 2005
Asyalı kadınlar	218 osteoporotik 151 kontrol	İlişki yok	Hubacek ve ark., 2006
Postmenapozal kadınlar	5119	P<0,05	Steward ve ark., 2006
Asyalı Menopoz sonrası kadınlar	177	P<0,05	Nguyen ve ark., 2005
Postmenapozal İspanyol kadınlar	605	P<0,05	Bustamante ve ark., 2007
Maltalı Menopoz sonrası kadınlar	126	İlişki yok	Vidal ve ark., 2007
Meksikalı Kadınlar	100	P<0,00001	Ramirez ve ark., 2009
Menopoz sonrası Türk kadınlar	126	İlişki yok	Erdoğan ve ark., 2010

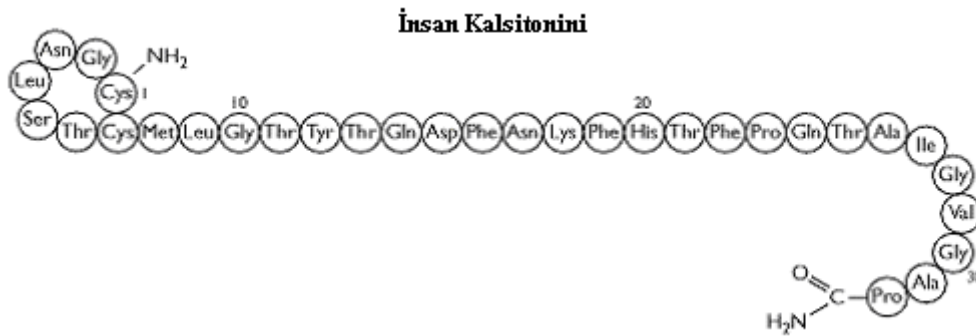
*n: Araştırılan hasta sayısı

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

2.9.4. Kalsitonin Reseptör Geni (CALCR) ve Alu I (T1340C) Polimorfizmi;

[=Calcitonin Receptor), (MIM: 114131).

Kalsitonin hormonu ilk olarak 1962 yılında Copp ve ark.'ları tarafından tanımlanmış (Copp ve ark., 1962) ve 1964 yılında domuz tiroidinden izole edilmiştir (Baghdiantz ve ark., 1964). Kalsitonin Reseptörü ise 1986 yılında rat osteoklastlarından izole edilmiştir (Nicholson ve ark., 1986). Bu gen; 7q21.3 lokalizasyonlu, nükleotid dizisi 51524 bç. ve mRNA'sı 1772 bç. olan, 13 ekzondan oluşan ve ürünü 490 aa.'lık kalsitonin reseptör proteini olan bir gendir. Kan kalsiyumu üzerine paratiroid hormonun aksi yönünde etki eden kalsitonin (CT) hormonu, kan kalsiyum iyon yoğunluğunu da düşürmektedir. Kalsitonin hormonu, kemik hücrelerine bağladığında, hücre membranı üzerinde bulunan kanallardan kemiğe kalsiyum iyonunun geçişi hızlandırır. Osteoklast üzerinde yer alan CALCR, G protein eşikli bir reseptördür. Kalsitonin hormonu, bu reseptöre bağlanır ve Ca hemeostazisini sağlayarak (Purdue ve ark., 2002) kemik formasyonu ve metabolizmasında da rol almaktadır (Dacquin ve ark., 2004). Osteoklastların uyardığı kemik rezorpsiyonunu durdurması esas fonksiyonudur. Etkisini adenilat siklazı aktive ederek gerçekleştirir. Serum iyonize kalsiyum seviyesi sekresyonunu kontrol eder. Kalsitonin hormonu insanda tiroit bezinden, balık, kurbağa, sürüngen ve kuşlarda ise ultimobrankial bezlerden salgılanmaktadır. Kalsitonin, insanda tiroit bezinin folikülleri arasındaki parafoliküller ya da C hücreleri adı verilen hücrelerde bulunmaktadır. Olgun insan kalsitonini, 32 amino grup asitten oluşan (Şekil 11) ve sisteine 1. ve 7. pozisyonlarda bir disülfid köprüsü ile bağlı olan 3418 Da ağırlığında bir peptid zinciridir.



Şekil 11. İnsan Kalsitonini

(eutils.wip.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi...)

Karboksil ucunda prolin yer almaktadır. Kalsitonin, osteoklastların yüzeyinde yerlesen CALCR'yi uyararak, kemik resorpsiyonunu inhibe etmektedir (Copp ve ark., 1962; Copp, 1992). Bu etki, osteoklastların yüzeyinde yer alan ve 7-geçişli transmembran reseptörü

olan *CALCR*'nin aktivasyonunun bir sonucudur. *CALCR* aktivasyonu adenilsiklazı uyararak osteoklastik kemik resorpsiyonunda azalmaya yol açar (Reynolds, 1968; Kallio ve ark., 1972, Chambers ve Moore, 1983; Feldman ve ark., 1980, Chambers ve Dunn., 1983).

İnsan *CALCR* geninin en az altı splicing varyantı vardır ve bunların ikisi CTR-1 ve CTR-2 şeklinde adlandırılan proteinlerdir (Gorn ve ark., 1995; Moore ve ark., 1995; Sexton ve ark., 1999; Albrandt ve ark., 1995, Chen ve ark., 1997). CTR-2' nin kemik resorpsiyonun inhibisyonundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kalsitoninin kemik resorpsiyonunu inhibe etme yeteneği postmenopozal osteoporoz (Avioli, 1998, Halkin ve Reginster, 1998; Wallach ve ark., 1977), Paget's hastalığı (DeRose ve ark., 1974; Douglas ve ark., 1971; Shai ve ark., 1971) ve hiperkalsemi gibi metabolik kemik hastalıklarında kalsitonin kullanımını gündeme getirmiştir (Auerbach ve ark., 1985).

Kemik mineral yoğunluğu ile kırılma ve osteoporoz insidansı ile kemik kaybı oranı arasındaki ilişki çeşitli araştırmacılar tarafından da araştırılmıştır (Moldawer ve ark., 1965; Huff ve Sadler, 1997; Aloia ve ark., 1996; Luckey ve ark., 1996; Dennison ve ark., 1998). Bu çalışmalarda aynı zamanda demografik olarak populasyonlar arasında gözlenen farklılıkları karakterize etmek için etnik parametreler de dikkate alınmıştır. *CALCR* genindeki tek nükleotid polimorfizmi kodlama bölgesinde meydana geldiğinden dolayı ilgi çekmiştir. Literatürlerde iki farklı tanım yapılmıştır. CTR-2 olarak bilinen *CALCR*'nin kısa formunun 1340. nükleotid pozisyonunda meydana gelen timin (T) sitozin (C) baz değişimidir. 447. kodonun üçüncü pozisyonundaki T/C baz değişimi sonucunda lösin yerine prolin kodlanmaktadır. CTR-2'den farklı olarak, CTR-1'de 16 amino grup asitlik araya giren dizi, ilk intraselüler domain içinde yer almıştır. Kalsitonin hormonu ve CTR2 etkileşiminin kemik resorpsiyonunu engellenmesinden sorumlu olduğu düşünüldüğü için in vitro çalışmalarda öncelikle tercih edilmiştir (Wolfe ve ark., 2003). *CALCR*'nin kısa formu CTR-2'de 1340. nükleotid ve 447. kodon, uzun formu CTR-1'de 1377. nükleotid ve 463. kodona karşılık gelir.

İncelediğimiz polimorfizm kalsitonin reseptör geninin 13. ekzonunda yer alan 1340T→C polimorfizmidir. Bu polimorfizmin; transmembran proteininin intraselüler üçüncü domaininde Lösin→Prolin (Leu447Pro) değişimine neden olduğu ve Leu447Pro değişiminin kalsitonin reseptörünün sekonder yapısını değiştirip reseptörün biyolojik aktivitesini değiştirebildiği bildirilmiştir (Taboulet ve ark., 1998).

Farklı populasyonlardaki *CALCR* geni polimorfizmi ile osteoporoz arasındaki ilişki çalışmaları Tabloda 6'da görülmektedir.

Tablo 6. Farklı Populasyonlarda *CALCR* Geni Polimorfizmi ile Osteoporoz Arasındaki İlişki Çalışmaları

Populasyon Çalışma Alanı,	(n)	İlişki P Değeri	Kaynak
Postmenapozal İtalyan kadınlar	307	P=0,01	Masi ve ark., 1998
Postmenapozal Asyalı kadınlar	215	P=0,037	Taboulet ve ark., 1998
Japon kadınlar	152	P=0,024	Nakamura M. ve ark., 2001
Postmenapozal Tayvanlı kadınlar	167	P<0,05	Tsai ve ark., 2003
Postmenapozal İspanyol kadınlar	177	P<0,05	Bandres ve ark., 2005
Postmenapozal Polonyalı kadınlar	139	P<0,05	Drews ve ark., 2005
Koreli Menopoz sonrası kadınlar	729	İlişki yok	Lee ve ark., 2010

*n: Araştırılan hasta sayısı
p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çalışılan *OS*, *ESR1*, *COL1A1* ve *CALCR* genleri ve polimorfizmlerin olası sonuçları Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. Çalışılan Genlerdeki Polimorfizmlerin Olası Sonuçları

Gen	Polimorfizm	Polimorfizmin Etkisi
<i>Osteokalsin (OS)</i>	Promotor -298 C→T	Bu kısım maksimum promotor aktivitesine sahiptir. -298T allelinin <i>OS</i> geninin promoter aktivitesini azalttığı bildirilmiştir Bu genin düşük ekspresyonu, kemik organik matriks bileşiminde osteokalsin düzeyini azalttığı bildirilmiştir (Dohi ve ark., 1998).
<i>Östrojen Reseptör alfa (ESR1)</i>	İntron 1 397 T→C	İntron 1'de 397T>C polimorfizmi bölgesi transkripsiyon faktörü <i>myb</i> 'nin potansiyel tanıma noktasıdır. 397T>C polimorfizminin, C alleli <i>myb</i> transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkileyip transkripsiyonu azalttığı ifade edilmiştir (Gennari ve ark., 2005)
<i>Kalsitonin Reseptör (CALCR)</i>	Ekzon 13 1340 T→C	Bu polimorfizmin transmembran proteininin intraselüler üçüncü domaininde Lösin → Prolin değişimine neden olarak kalsitonin reseptörünün sekonder yapısını değiştirerek reseptörün biyolojik aktivitesini değiştirebilir (Bandres ve ark., 2005).
<i>Kollajen Tip 1 Alfa1 (COL1A1)</i>	İntron 1 1546 G→T	Bu tek nükleotid polimorfizmi; <i>Sp1</i> transkripsiyon faktörünün bağlanma etkinliğini artırarak, <i>COL1A1</i> transkript düzeyini artırır. Böylece bu polimorfizm kollajen α1 ürününün kollajen α2'ye olan oranını artırır. Artmış kollajen α1, anormal homotrimer yapıda kollajen oluşumuna sebep olarak, kemik kompozisyonu ve mekanik gücünü olumsuz etkiler (Mann ve ark., 2001).

2.10. OSTEOPOROZDA TEDAVİ

Osteoporoz tedavisinde amaç; kemik kütlesinin korunması ile kaybın yerine konması, oluşabilecek kırıkların önlenmesi, ağrılı osteoporotik kırıklarda tedavi ile ağrı ve rahatsızlığın azaltılması, hastanın yaşam kalitesinin düzeltilmesi ve mortalite ile morbiditenin azaltılmasıdır (Arasıl ve ark., 2001). Osteoporozun tedavisinde cerrahi girişime nadiren başvurulmakta ve kısa süreli immobilizasyon görülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA GRUBU VE BİYOLOJİK ÖRNEKLERİN ELDESİ

Bu çalışmaya 2005–2010 yılları arasında OMÜ Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Servisi ve polikliniğine başvuran, kemik ve kalsiyum metabolizmasını etkileyen hastalığı olmayan ve daha önce osteoporoz tedavisine yönelik ilaç kullanmayan 266 menopoz sonrası kadın dahil edildi. KMY değerine göre T skoru -2,5'in altında olan 158 kadın hasta osteoporoz grubu olarak alınırken, KMY değeri -1'in üzerinde olan 108 kadın kontrol grubu olarak alındı.

Katılımcıların KMY ölçümü, DEXA (Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometri) yöntemi ile (Norland Excell, USA) lumbar, vertebral, anterior-posterior ve sol kalçadan ölçülerek yapıldı.

Tüm olguların; DEXA sonuçları, meslekleri ve yaşam tarzları bakımından ayrıntılı anamnezleri alındı. Bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Çalışma grubunu oluşturan 158 kadın hastanın yaşları 47–87 yaş aralığında değişiklik gösterdi. Hasta grubunun yaş ortalaması $63,65 \pm 8,615$ (SD) olarak saptandı. Kontrol grubunu oluşturan 108 kadının yaşları 41–77 yaş aralığında değişiklik gösterdi ve yaş ortalaması ise $58,81 \pm 7,974$ (SD) olarak saptandı.

Çalışmanın etik yönden uygulanabilir olduğuna, 04.05.2007 tarihli OMÜ etik kurulu kararıyla onay verildi.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL GEREÇLER

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir:

1. Sükroz (Merck)
2. Tris (Merck)
3. Magnezyum Klorür ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) (Merck)
4. Triton X–100 (Sigma)
5. HCl (Merck)
6. EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (Merck)
7. Sodyum klorid (NaCl) (Merck)
8. Proteinaz K (Sigma)
9. Sodyum dedosil sülfat (SDS) (Fermentas)

10. Saf etanol (Riedel-de Haen)
11. Borik asit (Sigma)
12. Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)
13. Etidyum bromid (EtBr) (Sigma)
14. 6xyükleme boyası (6xloading dye) (sigma)
15. Deoksinükleosit trifosfat seti (Fermentas)
16. Primerler (Metabion, Bio basic, TIB Molbiol)
17. Taq DNA Polimeraz enzimi (Fermentas)
18. Restriksiyon enzimi (BioLabs, Takara)
19. Moleküler belirteç (marker) (Fermentas)
20. Agaroz (Prona)
21. Nu micropor agaroz (Prona)

3.3. KULLANILAN CİHAZLAR VE TEKNİK MALZEMELER

Bu çalışmada kullanılan cihazlar ile teknik malzemelerin listesi aşağıda sunulmuştur. Bu cihaz ve teknik malzemeler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarına aittir.

1. Otoklav (Nüve)
2. Bidistile su cihazı (Nüve)
3. Soğutmalı santrifüj (Nüve)
4. Hassas terazi (Mettler AJ 100)
5. Isıtıcı (Hotplate)
6. Vorteks (Nüve NM 110)
7. pH metre (Hanna)
8. Etüv (Dedeoğlu)
9. Su banyosu (Nüve)
10. Mikrosantrifüj (Hettich)
11. Otomatik pipetler (Ependorf, Socorex, Rainin)
12. Isı dönüştürücü (Thermal cycler) (Biolab)
13. Yatay elektroforez tankı ve güç kaynağı (Scie-Plas)
14. UV spektrofotometrede (Vilber Lourmat)
15. UV transilluminator (Viber Laurmat)

16. UV görüntü analiz sistemi (Biolab)
17. Buzdolabı (Arçelik)
18. Derin dondurucu (Ariston)

3.4. UYGULANAN YÖNTEMLER

Onay formu imzalatılan hasta ve kontrollerden 5'er ml EDTA'lı kan örneği alındı. Alınan kan örneklerinden standart salting-out (yoğun tuz konsantrasyonu ile çöktürme) yöntemi ile DNA saflaştırıldı (Miller ve ark., 1988). Bunu takiben *OS* geninde nükleotid değişimleri Chen ve ark.'larının (Chen ve ark., 2001) *ERS1*, *COL1A1* ve *CALCR* genlerindeki nükleotid değişimleri de Bandres ve ark.'larının tanımlamış olduğu (Bandres ve ark., 2005) PCR-RFLP yöntemleri modifiye edilerek yapıldı.

3.4.1. Kullanılan Solüsyonlar ve Bunların Hazırlanması

Lizis Tamponu: 110 gr sükröz, 20 ml 500mM Tris pH:7.5, 0.81 gr $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ve 10 ml Triton X-100 alınıp karıştırılır ve bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Isıtıcıda iyice karıştırılır. Solüsyon hazırlandıktan sonra, otoklavlanır ve +4°C'de saklanır.

TEN Tamponu: 1 ml 500mM Tris pH:8, 1ml 100mM EDTA ve 1.17 gr NaCl alınıp karıştırılır ve bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra, otoklavlanır ve +4°C'de saklanır.

Proteinaz K Solüsyonu: 10 ml 500mM Tris pH:8.0 solüsyonu içine 0.1 ml 100mM $CaCl_2$ katılır ve 100 mg proteinaz K solüsyonuna eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonu hazırlanmış olur ve -20°C'de saklanır.

%10 SDS: 10 gr SDS alınır ve 100 ml bidistile su içinde çözülür. Oda ısısında saklanır.

Doymuş NaCl Solüsyonu (6M): (Doymuş tuz çözeltisi) 7 gr NaCl bidistile su ile 20 ml'ye tamamlanır. İyice karıştırılır. Oda ısısında saklanır.

TE Solüsyonu: 1 ml 500mM Tris pH:7.5, 0.5 ml 100mM EDTA alınıp bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanır. +4°C'de saklanır.

5×TBE: 54 gr Tris, 27.5 gr Borik asit ve 20 ml EDTA 0.5M pH:8.0 karıştırılıp bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

1×TBE: 100 ml 5×TBE solusyonu üzerine 400 ml bidistile su eklenir. Oda ısısında saklanır.

Ethidium bromid solüsyonu (10 mg/ml): 1 gr ethidium bromid, 10 ml distile su içinde çözünür. Işık almayan bir şişe içinde +4°C'de saklanır. Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde hazırlanır.

EDTA 0.5M pH 8.0: 18.6 gr disodyum EDTA, 80 ml bidistile su içinde çözünür. Solüsyona 2 gr NaOH tableti atılarak eritilir. pH 8.0'a ulaşıncaya bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

Tris 500mM pH 7.5: 6.1 gr Tris üzerine 95 ml bidistile su eklenip iyice çalkalandıktan sonra, yaklaşık 3.25 ml konsantre HCl ilave edilip pH 7.5'a ulaşıncaya, bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

Tris 500mM pH 8.0: 6.1 gr Tris üzerine 95 ml bidistile su eklenip iyice çalkalandıktan sonra, yaklaşık 0.42 ml konsantre HCl ilave edilip, pH 8.0'a ulaşıncaya, bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

EDTA 100mM: 3.72 gr EDTA alınır ve bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

CaCl₂ 100mM: 1.47 gr CaCl₂ alınır ve bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

%70 Etil alkol: 70 ml %99.5 etil alkol alınır ve üzerine 30 ml bidistile su eklenir ve -20°C'de saklanır.

3.4.2. DNA İzolasyonu

Çalışma grubunun kan örnekleri, EDTA içeren vakumlu tüplere, 5'er ml olarak alındı. Kandan DNA izolasyonu "Salting out" (yoğun tuz konsantrasyonunda çöktürme) yöntemi kullanılarak yapıldı (Miller ve ark., 1988).

I. Gün:

1. EDTA'lı tüpteki 5 ml tüm kan 50 ml'lik polipropilen tüpe alındı.
2. Kan örneğinin üzerine, üç katı hacimde (15 ml) lizis tamponu konuldu. Kapağı kapatılıp tüp birkaç kez ters yüz edildi.
3. 2200 rpm'de 4°C'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Üstteki süpernatant atıldı.
4. Lizis tamponu ile yıkama işlemi iki kez daha yapılarak aynı devirde ve sıcaklıkta santrifüj edildi.
5. Üstteki süpernatant atıldı. Dipte kalan çökelti üzerine 3 ml TEN tamponu konuldu ve kısa süre vortekslendi. Daha sonra 200 µl %10'luk SDS ve 50 µl Proteinaz K ilave edildi.
6. Bir gece (yaklaşık 16 saat) 37°C lik etüvde hafif çalkalamayla inkübe edildi.

II. Gün:

1. Ertesi sabah örneklerin üzerine 1 ml 6M'lık NaCl solüsyonu konuldu ve kısa bir süre vortekslendi.
2. 3300 rpm'de 20 dakika oda ısısında santrifüj yapıldı.
3. Üstteki süpernatant 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı ve tekrar 3300 rpm'de oda ısısında 30 dakika santrifüj edildi.
4. Süpernatant başka bir 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı (dipteki çökeltinin süpernatanta karışmamasına dikkat edildi). Çökelti atıldı.
5. Süpernatantın üzerine iki katı hacimde absolü etil alkol ilave edildi. Tüp ağzı kapatılarak hafif şekilde alt üst edilerek DNA çöktürüldü.
6. Pipet ucu ile DNA 15 ml'lik santrifüj tüpünden alındı ve içinde 1 ml % 70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüpüne konuldu.

7. Ependorf Tüp, 14000 rpm'de 10 dakika oda ısısında santrifüj yapıldıktan sonra üstteki alkol su trombu ile çekilerek atıldı. Dipte çöktürülen DNA, tüpün ağzı açık bırakılarak, 37°C'lik etüvde 1 saat kadar bekletildi.
8. DNA örneği üzerine 150 µl TE tamponu katıldı ve tüpün ağzı kapatılarak 37°C'lik etüvde hafif çalkalanarak birkaç saat çözülmeye bırakıldı.
9. DNA örnekleri çözüldükten sonra stok DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.4.3. DNA Miktarının Tayini

Ependorf tüp içine 990 µl steril su koyuldu üzerine stok DNA'dan 10 µl eklendi. İyi vortekslendi ve quartz tüpe aktarılıp UV spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda okundu. 260 nm dalga boyunda okunan değer (OD_{260}) TE solüsyonu içindeki DNA miktarını göstermektedir.

DNA konsantrasyonu = $OD_{260} \times \text{Sulandırma Katsayısı (100)} \times 50 \mu\text{g/ml}$ (çift zincirli DNA'lar için standart) formülü ile hesaplandı.

Çalışılan *OS*, *ESRI*, *ColIA1* ve *CALCR* genlerinin özellikleri Tablo 8'de görülmektedir.

Tablo 8. Çalışılan Genlerin Özellikleri

GEN	(OS)	(ESR1)	(COL1A1)	(CALCR)
OMIM No.	112260	133430	120150	114131
Gen ID No.	632	2099	1277	799
Kromozomal lokalizasyon	1q25-31	6q25.1	17q21.33	7q21.3
Genin uzunluğu	1675 bç.	295721 bç.	17537 bç.	149952 bç.
mRNA uzunluğu	498 bç.	6456 bç.	5921 bç.	3588 bç.
Aminoasit sayısı	100 aa.	595 aa.	1464 aa.	490 aa.
Ekzon, intron sayısı	4 ekzon 3 intron	8 ekzon 7 intron	51 ekzon 50 intron	14 ekzon 13 intron
Polimorfizm	-298 C→T	397T→C	2046 G→T	1340T→C
Polimorfizm yeri	Promotor	İntron 1	İntron 1	Ekzon 13
SNP No.	rs1800247	rs 2234693	rs1800012	rs 1801197
PCR+RFLP kesim ürünleri				
Kullanılan Restriksiyon Enzimi	<i>Hind</i> III	<i>Pvu</i> II	<i>MscI</i> / <i>Bal</i> I	<i>Alu</i> I
Kullanılan Primerler	(F)5'CCGCAGCTCC CAACCACAATAA GCT-3', (R)5'CAATAGGGC GAGGAGT -3'	(F)5'CTGCCACCCTAT CTGTATCTTT'-3, (R)5' ACCCTGGCGTCG ATTATCTGA -3'	(F)5'CTGGACTATTTGC GGACTTTTTGG3' (R)5'GTCCAGCCCTCAT CCTGGCC3'	(F)5'AGGTCCAAACC ACCGTGAAG3', (R)5'GCAGTGGGAG ACTCCATTCC-3'

3.4.4. *OS* Geninin PCR-RFLP Yöntemleri ile Genotiplenmesi

OS geni promotor bölgesi -298'deki C>T polimorfizmi (rs:1800247), Chen ve arkadaşlarının PCR-RFLP yöntemi biraz modifiye edilerek (hibridizasyon sıcaklığı 1°C artırılarak) çalışıldı (Chen ve ark., 2001). Osteokalsin geninin promotor içinde yer alan ve C-T değişimini içeren 253 bç'lik segment, PCR ile çoğaltıldı .

PCR-RFLP yöntemleri ile çalışılan *OS* geni dizileri Tablo 9'da gösterilmektedir. Bu primerlerin, 1675 nükleotidden oluşan ve dört ekzon içeren *OS* geninde promotor üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 12'de belirtilmiştir.

Tablo 9: *OS* geni genotiplemesinde kullanılan primerler

PRİMERLER	
PCR-RFLP	(F)* 5'- CCGCAGCTCCCAACCACAATAAGC T -3'
	(R)* 5'- CAATAGGGCGAGGAGT -3'

*F: forward primer, R: reverse primer

```

1 acggggctga cagtagaaat cacaggctgt gagacagctg gagcccagct ctgcttgaac
61 ctattttagg tctctgatcc ccggttcctc tttagacctt cctagagctc agccagtctt
121 caacctgagg ctgggggtct ctgaggaaga gtgagttgga gctgaggggt ctggggctgt
181 cccctgagag agggggccaga ggcagtgcta agagccgggc agtctgattg tggctcacc
241 tccatcactc ccagggggccc ctggcccagc agccgcagct cccaaccaca atatectctg
                    5' forward primer 3' (Polimorfik
                    Bölge)
301 gggtttggcc tacggagctg gggcggatga ccccaaaata gccctggcag attcccccta
361 gacccgcccg caccatggtc aggcattgcc ctctctatcg ctgggcacag cccagagggt
421 ataaacagtg ctggaggctg gcggggcagg ccagctgagt cctgagcagc agcccagcgc
481 agccaccgag acacc
                    atgag agccctcaca ctctctgccc tattggcctt ggccgcactt Ekzon 1
541 tgcattcgtg gccaggcag                    3' reverse primer 5'
                    g tgagtgtccc cacctccctt caggccgcat tgcagtgggg
601 gctgagagga ggaagcacca tggcccacct cttctcacc ctttggtggtg cagtccttt

661 gcagtctaac caccttggtg caggtccaat ccatttgccc cagctctgcc cttgcagagg
721 gagaggaggg aagagcaagc tgcccagac gcaggggaag gaggatgagg gccctgggga
781 tgagctgggg tgaaccaggc tcccttctct ttgcag
                    gtgc gaagcccagc ggtgcagagt Ekzon2
841 ccagcaaagg tgcag
                    gtatg aggatggacc tgatgggttc ctggaccctc ccctctcacc
901 ctggctccctc agtctcattc cccactcct gccacctcct gtctggccat caggaaggcc
961 agcctgctcc ccacctgatc ctcccaaac cagagccacc tgatgcctgc ccctctgctc
1021 cacag
                    ccttt gtgtccaagc aggagggcag cgaggtagtg aagagacca ggcgctacct Ekzon 3
1081 gtatcaatgg ctggg
                    gtgag agaaaaggca gagctgggcc aaggccctgc ctctccggga
1141 tggctctgtg gggagctgca gcagggagtg gcctctctgg gttgtggtgg gggtagaggc
1201 agcctgccct ggtgggcacc ctggagcccc atgtgtaggg agaggaggga tgggcatttt
1261 gcacgggggc tgatgccacc acgtcgggtg tctcaga

                    gcc ccagtcctct acccggatcc
1321 cctggagccc aggagggagg tgtgtgagct caatccggac tgtgacgagt tggctgacca Ekzon 4
1381 catcggcttt caggaggcct atcggcgctt ctacggcccc gtctag
                    ggtg tcgctctgct
1441 ggcctggcgc gcaaccccag ttctgctcct ctccaggcac cctctctccc tctctccctt
1501 gcccttgccc tgacctccca gccctatgga tgtggggctc ccatcctccc agctgctccc
1561 aaataaactc cagaagagga atctgtgggc ctgtgagtct gtccagttta tggagtgtgg
1621 gagggaggtg tcaggaggat gggggtgagg aggttttacc ttcttcagtt ctaga

```

Şekil 12: OS geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki forward ve reverse bağlanma bölgeleri ile polimorfik bölgesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/224589800/?from=156211951&to=156213112&report=genbank>)

Öncelikle 158 hasta ve 108 kontrole PCR yöntemi uygulandı. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 10'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 10: OS geni PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1×Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0,5 µl	200 µM
Primer forward (100 pmol/ µl)	0,10 µl	10 pmol
Primer reverse (100 pmol/ µl)	0,10 µl	10 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2µl)	2 µl	200 ng
Taq DNA polimeraz (1u/ 2µl)	2 µl	1 u
Steril bidistile su	15,8 µl	-
Toplam	25 µl	

Reaksiyon karışımları ve elde edilen DNA'lar, PCR tüplerine konduktan sonra, termal cyclus cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 8 dk ilk denaturasyon, 35 döngülük: 94°C'de 30 sn denaturasyon, 64°C'de 30 sn hibridizasyon, 72°C'de 1 dk uzama ve son olarak 72°C'de 10 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim hot start olarak uygulandı. *OS* genine ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %2'lik agaroz jelde yürütülerek 253 bp büyüklüğündeki ürün bandı gözlemlendi. Amplifikasyondan sonra *OS* genine ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 11'da belirtilen RFLP reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5'... A↓AGCTT...3' ve 3'... TTCGA↑A...5' şeklinde olan *Hind* III kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 11: *OS* geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×R Buffer	1,5 µl	1× R Buffer
PCR ürünü	10 µl	-
<i>Hind</i> III kesim enzimi (10 u/µl)	0,4 µl	4 u
Steril bidistile su	3,1 µl	-
Toplam	15 µl	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %2.5'lük agaroz jelde yürütülerek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

CC (yabanıl) homozigot	232 bç, 21 bç
CT heterozigot	253 bç, 232 bç, 21 bç
TT (varyant) homozigot	253 bç

3.4.5. *ESRI* Geninin PCR-RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi

Östrojen Reseptör alfa geninin intron 1'deki 397T>C polimorfik bölgesi (rs2234693), Bandres ve ark.'larının PCR-RFLP yöntemi modifiye edilerek (denaturasyon süresi 30sn arttırıldı, hibridizasyon derecesi 4°C ve süresi 30sn arttırıldı, uzama süresi 75sn arttırıldı, son uzama 10dk'ya çıkarıldı ve 35 döngü uygulandı) tanımlandı (Bandres ve ark, 2005). *ESRI* geninin intron 1'deki T>C transisyonunu içeren 1361 bç'lik segment, PCR ile çoğaltıldı. *ESRI* geni PCR-RFLP yöntemleri için kullanılan primerlerin dizileri Tablo 12'de gösterilmektedir. Bu primerlerin, 297588 nükleotidden oluşan ve sekiz ekzon içeren *ESRI* geninde intron 1 üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 13'de gösterilmiştir.

Tablo 12: *ESRI* geni genotiplenmesinde kullanılan primerler

PRİMERLER	
PCR-RFLP	(F)* 5'- CTG CCA CCC TAT CTG TAT CTT T -3' (R)* 5'- ACC CTG GCG TCG ATT ATC TGA -3'

*F: forward primer, R: reverse primer


```

35461 tacctccttc cttccagtct tcttcaagtt gtcttcattg aggcaatttc ttttacctgt
35521 gtttttaate ccaactcctc tagtttcctt cttggettta ttcttttate ttcctctttg
35581 tgctttcaaa catteccctt ctcctggccc atgcccctca gtctacacga ggccttctca

35641. agtctcttca ttctaaaaaa ttcattttct tgggtcttat attcttca gc tgcaccctca
5' forward

35701 tctgtatctt ttcctattct cctccaagtt ctcaaaggaa tgccttcctt cattttcctc
primer 3'

35761 tccttacatt ccattctgctg aattttggct tgtgcctgta cctgtctaag gaaactcctt
35821 gctaagagtc tgctttgtca ggtctgaatt cacttaacca gtctttgctt tgttggactt
35881 ctctgcccc a ttggccatc ttgatcatcc tctccataaa cctttctact taaagcattt
35941 tacttcctta ttttcttgggt tttcctagaa tctcctact gttcattttc agcttccttt
36001 ctgtgttctt cttctcttcc tacatttttt tttagcttct tactttctta aagcatttta
36061 cttccttatt ttcttgggtt tcttagaatt ttcttactgt tcattttcag tttcctttct
36121 gtgttcctct gattgtctct cttctacat ttttttttct tgtgttctct tgattttcac
36181 gcagtctgga gttgtcatga tcaatcatag cctactgcag cctcgacatc ctaggctcaa
36241 gtgattctcc cacctcagcc ttacaagtag ctaggactac agtcacacat caccattctc
36301 agctaatttt ttttaagaagc atttttatag agatggagtc ttgctatatt gtgcaggctg
36361 ggctcaaac acagggctta aacaattctc ctgctttggc ctcccaaagt gctgggattc
36421 caggcatgaa ccaccatgct cagtctctac atgttctctaa agaggagttt tgaatattga
36481 agaacagtat tttcaaatca cattattcaa gttataaaaa ctgatatcca gggttatgtg
36541 gcaatgacgt aaaaatttga atgtttattt ttttgacaca tgttctgtgt tgtccatcag
36601 ttcattctgag ttccaaatgt cccagctggt ttatgctttg tctctgttct ccagagacc

(Polimorfik Bölge)

36661 tgagtgtggt ctagagttgg gatgagcatt ggtctctaatt ggttctgaaa taattgtata
36721 ttcctgcaaa aacattaagt ctattagaaa ccagctaatt tcattttgtc atttttatag
36781 gtaacatatt ctgggtgcagg tagtatgttt ttaaaacaag ttgcaataa acaatttccc
36841 ctcaagggtta atataatagg caacaccttt tgctgcaaca gacggcaaga ggtaatgaaa
36901 gattagctta cattatgatt cattatttca aaatgtcagg ataaagtgga tctgctgcat
36961 ctcccagaga gtgcatgttt tgcttttctta atgttaatgg atttactggt tttttccccc
37021 caggccaaat tcagataatc gacgccaggg tggcagagaa agattggcca gtaccaatga
3' reverse primer 5'

37081 caaggggaagt atggctatgg aatctgccc aaaggactcgc tactgtgcag tgtgcaatga
37141 ctatgcttca ggctaccatt atggagtctg gtcctgtgag ggctgcaagg cctcttccaa
37201 gagaagtatt caaggtaata gtgtgttgaa aacgacttct atttttgatc ctatgagcag
37261 atcctaagag ccaaagcgac tgaggaagga agacatagaa tcagccattt gtacaaaaca Ekzon 2
37321 tgaatcccta gtaggccac tagtatcttt ggtagaaaaca tggagaagag acaggatctc

661 gcagtctaac caccttggtg caggetcaat ccatttgcct cagctctgcc cttgcagagg
721 gagaggaggg aagagcaagc tgcccagac gcaggggaag gaggatgagg gcctggggga
781 tgagctgggg tgaaccaggc tccctttcct ttgcag
gtgc gaagcccagc ggtgcagagt Ekzon2

841 ccagcaaagg tgcag
gtatg aggatggacc tgatgggttc ctggaccctc cctctcacc
901 ctggctccctc agtctcattc cccactcct gccacctcct gtctggccat caggaaggcc
961 agcctgctcc ccacctgac cteccaaacc cagagccacc tgatgctgct cctctgctc
1021 cacag
ccttt gtgtccaagc aggagggcag cgaggtagtg aagagaccca ggcgctacct Ekzon 3
1081 gtatcaatgg ctggg
gtgag agaaaaggca gagctgggcc aaggccctgc ctctccggga
1141 tggctctgtg gggagctgca gcagggagtg gcctctctggt gttgtggtgg gggtagagcc
1201 agcctgcctt ggtgggcacc ctggagcccc atgtgtaggg agaggagggga tgggcatttt
1261 gcacgggggc tgatgccacc acgtcgggtg tctcaga

```

Şekil 13: *ESRI* geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri ile polimorfik bölgesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/224589818/?from=152011631&to=152424409&report=genbank>)

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 13'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 13: *ESRI* geni PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1×Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0,5 µl	200 µM
Primer forward (100 pmol/ µl)	0,2 µl	20 pmol
Primer reverse (100 pmol/ µl)	0,2 µl	20 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2µl)	2 µl	200 ng
Taq DNA polimeraz (.51u/ 2µl)	2 µl	1.5 u
Steril bidistile su	15,6 µl	-
Toplam	25 µl	

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra thermal cyler cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 10 dk ilk denaturasyon, 35 döngülük: 94°C'de 1 dk denaturasyon, 64°C'de 1 dk hibridizasyon, 72°C'de 1.5 dk uzama ve son olarak 72°C'de 10 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim ön denaturasyon aşamasından (hot start) sonra eklendi. *ESRI* genine ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %2'lik agaroz jelde yürütülerek 1361 bp büyüklüğündeki ürün gözlemlendi. Çoğalmayan örnekler tekrar çalışıldı.

Amplifikasyondan sonra *ESRI*'e ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 14'da belirtilen RFLP reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5'... CAG↓CTG...3' ve 3'... GTC↑GAC...5' şeklinde olan *Pvu II* kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 14: *ESRI* geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×G Buffer	1,5 µl	1× G Buffer
PCR ürünü	10 µl	-

<i>Pvu II</i> kesim enzimi (10 u/ μ l)	0,4 μ l	4 u
Steril bidistile su	3,1 μ l	-
Toplam	15 μ l	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %2'lik nu mikropor jelde yürüterek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

TT (yabaml) homozigot	927 bç, 434 bç
TC heterozigot	1361 bç, 927 bç, 434 bç
CC (varyant) homozigot	1361 bç

3.4.6. *Coll1A1* Geninin PCR RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi

Coll1A1 geninin intron 1'deki 2046 G→T polimorfik bölgesi (rs1800012), Todhunter ve ark.'larının uyguladığı PCR-RFLP yöntemi biraz modifiye edilerek (35 döngüye çıkarılarak) tanımlandı (Todhunter ve ark., 2005). *Coll1A1* geninin intron 1deki G→T transisyonunu içeren 255 bç'lik segment, ilk olarak McKenna ve ark.'larının yöntemi doğrultusundaki primerler kullanılarak PCR çoğaltılmaya çalışıldı. Fakat, PCR ürünü elde edilemedi (McKenna ve ark., 2004). Daha sonra, Todhunter ve ark.'larının kullandığı primerlerle çalışıldı ve PCR ürünü elde edildi.

Coll1A1 geni PCR-RFLP yöntemleri için kullanılan primerlerin dizileri Tablo 15'de gösterilmektedir. Bu primerlerin, 17537 nükleotidden oluşan ve 52 ekzon içeren *Coll1A1* geninde intron 1 üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 14'de belirtilmiştir.

Tablo 15: *Coll1A1* geni genotiplenmesinde kullanılan primerler.

PRİMERLER	
PCR-RFLP	(F)* 5'- CTG GAC TAT TTG CGG ACT TTT TGG-3'
	(R)* 5'- GTC CAG CCC TCA TCC TGG CC -3'

*F: forward primer, R: reverse primer

121 ctagacatgt tcagctttgt ggacctcgg ctctgetcc ttttagcggc caccgacctc
 181 ctgacgcacg gccaaagagga aggccaaagtc gagggccaag acgaagacag taagtcccaa
 241 acttttggga gtgcaaggatactctatatac gcgccttgcg cttggteccg ggggcccggg
 301 cttaaaacga gacgtggatg atccggagac tcgggaatgg aaggagatg atgagggctc
 361 ttctcggcg ccctgagaca ggagggagct caccctgggg cgaggttggg gttgaacggc
 421 ccccgggagc gggaggtgag ggtggagcgc ggcgtgagtt ggtgcaagag agaatcccga
 481 gcgcgcaacc ggggaagtgg ggatctgggt gcagagtgag gaaagcacgt cgaagatggg
 541 atggggggcg cgagcggggc atttgaagcc caagatgtag aagcaatcag gaaggccgtg
 601 ggatgattca taaggaaaga ttgccctctc tgcgggctag agtgttgctg gggccgtggg
 661 ggtgctgggc agccgcggag ggggtgcgga gcgtggcgcg gtggaggatg agaaactttg
 721 gcgcgggactc ggcggggcg ggtccttgcg cccctgctg accgatgctg agcactgctg
 781 ctcccggctc aacgcttact ggggcaggag ccggagcggg aagaccgggttattgctgg
 841 gtgcggaccc ccacctctag atctggaaag taaagccagg gatggggcag cccaagcctc
 901 ttaaagaggt agtcggggcg gtgaggtcgg ccccgccccg gccccattgc ttagcgttgc
 961 ccgacaccta gtggccgtct ggggagccgc tagcgcggtg ggagtggta gctaacttct

Ekzon 1

5' forward

primer 3'

1021 ggactatttg cggacttttt ggttctttgg ctaaaagtga cctggaggca ttgctggct
 1081 ttgggggact ggggatggcc ccgagagcgg gcttttaaga tgtctagggtg ctggagggtta

```

1141 ggggtgtctcc taatTTTgag gtacatttca agtcttgggg gggcctccct tccaatcagc
1201 cgctcccatt ctctagccc cgccccgcc accccacctg cccagggaat gggggggga
(Polimorfik bölge)
3' reverse

primer 5'
1261 tgagggtgg acctcecttc tctctctctc cgcctctctc ctgtctctac cagcgaagcc
1321 actccccacg agcctgcctt cccgatgggg cccctcctat tctccccccg cctctccccct
1381 ctccacctgt ggtTTTTatttcaacttggct tcagcgccaa tgggctgagg ttggagttgg
1441 aagccaccgc ggactaaagc tttgtttaaa ttctgagaa ctggaaagag ttacagcctc
1501 cctggccagg cgcctcggcg ctgtcaccctg cgctgatgag gagcaggcga gcttttaagg
1561 atttgaggaa agaagaacgg ggggaggggc ggaagttaa aaatccaagt gtgcctctta
1621 gaccggggg aaaggtggtt aagctggggg ttgcagtcac tactgacaac gcccctcttc
1681 cgctgtccc agtcccacca atcacctgcg tacagaacgg cctcaggtac catgaccgag
1741 acgtgtggaa acccgagccc tggcgatct gcgtctgcca caacggcaag gtgttgtgcg
1801 atgacgtgat ctgtgacgag accaagaact gccccggcgc cgaagtcccc gagggcgagt
1861 gctgtccgt ctgccccgac ggctcaggtg cggctgcgct cggggcctgg ggctggggc
1921 ctggggcctg gggcctgggg ctggggctgg ggggtggcgg cgctcgctgg cctctcgctg
1981 tggaggcctc tgccgacggg agcagcatta gcaaaccttg gctctaacgc gcgtctcttc

```

Ekzon 2

Şekil 14: *ColIA1* geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri ile polimorfik bölgesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/224589808/?from=48261457&to=48279000&strand=true&report=genbank>)

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 16'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 16: *ColIA1* geni PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1×Tampon

MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0,5 µl	200 µM
Primer forward (100 pmol/ µl)	0,15 µl	20 pmol
Primer reverse (100 pmol/ µl)	0,15 µl	20 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2µl)	2 µl	200 ng
Taq DNA polimeraz (1.25u/ 2µl)	2 µl	1.25 u
Steril bidistile su	15,6 µl	-
Toplam	25 µl	

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra thermal cyler cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 5 dk ilk denaturasyon, 35 döngülük: 94°C'de 1 dk denaturasyon, 64°C'de 1 dk hibridizasyon, 72°C'de 1 dk uzama ve son olarak 72°C'de 7 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim ön denaturasyon aşamasından (hot start) sonra eklendi. *Col1A1* genine ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %2'lük agaroz jelde yürütülerek 255 bp büyüklüğündeki ürün gözlemlendi. Çoğalmayan örnekler tekrar çalışıldı. Amplifikasyondan sonra *Col1A1* genine ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 17'de belirtilen RFLP reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5'... TGG↓CCA...3' ve 3'... ACC↑GGT...5' şeklinde olan *MisI(BalI)* kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 17: *Col1A1* geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10×R Buffer	1,5 µl	1× R Buffer
PCR ürünü	10 µl	-
<i>MisI(BalI)</i> kesim enzimi (10 u/µl)	0,4 µl	4 u
Steril bidistile su	3,1 µl	-
Toplam	15 µl	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %3'lük nu mikropor jelde yürüterek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

GG (yabancıl) homozigot	237 bç, 18 bç
GT heterozigot	255bç, 237 bç, 18 bç
TT (varyant) homozigot	255bç

3.4.7. *CALCR* Geninin PCR RFLP Yöntemi ile Genotiplenmesi

CALCR geninin ekzon 13'deki 1340 T→C polimorfik bölgesi (rs1801197), Bandres ve arkadaşlarının uyguladıkları PCR-RFLP doğrultusunda tanımlandı (Bandres ve ark, 2005). *CALCR* geninin ekzon 13 deki T>C transisyonunu içeren 443 bç'lik segment, PCR ile çoğaltıldı. *CALCR* geni PCR-RFLP yöntemleri için kullanılan primerlerin dizileri Tablo 18'de gösterilmektedir. Bu primerlerin, 149952 nükleotidden oluşan ve 13 ekzon içeren *CALCR* geninde ekzon 13 üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 15'de belirtilmiştir.

Tablo 18: *CALCR* geni genotiplenmesinde kullanılan primerler

PRİMERLER	
PCR-RFLP	(F)* 5'- AGG TCC AAA CCA CCG TGA AG -3'
	(R)* 5'- GCA GTG GGA GAC TCC ATT CC -3'

*F: forward primer, R: reverse primer

147481 cttatcaggg atggtagcat ataaaaagtt tggccaacct ttctccctat tatgacatgt
 .47541 ataccacatt acctgtgaaa ccaaatcaac ttttattcat tggatatgaa agctaaagaa
 .47601 accttttctt aaaactagca aacaaccttg ccaggggtaa ttaagcaag taactcagtt
 .47661 ctcccatctg caaattcttc ttccaagttg atatattctg tggccacagc atacacagcc
 .47721 cagcccttta gatcagaatt acaatttaac tttctttaa tctgataagc tctaagaacg
 .47781 atgttcgtac actttgcatg gatcatttct gactatcata taaaaacaag gctcctttt
 47841 ctcttccagg tccaaaccac cgtgaagcgc caatgggccc aattcaaat tcagtggaac

5' Forward Primer 3'

.47901 cagcgttggg ggagggccc ctccaaccgc tctgctcgcg ctgcagccgc tgctgcggg
 .47961 gctggcgaca tcccaattta catctgcCat caggagcTga ggaatgaacc agccaacaac

Ekzon 13

(Polimorfik Bölge)

.48021 caagggcagg agagtgctga gatcatcctt ttgaatatca tagagcaaga gtcactctgt
 .48081 tgaatgtgaa gcaaacacag catcgtgatc actgagccat catttctctg gagaaagacc
 .48141 atgcatttaa agtattctcc atcctcccag gaaccgaaca tatcatttgt gaagaattat
 .48201 tcagtgaatt tgtccattgt aaatctgaag aaagttattc ttgggtactgt tgctttggga
 .48261 gacagtctag gaatggagtc tccactgca acttgtgaac tccatcattc atccaggact
 3' Reverse Primer 5'

148321 gagatgcaaa tgtcacagta atgcaagcaa agtatcaaag aaaaacaatg aaattgacct
 148381 agttcagata cagggtgctc cttgtcaata ctgagccatt tatacctttg aaatattaaa
 148441 atcactgtca atatttttat ttttaactct ggattttgaa ttagattatt tctgtatttg

Şekil 15: *CALCR* geni genomik DNA dizisi ve bu gene ait bölgeyi çoğaltmada kullandığımız primerlerin gen üzerindeki bağlanma bölgeleri ile polimorfik bölgesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/224589819/?from=93053799&to=93203750&strand=true&report=genbank>)

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda 25 µl'lik reaksiyon karışımı içindeki girdilerin miktarları Tablo 19'de gösterildiği gibi belirlendi.

Tablo 19: *CALCR* geni PCR'ı için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
---------------------	--------------------------	---------------------

10×Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1×Tampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (25 mM)	0,5 µl	200 µM
Primer forward (100 pmol/ µl)	0,15 µl	20 pmol
Primer reverse (100 pmol/ µl)	0,15 µl	20 pmol
Genomik DNA (200 ng/ 2µl)	2 µl	200 ng
Taq DNA polimeraz (1.25u/ 2µl)	2 µl	1.25 u
Steril bidistile su	15,6 µl	-
Toplam	25 µl	

Reaksiyon karışımı ve elde edilen DNA'lar PCR tüplerine konduktan sonra ısı dönüştürücü (thermal cycler) cihazına yerleştirildi. En uygun PCR amplifikasyon koşulları, optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlendi. Amplifikasyon koşulları; 94°C'de 10 dk ilk denaturasyon, 40 döngülük: 94°C'de 30 sn denaturasyon, 60°C'de 30 sn hibridizasyon, 72°C'de 45 sn uzama ve son olarak 72°C'de 7 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Enzim ön denaturasyon aşamasından (hot start) sonra eklendi. *CALCR*'ye ait olan PCR ürünleri etidium bromid ile boyanmış %2'lük agaroz jelde yürütülerek 443 bp büyüklüğündeki ürün gözlemlendi. Amplifikasyondan sonra *CALCR*'ye ait PCR ürünlerinin her biri Tablo 20'de belirtilen RFLP reaksiyon karışımı oluşturulup tanıma bölgesi 5'... AG↓CT...3' ve 3'... TC↑GA...5' şeklinde olan *AluI* kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat kesime bırakıldı.

Tablo 20: *CALCR* geni RFLP için her bir örnek başına oluşturulan reaksiyon karışımı

RFLP bileşeni (stok)	15 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyon
10× Buffer Tango	1,5 µl	1× Buffer Tango
PCR ürünü	10 µl	-
<i>AluI</i> kesim enzimi (10 u/µl)	0,4 µl	4 u
Steril bidistile su	3,1 µl	-
Toplam	15 µl	

RFLP kesim ürünleri, etidium bromid ile boyanmış %3'lük nü mikropor jelde yürüterek görüntülendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

CC (yabanıl) homozigot	294 bç, 149 bç
TC heterozigot	443bç, 294 bç, 149 bç
TT (varyant) homozigot	443bç

3.4.8. Agaroz Jelin Hazırlanışı

Çalışmamız için % 2'lik agaroz jel ve % 3'lük nu micropor agaroz jel hazırlandı. Bunlar için sırasıyla 2 gr agaroz ve 3 gr nu micropor agaroz tartıldı. Ayrı ayrı erlen mayere alınan bu agarozların üzerine 100 ml 1XTBE eklenip mikrodalgada iyice çözünene kadar kaynatıldı. Sonradan soğumaya bırakılan jelin sıcaklığı 80 °C'ye ulaşınca üzerine (çeker ocak açık haldeyken) 100µl EtBr (0.5mg/ml'lik çalışma solüsyondan) eklendi ve jel iyice çalkalanıp tarağı yerleştirilmiş olan jel kabına döküldü. En az 1 saat beklenip jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp jelde oluşan kuyulara PCR ürünleri yüklendi.

3.4.8. Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

15 µl PCR ürünü, RFLP ürünü, 3 µl 6X jel yükleme boyası (6X loading dye) ile karıştırılarak jeldeki kuyulara yüklendi. Kuyulardan birine ise 2µl pUC19 DNA/MspI (HpaII) veya ΦX174 DNA/BsuRI (HaeIII) adlı moleküler belirteçlerden (maker) biri, 3µl 6X jel yükleme boyası ve 13µl 1×TBE solüsyonu ile karıştırılarak yüklendi. Elektroforez 125 volt'da 30 dk süreyle yapıldı. Elektroforez sonunda, jel >320 nm boyunda transillüminatörde incelenerek belirteç ve DNA'ların gittikleri mesafelerden yararlanarak, DNA fragmentlerinin uzunluğu hesaplandı. Jel fotoğrafları, UV görüntü analiz sisteminde çekildi.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

SPSS istatistik programı kullanılarak klinik bulgular ile genotipler arasında korelasyon analizi yapıldı. Ayrıca, hasta ve kontrol grupları arasındaki allel ve genotip frekanslarını karşılaştırmak için Ki kare, olasılık oranları (OR) ve P değeri hesaplandı. SPSS ve OpenEpi istatistik programları (Dean ve ark., versiyon 2.3.1) kullanılarak

kompozit genotip analizi yapıldı. Örneklem sayısı 25'in üzerinde olduğunda Pearson Ki-kare, 25'in altında olduğunda ise Yates Ki kare kullanıldı. Örneklem sayısı 5'in altında olduğunda Fisher exact veya Mid-P exact uygulandı.

Elde edilen sonuçlar; polimorfik bölgeler ile osteoporoz oluşumu arasında bir ilişkinin bulunup bulunmadığı amacıyla değerlendirildi.

3. BULGULAR

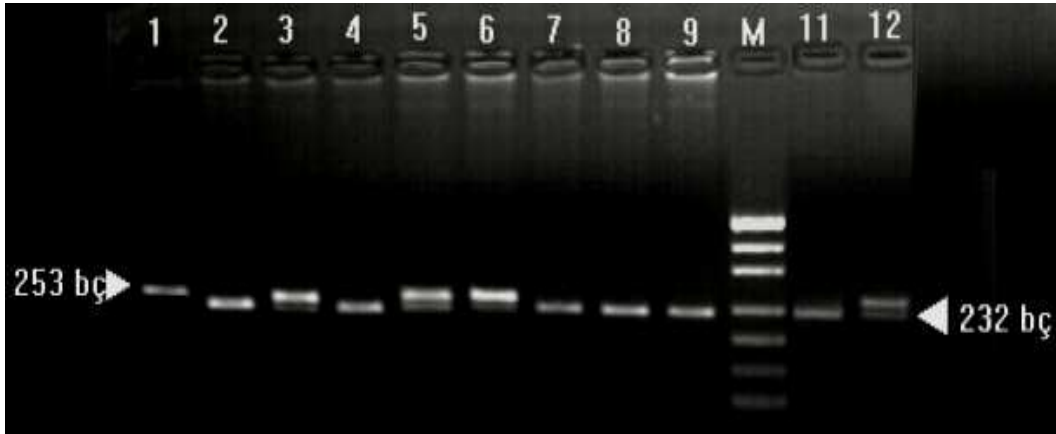
4.1. ÇALIŞMA GRUBU İLE İLGİLİ DEMOGRAFİK KARAKTERLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, *OS*, *ESR1*, *Col1A1* ve *CALCR* gen polimorfizmlerinin osteoporoz ile olan ilişkisinin araştırılması amacıyla menopoza sonrası 158 osteoporozlu kadın hasta ile kendisinde ve ailesinde osteoporoz ve diğer başka bir hastalık öyküsü olmayan menopoza sonrası 108 sağlıklı kadın kontrol incelendi. Hastaların yaş ortalaması $63,65 \pm 8,615$ (SD) (en düşük 47, en yüksek 87), kontrollerin yaş ortalaması ise $58,81 \pm 7,974$ (en düşük 41, en yüksek 77) idi.

Hasta Grubu ve Demografik Özellikleri: Osteoporozlu hastaların aile öyküsü, menopoza yaş, menopoza süresi, menarş yaş, çocuk sayısı, sigara kullanımı, beslenme alışkanlığı, kırık öyküsü gibi demografik karakterleri Tablo 21’de gösterilmiştir. Hastaların yaklaşık yarısı (%55,1)’i 60–80 yaş sınırları arasındaydı. Vücut kitle indeksi 20’nin altında olanlar %4,4 iken, 20–30 arasında olanlar %60,1 30’un üzerinde olanlar %32,9’dur. KMY ölçümünde T skoru -2,5 ile -3,5 arasında olanlar %63,9 -3,5 ile -4,5 arasında olanlar %20,3 ve -4,5’den daha düşük olanlar ise %15,8 saptandı. Hastaların %64,6’sının menopoza giriş yaş 50’nin altındaydı. Hastaların çoğunluğu (%94,3)’ü sigara kullanmıyordu. Kalsiyum tüketimi fazla olanların oranı oldukça düşük (%0,6) iken, orta ve az tüketenlerin oranı da sırasıyla %50 ve %49,4 idi. Hasta grubunun %3,2’si çocuk sahibi değilken, %70,9’u en fazla 5 çocuğa, %25,9’u ise 5’ten fazla çocuğa sahipti. Hastaların %82,3’ü kırık öyküsüne sahip değilken, %17,1’nin 1 kırık ve %0,6’sının 2 kırık öyküsü vardı (Tablo 21). Hasta grubunun demografik özellikleri karşılaştırıldığında, menopoza süresi, menopoza yaş, menarş yaş, vki, sigara kullanımı, Ca tüketimi, çocuk sayısı ile *OS*, *ESR1*, *Col1A1* ve *CALCR* genotip dağılımları arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı görüldü ($p > 0,05$) (Tablo 21).

4.2 OS GENİ POLİMORFİZMİ

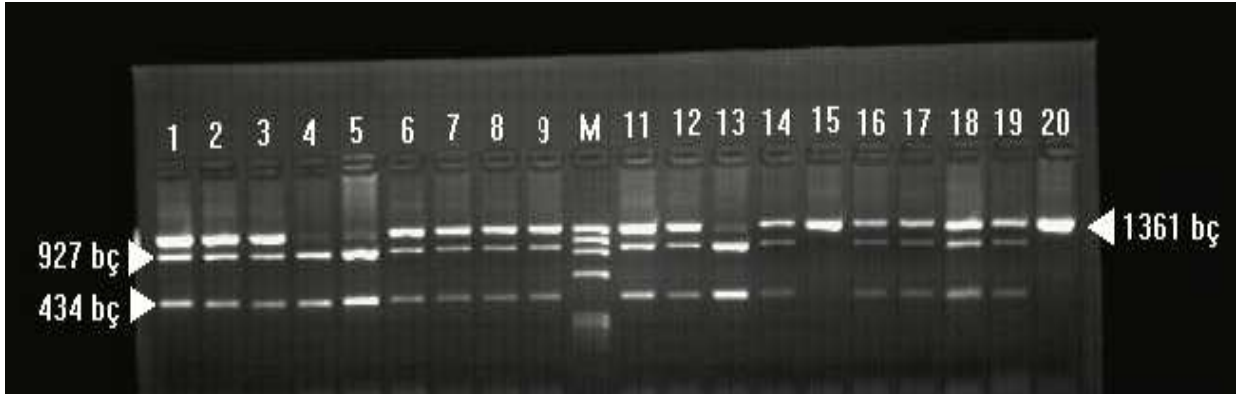
OS geni -298 C>T polimorfizmi çalışılan 158 hastadan; 87'sinin (%55.1) CC homozigot, 51'inin (%32.3) CT heterozigot ve 20'sinin (%12.7) TT homozigot; 108 kontrolden; 51'inin (%47.2) CC homozigot, 45'inin (%41.7) CT heterozigot ve 12'sinin (%11.1) TT homozigot genotipine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 22). PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan örneklerin bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafı şekilde 16'da verilmiştir. Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) ile uyumlu görüldü ($X^2=0,1878$, $p=0.664$). Hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığı görüldü bulunmadı (sırasıyla $p=0.293$ ve $p=0.437$). Genotiplerden CC+CT'ye karşılık TT veya CC'ye karşılık TT+CT karşılaştırıldığında da istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkinin olmadığı tespit edildi (sırasıyla $p=0.850$ ve $p=0.209$) (Tablo 22).



Şekil 16. *OS* geni RFLP sonuçları. 3.,5.,6. ve 12. kuyular CT heterozigot bireyleri, 2.,4.,7.,8.,9.,11. kuyular TT homozigot bireyleri, 1. kuyu CC homozigot bireyi göstermektedir. M: pUC19 DNA/MspI (HpaII).

4.3. *ESR1* GENİ POLİMORFİZMİ

ESR1 geni +397 T>C polimorfizmi çalışılan 158 hastadan; 30'unun (%19) TT homozigot, 92'sinin (%58,2) TC heterozigot ve 36'sının (%22,8) CC homozigot; 108 kontrolden 24'ünün (%22,2) TT homozigot, 71'inin (%65,7) TC heterozigot ve 13'ünün (%12) TT homozigot genotipe sahip olduğu tespit edildi (Tablo 22). PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan örneklerin bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafları şekil 17'de verilmiştir. Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg (HWE) Dengesinden sapma görüldü ($X^2=11,661$, $p=0,0006$). Bu durum çalışma grubunun küçüklüğünden kaynaklanabilmektedir. Hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi (sırasıyla $p=0,084$ ve $p=0,113$). Genotiplerden CC+TC ile TT genotipinin karşılaştırılması sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ($p=0,625$). Ancak, CC genotipinin TT+TC ile karşılaştırılması durumunda anlamlı bir fark olduğu anlaşıldı [$p=0,039$ OR= 2,156 %95 CI (1,083-4,293)] (Tablo 22).

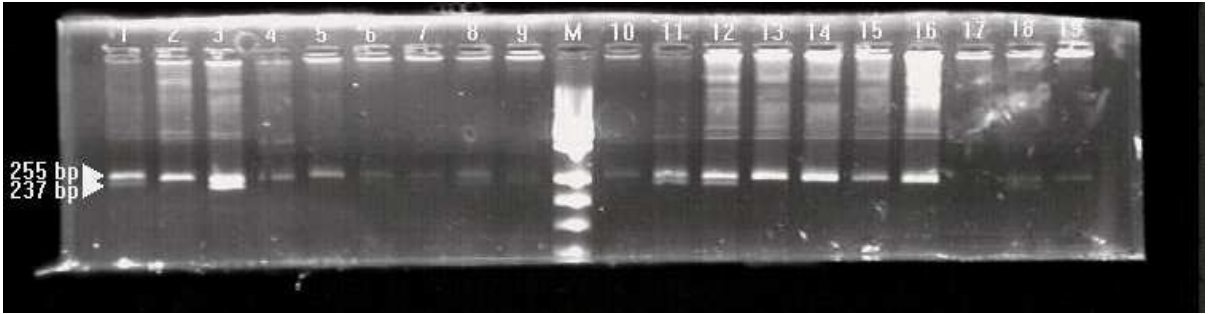


Şekil 17. *ESR1* geni RFLP sonuçları. 1.,2.,3.,6.,7.,8.,9.,11.,12.,14.,16.,17.,18., ve 19. kuyular TC heterozigot bireyleri, 4.,5.,13. kuyular CC homozigot bireyleri, 15. ve 20. kuyular TT homozigot bireyleri göstermektedir.

M: Φ X174 DNA/BsuRI (HaeIII) Marker.

4.4. COL1A1 GENİ POLİMORFİZMİ

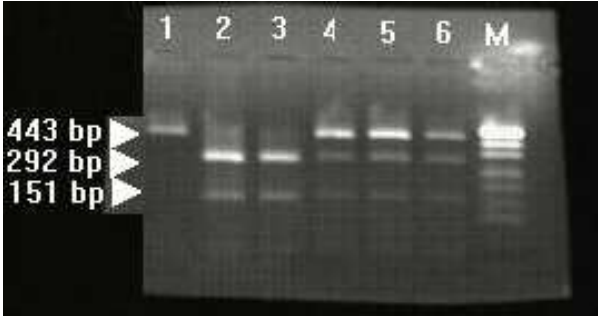
Coll1A1 geni +2046 G>T polimorfizmi çalışılan 158 hastadan; 71'inin (%44,9) GG homozigot, 61'inin (%38,6) GT heterozigot ve 26'sının (%16,5) TT homozigot; 108 kontrolden; 48'inin (%44,4) GG homozigot, 49'unun (%45,4) GT heterozigot ve 11'inin (%10,2) TT homozigot olduğu tespit edildi (Tablo 22). PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan örneklerden bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafları şekilde 18'de verilmiştir (Şekil 18). Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) ile uyumlu görüldü ($X^2=0,0851$, $p=0,770$). Hasta ve kontrollerin genotip ve allel dağılımları karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkinin olmadığı görüldü ($p=0,283$ ve $p=0,491$ sırasıyla). Genotiplerden GG+GT'ye karşılık TT veya GG'ye karşılık GT+TT karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkinin olmadığı anlaşıldı (sırasıyla $p=0,204$ ve $p=0,936$) (Tablo 22).



Şekil 18. *Coll1A1* geni RFLP sonuçları. 1.,3, 8.,11. ve 12. kuyular heterozigot GT, 2., 4., 5.,13., 10., 14., 15. ve 16. kuyular homozigot GG bireyleri göstermektedir. M: pUC19 DNA/MspI (HpaII). Diğer kuyular değerlendirilemediği için tekrara bırakılmıştır

4.5. *CALCR* GENİ POLİMORFİZMİ

CALCR geni +1340 T>C polimorfizmi çalışılan 158 hastadan; 17'sinin (%10,8) CC homozigot, 88'inin (%55,7) TC heterozigot ve 53'ünün (%33,5) TT homozigot; 108 kontrolden 22'sinin (%20,4) CC homozigot, 55'inin (%50,9) TC heterozigot ve 31'inin (%28,7) TT homozigot genotipe sahip olduğu tespit edildi (Tablo 22). PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan örneklerden bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafları şekil 19'da verilmiştir. Kontrol grubunun SNP dağılımı, Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) ile uyumlu görüldü ($X^2=0,071$, $p=0,789$). Hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı anlaşıldı (sırasıyla $p=0,091$ ve $p=0,097$). Genotiplerden TT+TC ile CC polimorfik genotipi karşılaştırıldığında ise anlamlı bir ilişkinin olduğu gözlemlendi ($p=0,045$ %95 CI, OR= 0,471 (0,237-0,9372)). TT genotipi ile TC+CC karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan anlamlı olarak bir ilişkinin olmadığı görüldü ($p=0,404$) (Tablo 22).



Şekil 19. *CALCR* geni RFLP sonuçları.1. kuyu CC homozigot , 4.,5.,6. kuyular TC heterozigot bireyleri, 2.,3. bireyler TT homozigot bireyleri göstermektedir. M: pUC19 DNA/MspI (HpaII).

4.6. *OS -298 T>C, ESRI 397T>C, COL1A1 2046G>T ve CALCR 1340C>T* POLİMORFİZMLERİ KOMPOZİT GENOTİP ANALİZLERİ

Kompozit genotiplerin olası etkisinin olup olmadığını incelemek için çalışılan genlerdeki SNP genotipleri, ki-kare analizi ile ikili üçlü ve dördü olarak karşılaştırıldı. Kompozit genotip analizinde, ikili genotiplerden *OS/ESRI*, *OS/CALCR*, *ESRI/Col1A1*, *Col1A1/CALCR* ikili kompozit genotip dağılımları hasta ve kontrollerde karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi ($P>0,05$). *OS/Col1A1* genleri CCTT genotipi ve *ESRI/CALCR* CCTT kompozit genotipleri hasta ve kontrollerde karşılaştırıldığında, anlamlı fark görüldü (sırasıyla $p= 0,027$ ve $p= 0,009$). *OS/Col1A1* genleri CCTT kompozit genotipin görüldüğü 16 örneğin 14'ünü (%8,9) hastalar, 2'sini (%1,9) kontroller oluşturmaktaydı (Tablo 23). Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında CCTT kompozit genotipinin; hastalarda kontrollere göre 7 kat daha fazla olduğu ve osteoporoz açısından risk oluşturduğu anlaşıldı ($p=0,027$). Diğer bir risk de *ESRI/CALCR* genleri CCTT kompozit genotip analizinde görüldü. 22 örnekte görülen CCTT kompozit genotipinden 19'unun (%12) hastalarda ve 3'ünün (%2,8) de kontrollerde olduğu tespit edildi (Tablo 23). Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında, CCTT genotipinin hastalarda; kontrollere göre, 6 kat daha fazla olduğu anlaşıldı ($p=0,009$). *ESRI/CALCR* genleri ikili kompozit analizinde 9 örnekte görülen TCCC genotipi hastaların 9'unda (%5,7) kontrollerin de 17'sinde (%15,7) saptandı (Tablo 22). Hasta ve kontroller karşılaştırıldığında, TCCC genotipinin; kontrollerde hastalara oranla yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu ve osteoporoz açısından koruyucu özellik taşıdığı anlaşıldı [$p=0,0125$ OR=0,323 %95 CI (0,1383–0,755)] (Tablo 23).

Ayrıca, hasta ve kontrol grubunun üçlü ve dördü kompozit genotip dağılımları karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı saptandı ($p>0,05$) (Tablo 24 ve 25).

Tablo 21 : Osteoporozlu hastaların demografik özellikleri dağılımları ve p değerleri

	Toplam n(%)158	OS -298(C→T)			P değeri	ESR1 397(T→C)			P değeri	Col1A1 2046(G→T)			P değeri	CALCR 1340(T→C)			P değeri
		CC	CT	TT		TT	TC	CC		GG	GT	TT		CC	TC	TT	
Hastaların yaşı																	
40-60	61(38,6)	36(59)	20(32,8)	5(8,2)		10(16,4)	39(63,9)	12(19,7)		25(41)	27(44,3)	9(14,7)		6(9,8)	37(60,7)	18(29,5)	
60-80	87(55,1)	44(50,6)	29(33,3)	14(16,1)	0,521	17(19,5)	48(55,2)	22(25,3)	0,736	43(49,4)	30(34,5)	14(16,1)	0,521	11(12,6)	44(50,6)	32(36,8)	0,547
80≥	10(6,3)	7(70)	2(20)	1(10)		3(30)	5(50)	2(20)		3(30)	4(40)	3(30)		0	7(70)	3(30)	
KMY (T skor)																	
-2.5 ile -3.5	101(63,9)	56 (64,4)	33 (64,7)	12 (60,0)		19 (63,3)	58 (63,0)	24 (66,7)		44 (62,0)	40 (65,6)	17(65,4)		36(67,9)	57(64,8)	8(47,1)	
-3.5 ile 4.5	32 (20,3)	16 (18,4)	13 (25,5)	3 (15,0)	0,476	4 (13,3)	21 (22,8)	7 (19,4)	0,663	12 (16,9)	14 (23,0)	6(23,1)	0,544	8(15,1)	16(18,2)	8(47,1)	0,061
-4.5 altı	25 (15,8)	15 (17,2)	5 (9,8)	5 (25,0)		7 (23,3)	13 (14,1)	5 (13,9)		15 (21,1)	7 (11,5)	3(11,5)		9(17,0)	15(17,0)	1(5,9)	
VKİ																	
10-20	7(4,4)	4(57,1)	3(42,9)	0		1(14,2)	3(42,9)	3(42,9)		5(71,4)	0	2(28,6)		0	4(57,1)	3(42,9)	
20-30	95(60,1)	56(58,9)	28(29,5)	11(11,6)	0,573	19(20)	52(54,7)	24(25,3)	0,427	41(43,2)	41(43,2)	13(13,6)	0,206	12(12,7)	48(50,5)	35(36,8)	0,450
30≥	56(35,5)	27(48,2)	20(35,7)	9(16,1)		10(17,8)	37(66,1)	9(16,1)		25(44,7)	20(35,7)	11(19,6)		5(8,9)	36(64,3)	15(26,8)	
Menarş yaşı																	
≤12	45(28,5)	26(57,8)	14(31,1)	5(11,1)		6(13,3)	26(57,8)	13(28,9)		20(44,4)	18(40)	7(15,6)		5(11,1)	21(46,7)	19(42,2)	
>12	113(71,5)	61(54,0)	37(32,7)	15(13,3)	0,891	24(21,2)	66(58,4)	23(20,4)	0,352	51(45,1)	43(38,1)	19(16,8)	0,968	12(10,6)	67(59,3)	34(30,1)	0,310
Menopoz yaşı																	
≤50	102((64,6)	59(57,8)	31(30,4)	12(11,8)		20(19,6)	55(53,9)	27(26,5)		44(43,2)	44(43,1)	14(13,7)		11(10,8)	57(55,9)	34(33,3)	
>50	56(35,4)	28(50)	20(35,7)	8(14,3)	0,637	10(17,8)	37(66,1)	9(16,1)	0,260	27(48,2)	17(30,4)	12(21,4)	0,219	6(10,7)	31(55,4)	19(33,9)	0,997
Menopoz süresi																	
1-10	25(15,8)	19(76)	5(20)	1(4)		4(16)	19(76)	2(8)		13(52)	10(40)	2(8)		2(8)	16(64)	7(28)	
10-20	81(51,3)	39(48,2)	30(37)	12(14,8)	0,179	16(19,8)	46(56,8)	19(23,4)	0,274	34(42)	31(38,2)	16(19,8)	0,713	9(11,1)	44(54,3)	28(34,6)	0,931
>20	52(32,9)	29(55,7)	16(30,8)	7(13,5)		10(19,3)	27(51,9)	15(28,8)		24(46,1)	20(38,5)	8(15,4)		6(11,5)	28(53,8)	18(34,7)	
Sigara kullanımı																	
kullanmıyor	149(94,3)	82(55)	48(32,2)	19(12,8)		30(20,1)	87(58,4)	32(21,5)		66(44,3)	58(38,9)	25(16,8)		17(11,4)	84(56,4)	48(32,2)	
bırakmış	7(4,4)	4(57,1)	3(42,9)	0	0,407	0	4(57,1)	3(42,9)	0,428	4(57,1)	3(42,9)	0	0,464	0	3(42,9)	4(57,1)	0,616
kullanıyor	2(1,3)	1(50)	0	1(50)		0	1(50)	1(50)		1(50)	0	1(50)		1(50)	1(50)	0	

Tablo 21 : Osteoporozlu hastaların demografik özellikleri dağılımları ve p değerleri (devam)

	Toplam n(%)	OS -298(C→T)			P değeri	ESR1 397(T→C)			P değeri	Col1A1 2046(G→T)			P değeri	CALCR 1340(T→C)			P değeri
		CC	CT	TT		TT	TC	CC		GG	GT	TT		TT	TC	CC	
Kırık öyküsü																	
yok	130(82,3)	70(53,8)	43(33,1)	17(13,1)		27(20,8)	75(57,7)	28(21,5)		55(42,3)	53(40,8)	22(16,9)		14(10,8)	73(56,2)	43(33)	
1 kırık	27(17,1)	16(59,3)	8(29,6)	3(11,1)	0,896	7(25,9)	17(63)	3(11,1)	0,308	16(59,3)	7(25,9)	4(14,8)	0,359	3(11,1)	15(55,6)	9(33,3)	0,736
2 kırık	1(0,6)	1(100)	0(0)	0(0)		0(0)	0(0)	1(100)		0(0)	1(100)	0(0)		0(0)	0(0)	1(100)	
Çocuk sayısı																	
yok	5(3,2)	2(40)	1(20)	2(40)		1(20)	2(40)	2(40)		1(20)	2(40)	2(40)		0	3(60)	2(40)	
≤5	112(70,9)	62(55,4)	39(34,8)	11(9,8)	0,253	22(19,6)	65(58,1)	25(22,3)	0,891	47(42)	50(44,6)	15(13,4)	0,058	14(12,5)	59(52,7)	39(34,8)	0,684
>5	41(25,9)	23(56,1)	11(26,8)	7(17,1)		7(17)	25(61)	9(22)		23(56)	9(22)	9(22)		3(7,3)	26(63,4)	12(29,3)	
Ca tüketimi																	
az	78(49,4)	43(55,1)	25(32,1)	10(12,8)		14(17,9)	45(57,7)	19(24,4)		32(41)	32(41)	14(18)		7(9)	40(51,3)	31(39,7)	
orta	79(50)	43(54,4)	26(32,9)	10(12,7)	0,934	15(19)	47(59,5)	17(21,5)	0,345	39(49,4)	29(36,7)	11(13,9)	0,178	10(12,7)	47(59,5)	22(27,8)	0,489
çok	1(0,6)	1(100)	0(0)	0(0)		1(100)	0(0)	0(0)		0(0)	0(0)	18-(100)		0(0)	1(100)	0(0)	

Tablo 22: OS, ESR1, Col1A1 ve CALCR gen polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıklarının hasta ve kontrollerde karşılaştırılması

SNP	Genotip / Allel	Hastalar (n=158) (%)	Kontroller (n=108) (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)	
OS -298 (C→T)	CC	87(55,1)	51(47,2)	2,455	0,293		
	CT	51(32,3)	45 (41,7)				
	TT	20(12,7)	12(11,1)				
		CC+CT : TT	138 : 20	96: 12	0,036	0,850	1,159(0,541-2,483)
		CC : TC+TT	87: 71	51: 57	1,580	0,209	0,730 (0,447-1,193)
		C	225 (71,2)	147 (75)	0,6042	0,437	0,8616 (0,5918-1,254)
		T	91 (28,8)	69 (25)			
ESR1 +397 (T→C)	TT	30(19)	24(22,3)	4,944	0,084		
	TC	92(58,2)	71(65,7)				
	CC	36(22,8)	13(12)				
		TT+TC : CC	122: 36	95 : 13	4,242	0,039	2,156 (1,083-4,293)
		TT : TC+CC	30: 128	24: 84	0,239	0,625	1,219 (0,666-2,228)
		T	152(48,1)	119 (55)	2,59	0,113	0,755 (0,534-1,07)
		C	164(51,8)	97 (45)			
Col1A1 +2046 (G→T)	GG	71(44,9)	48(44,4)	2,526	0,283		
	GT	61(38,6)	49(45,4)				
	TT	26(16,5)	11(10,2)				
		GG+GT : TT	132 : 26	97 : 11	1,615	0,204	1,737 (0,818-3,685)
		GG : GT+TT	71 : 87	48 : 60	0,006	0,936	0,980 (0,599-1,604)
		G	203(64,2)	145 (67,1)	0,473	0,491	1,137 (0,789-1,638)
		T	113 (35,8)	71 (32,9)			

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterlerle yazılmıştır.

* Fisher exact test

Tablo 22: OS, ESR1, Col1A1 ve CALCR gen polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıklarının hasta ve kontrollerde karşılaştırılması (devam)

SNP	Genotip / Allel	Hastalar (n=158) (%)	Kontroller (n=108) (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
CALCR +1340 (T→C)	TT	53(33,5)	31(28,7)	4,789	0,091	1,254 (0,736-2,134)
	TC	88(55,7)	55(50,9)			
	CC	17(10,8)	22(20,4)			
	TT: TC+CC	53: 105	31: 77	0,695	0,404	1,254 (0,736-2,134)
	TT+TC : CC	141:17	86: 22	3,999	0,045	0,471 (0,237-0,9372)
	T	194 (61,4)	117 (54,2)	2,750	0,097	1,346 (0,948-1,910)
	C	122 (38,6)	99 (45,8)			

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test

Tablo 23: İki gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
OS / ESR1						
OS -298 (C→T) ve ESR1 +397 (T→C)	CCCC	22 (13,9)	11 (10,2)	0,517	0,4721	1,426 (0,661-3,078)
	CCTC	47 (29,8)	31 (28,6)	0,033	0,854	1,052 (0,613-1,802)
	CCTT	18 (11,4)	9 (8,3)	0,365	0,5454	1,414 (0,6103-3,278)
	CTCC	10 (6,3)	1 (9)		0,0500*	
	CTTC	33 (20,9)	33 (30,6)	3,215	0,0729	0,600 (0,3424-1,051)
	CTTT	8 (5,1)	11 (10,2)	1,824	0,1771	0,470 (0,1827-1,211)
	TTCC	4 (2,5)	1 (0,9)		0,6493*	
	TTTC	12 (7,6)	7 (6,5)	0,010	0,9173	0,186 (0,4514-3,116)
TTTT	4 (2,5)	4 (3,7)		0,8384*		
Toplam		158	108			
OS / Col1A1						
OS -298 (C→T) ve Col1A1+2046(G→T)	CCGG	40 (25,3)	27 (25,0)	0,003	0,9350	1,017 (0,578-1,788)
	CCGT	33 (20,9)	22 (20,4)	0,010	0,9188	1,032 (0,5634-1,911)
	CCTT	14 (8,9)	2 (1,9)		0,027*	
	CTGG	22 (13,9)	15 (13,9)	0,029	0,8632	1,003 (0,494-2,074)
	CTGT	22 (13,9)	24 (22,0)	2,536	0,1110	0,566 (2,988-1,073)
	CTTT	7 (4,4)	6 (5,6)	0,016	0,8979	0,788 (0,2486-2,566)
	TTGG	9 (5,7)	6 (5,6)	0,049	0,8245	1,027 (0,3504-3,187)
	TTGT	6 (3,8)	3 (2,8)		0,4664*	
TTTT	5 (3,2)	3 (2,8)		0,8804 [#]		
Toplam		158	108			

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test, [#] Mid-P exact test

Tablo 23: İki gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması) (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
OS/ CALCR						
OS -298 (C→T) ve CALCR+1340 (T→C)	CCTT	27 (17,1)	14 (13)	0,551	0,4579	1,384 (0,688-2,780)
	CCTC	49 (31)	23 (21,3)	2,595	0,1072	1,661 (0,938-2,940)
	CCCC	11 (7)	14 (13)	2,054	0,1519	0,502 (0,218-1,153)
	CTTT	21 (13,3)	12 (11,1)	0,116	0,7336	1,226 (0,576-2,611)
	CTTC	26 (16,5)	26 (24,9)	2,367	0,1239	0,621 (0,337-1,143)
	CTCC	4 (2,4)	7 (6,5)		0,2043*	
	TTTT	5 (3,2)	5 (4,6)	0,083	0,7728	0,673 (0,1901-2,384)
	TTTC	13 (8,2)	6 (5,6)	0,346	0,5561	1,524 (0,5608-4,143)
TTCC	2 (1,3)	1 (0,9)				
Toplam		158	108			
ESR1/Col1A1						
ESR1+397 (T→C) ve Col1A1 +2046 (G→T)	CCGG	15 (9,5)	9 (8,3)	0,011	0,9152	1,154 (0,485-2,741)
	CCGT	12 (7,6)	3 (2,8)		0,1541*	
	CCTT	9 (5,7)	1 (0,9)		0,0800*	
	TCGG	42 (26,6)	29 (26,9)	0,002	0,9611	0,986 (0,5674-1,714)
	TCGT	38 (24,1)	35 (32,4)	2,250	0,1337	0,660 (0,3835-1,137)
	TCTT	12 (7,6)	7 (6,5)	0,119	0,7291	1,186 (0,4514-3,116)
	TTGG	14 (8,9)	10 (9,3)	0,011	0,9152	0,952 (0,4068-2,232)
	TTGT	11 (7)	11 (10,2)	0,505	0,4773	0,659 (0,2753-1,582)
TTTT	5 (3,2)	3 (2,8)		0,8804#		
Toplam		158	108			

* Fisher exact test, # Mid-P exact test

Tablo 23: İki gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması) (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	ESR1 /CALCR					
ESR1 +397 (T→C) ve CALCR+1340 (T→C)	CCTT	19 (12)	3 (2,8)		0,009*	
	CCTC	12 (7,6)	8 (7,4)	0,0320	0,8573	1,027 (0,405-2,604)
	CCTT	5 (3,2)	2 (1,9)		0,0810	
	TCTT	26 (16,5)	21 (19,4)	0,2152	0,6427	0,816 (0,4322-1,541)
	TCTC	57 (36,1)	33 (30,6)	0,8733	0,3501	1,283 (0,7606-2,163)
	TCCC	9 (5,7)	17 (15,7)	6,2440	0,0125	0,323 (0,1383-0,755)
	TTTT	8 (5,1)	7 (6,4)	0,0491	0,8245	0,769 (0,2706-2,189)
	TTTC	19 (12)	14 (13)	0,0014	0,9693	0,917 (0,4387-1,920)
TTCC	3 (1,8)	3 (2,8)		0,9365		
Toplam		158	108			
	Col1A1 / CALCR					
Col1A1+2046(G→T) ve CALCR+1340 (T→C)	GGCC	20 (12,7)	12 (11,1)	0,035	0,8501	1,159 (0,634-1,918)
	GGTC	44 (27,7)	28 (25,9)	0,120	0,7290	1,103 (0,634-1,918)
	GGTT	7 (4,4)	8 (7,4)	0,582	0,4454	0,579 (0,203-1,648)
	GTCC	21 (13,3)	17 (15,7)	0,146	0,7023	0,820 (0,410-1,639)
	GTTC	32 (20,3)	21 (19,4)	0,026	0,8712	1,052 (0,569-1,945)
	GTTT	8 (5,1)	11 (10,2)	2,537	0,1112	0,470 (0,182-1,211)
	TTTT	12 (7,6)	2 (1,9)		0,0659*	
	TTTC	12 (7,6)	6 (5,6)	0,161	0,6879	1,397 (0,5079-3,844)
TTCC	2 (1,3)	3 (2,8)		0,6533*		
Toplam		158	108			

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test, # Mid-P exact test

Tablo 24: Üç gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	OS / ESR1 / CTR					
OS-298 (C→T)	CCTTCC	12 (7,6)	2 (1,9)		0,0651*	
ESR1+397 (T→C)	CCTTTC	7 (4,4)	7 (6,5)	0,2081	0,6483	1,669 (0,227-1,965)
CALCR+1340 (T→C)	CCTTTT	3 (1,9)	2 (1,9)		0,9980 [#]	
	CCTCCC	11 (7,0)	9 (8,3)	0,032	0,8573	0,823 (0,329-2,059)
	CCTCTC	30 (19,0)	13 (12,0)	0,803	0,1796	1,713 (0,848-3,459)
	CCTCTT	6 (3,8)	9 (8,3)	1,701	0,1924	0,434 (0,149-1,258)
	CCCCCC	4 (2,5)	3 (2,8)		0,8943 [#]	
	CCCCTC	12 (7,6)	3 (2,8)		0,0984 [#]	
	CCCCTT	2 (1,3)	3 (2,8)		0,6533*	
	CTTTCC	4 (2,5)	0 (0)		0,2451	
	CTTTTC	5 (3,2)	1 (0,9)		0,4421	
	CTTTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	CTTCCC	13 (8,2)	9 (8,3)	0,038	0,9756	0,9862 (0,406-2,395)
	CTTCTC	17 (1,8)	17 (15,7)	1,016	0,3156	0,6454 (0,313-1,329)
	CTTCTT	3 (1,9)	7 (6,5)		0,1170*	
	CTCCCC	4 (2,5)	3 (2,8)		0,8943 [#]	
	CTCCTC	4 (2,5)	8 (7,4)		0,1165*	
	TTTTCC	3 (1,9)	1 (0,9)		0,9282	
	TTTTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	TTTCCC	2 (1,3)	3 (2,8)		0,6533	
	TTTCTC	10(6,3)	3 (2,8)	1,060	0,3020	2,365 (0,635-8,801)
	TTCCTC	3 (1,9)	3 (2,8)		0,9365	
	TTCCTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	TTTCCC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120	
	TTCCTC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120	
Toplam		158	108			

* Fisher exact test, [#] Mid-P exact test

Tablo 24: Üç gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
ESR1 / Col1A1 /CALCR						
ESR1+397 (T→C)	TTGGCC	6 (3,8)	2 (1,9)		0,5993*	
Col1A1+2046 (G→T)	TTGGTC	6 (3,8)	6 (5,6)		0,6961*	
CALCR+1340(T→C)	TTGGTT	3 (1,9)	1 (0,9)		0,9282*	
	TTGTCC	7 (4,4)	1 (0,9)		0,1935*	
	TTGTTC	4 (2,5)	2 (1,9)		0,7528#	
	TTGTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	TTTTCC	6 (3,8)	0 (0)		0,6961*	
	TTTTTC	2 (1,3)	0 (0)		0,7038*	
	TTTTTT	1 (0,6)	1 (0,9)		0,8120#	
	TCGGCC	11 (7,0)	7 (6,5)	0,009	0,9241	1,080 (0,4049-2,879)
	TCGGTC	27 (17,1)	15 (13,9)	0,283	0,5950	1,278 (0,6443-2,534)
	TCGGTT	4 (2,5)	7 (6,5)		0,2043*	
	TCGTCC	9 (5,7)	13 (12,0)	2,615	0,1059	0,4414 (0,182-1,073)
	TCGTTC	24 (15,2)	14 (13,0)	0,109	0,7407	1,2030 (0,591-2,446)
	TCGTTT	5 (3,2)	8 (7,3)	1,655	0,1985	0,4085 (0,129-1,284)
	TCTTCC	6 (3,8)	1 (0,9)		0,2949*	
	TCTTTC	6 (3,8)	4 (3,6)		0,9838#	
	CCGGCC	3 (1,9)	3 (2,8)		0,9365*	
	CCGGTC	11 (7,0)	7 (6,5)	0,009	0,9241	1,08 (0,4049-2,879)
	CCGTCC	5 (3,2)	3 (2,8)		0,8804#	
	CCGTTC	4 (2,5)	5 (4,6)		0,5524	
	CCGTTT	2 (1,3)	3 (2,8)		0,6533	
	CCTTTC	4 (2,5)	2 (1,9)		0,7528#	
	CCTTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	TCTTCC	0 (0)	2 (1,9)		0,3279	
	CCTTCC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120	
Toplam		158	108			

* Fisher exact test, # Mid-P exact test

Tablo 24: Üç gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	OS / Col1A1 / CALCR					
OS -298 (C→T)	CCGGCC	13 (8,2)	6 (5,6)	0,346	0,5561*	1,524 (0,561-4,143)
Col1A1+2046 (G→T)	CCGGTC	21 (13,3)	16 (14,8)	0,029	0,8632*	0,881 (0,437-1,778)
CALCR+1340(T→C)	CCGGTT	6 (3,8)	5 (4,6)		0,9683*	
	CCGTCC	10 (6,3)	8 (7,4)	0,009	0,9241	0,845 (0,322-2,214)
	CCGTTC	19 (2,0)	6 (5,6)	2,439	0,1184	2,324 (0,896-6,025)
	CCGTTT	4 (2,5)	8 (7,4)		0,1165*	
	CCTTCC	4 (2,5)	0 (0)		0,2451*	
	CCTTTC	9 (5,7)	1 (0,9)		0,0800*	
	CCTTTT	1 (0,6)	1 (0,9)		0,8120 [#]	
	CTGGCC	6 (3,8)	3 (2,8)		0,9328*	
	CTGGTC	15 (9,5)	9 (8,3)	0,011	0,9152	1,154 (0,485-2,741)
	CTGGTT	1 (0,6)	3 (2,8)		0,3689*	
	CTGTCC	10 (6,3)	7 (6,5)	0,042	0,8373	0,974 (0,359-2,646)
	CTGTTC	9 (5,7)	14 (13,0)	3,418	0,0645	0,405 (0,168-0,974)
	CTGTTT	3 (1,9)	3 (2,8)		0,9365*	
	CTTTCC	5 (3,2)	2 (1,9)		0,8102*	
	CTTTTC	2 (1,3)	3 (2,8)		0,6533*	
	TTGGCC	1 (0,6)	1 0,9		0,3689*	
	TTGGTC	8 (5,1)	3 2,8		0,5551*	
	TTGTCC	1 (0,6)	3 2,8		0,7203*	
	TTGTTC	4 (2,5)	2 1,9		0,6493*	
	TTGTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,9838 [#]	
	TTTTCC	3 (1,9)	0 (0)		0,4159*	
	TTTTTC	1 (0,6)	1 (0,9)		0,7203*	
	TTTTTT	1 (0,6)	2 (1,9)		0,4260 [#]	
	CTTTTT	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
Toplam		158	108			

* Fisher exact test, [#] Mid-P exact test

Tablo 24: Üç gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	OS / ESR1 / Col1A1					
OS -298 (C→T)	CCTTGG	10 (6,3)	9 (8,3)	0,145	0,7033	0,743 (0,291-1,895)
ESR1+397 (T→C)	CCTTGT	8 (5,1)	1 (0,9)		0,1252*	
Col1A1+2046 (G→T)	CCTTTT	4 (2,5)	1 (0,9)		0,6493*	
	CCTCGG	21 (13,3)	14 (13)	0,011	0,9149	1,029 (0,498-2,126)
	CCTCGT	20 (12,7)	16 (14,8)	0,104	0,7471	0,833 (0,4104-1,692)
	CCTCTT	6 (3,8)	1 (0,9)		0,2949*	
	CCCCGG	9 (5,7)	4 (3,7)		0,6640*	
	CCCCGT	5 (3,2)	5 (4,6)		0,7607*	
	CCCCTT	4 (2,5)	0 (0)		0,2451*	
	CTCCGG	4 (2,5)	0 (0)		0,2451*	
	CTTTGT	4 (2,5)	1 (0,9)		0,6493*	
	CTTTTT	2 (1,3)	0 (0)		0,7038*	
	CTTCGG	15 (9,5)	11 (10,2)	0,001	0,9811	0,925 (0,407-2,099)
	CTTCGT	13 (8,2)	18 (16,8)	3,655	0,0550	0,448 (0,209-0,958)
	CTTCTT	5 (3,2)	4 (3,7)		0,8098 [#]	
	CTCCGG	3 (1,9)	4 (3,7)		0,5988*	
	CTCCGT	5 (3,2)	5 (4,6)		0,7607*	
	TTTTGG	1 (0,6)	2 (1,9)		0,7007*	
	TTTTTT	3 (1,9)	0 (0)		0,4149*	
	TTTCGG	6 (3,8)	4 (3,7)		0,9838 [#]	
	TTTCGT	5 (3,2)	1 (0,9)		0,4421*	
	TTTCTT	1 (0,6)	2 (1,9)		0,7203*	
	TTTTGG	2 (1,3)	2 (1,9)		0,7203 [#]	
	TTCCGT	1 (0,6)	1 (0,9)		0,8120 [#]	
	TTCCCT	1 (0,6)	1 (0,9)		0,8120 [#]	
	TTTTGT	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
Toplam		158	108			

* Fisher exact test, [#] Mid-P exact test

Tablo 25: Dört gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	OS/ ESR1/ Col1A1/CALCR					
OS-298 (C→T)	CCCCGGCC	4 (2,5)	2 (1,9)		0,7528 [#]	
ESR1+397 (T→C)	CCCCGGTC	4 (2,5)	6 (5,6)		0,3440*	
Col1A1+2046(G→T)	CCCCGGTT	2 (1,3)	1 (0,9)		0,8478 [#]	
CALCR+1340 (T→C)	CCCCGTCC	5 (3,2)	0 (0)		0,1441*	
	CCCCGTTC	2 (1,3)	1 (0,9)		0,8478 [#]	
	CCCCGTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	CCCCTTCC	3 (1,9)	0 (0)		0,4159*	
	CCCCTTTC	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	CCCTGGCC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	CCTCGGCC	6 (3,8)	3 (2,8)		0,9328*	
	CCTCGGTC	11 (7)	7 (6,5)	0,009	0,9241	1,08 (0,4049-2,879)
	CCTCGGTT	4 (2,5)	4 (3,7)		0,8384*	
	CCTCGTCC	4 (2,5)	6 (5,6)		0,3440*	
	CCTCGTTC	14 (8,9)	5 (4,6)	1,152	0,2844	2,003 (0,6995-5,734)
	CCTCGTTT	2 (1,3)	5 (4,6)		0,1984*	
	CCTCTTCC	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	CCTCTTTC	5 (3,2)	1 (0,9)		0,4421*	
	CCTTGGCC	3 (1,9)	1 (0,9)		0,9282*	
	CCTTGGTC	6 (3,8)	3 (2,8)		0,9328*	
	CCTTGTCC	1 (0,6)	2 (1,9)		0,7203*	
	CCTTGTTTC	3 (1,9)	0 (0)		0,4159*	
	CCTTGTTT	1 (0,6)	3 (2,8)		0,3689*	
	CCTTTTTTC	3 (1,9)	0 (0)		0,4159*	
	CCTTTTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	
	CTCCGGCC	1 (0,6)	0 (0)		0,5940 [#]	

* Fisher exact test, [#] Mid-P exact test

Tablo 25: Dört gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	OS/ ESR1 / Col1A1/ CALCR					
OS-298 (C→T)	CTTTGGTC	2 (1,3)	0 (0)		0,7038*	
ESR1+397 (T→C)	CTTTGGTT	1 (0,6)	0 (0)		0,9999*	
Col1A1+2046(G→T)	CTTTGTCC	2 (1,3)	0 (0)		0,7038*	
CALCR+1340 (T→C)	CTTTGTTC	2 (1,3)	1 (0,9)		0,8478#	
	CTTTTTCC	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	CTTTTTTC	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	CTTCGGCC	5 (3,2)	2 (1,9)		0,8102*	
	CTTCGGTC	10 (6,3)	6 (5,6)	0,00004	0,9984	1,149 (0,4048-3,26)
	CTTCGGTT	0 (0)	3 (2,8)		0,1316*	
	CTTCGTCC	4 (2,5)	6 (5,6)		0,3440*	
	CTTCGTTC	6 (3,8)	9 (8,3)	1,701	0,1924	0,4342 (0,1499-1,258)
	CTTCGTTT	3 (1,9)	3 (2,8)		0,9365*	
	CTTCTTCC	4 (2,5)	1 (0,9)		0,6493*	
	CTTCTTTC	1 (0,6)	2 (1,9)		0,7203*	
	TTTCGGCC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTTTGTCT	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	CTCCGGTC	3 (1,9)	3 (2,8)		0,9365*	
	CTCCGTCC	4 (2,5)	1 (0,9)		0,6493*	
	CTCCGTTC	1 (0,6)	4 (3,7)		0,1793*	
	TTTCTTTC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTTCTTTT	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTTTGGCC	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	TTTTGTCC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTTTTTCC	2 (1,3)	0 (0)		0,7038*	
	TTTTTTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	TTTCGGCC	0 (0)	2 (1,9)		0,3279*	

* Fisher exact test, # Mid-P exact test

Tablo 25: Dört gen SNP kompozit genotip kombinasyonlarının dağılımlarının hasta/kontrol karşılaştırılması (devam)

SNP-SNP etkileşimi	SNP Genotipleri	Hastalar n (%)	Kontroller n (%)	χ^2	P değeri	OR (%95 CI)
	OS/ ESR1 / Col1A1/ CTR					
OS-298 (C→T)	TTTCGGTC	6 (3,8)	2 (1,9)		0,5993*	
ESR1+397 (T→C)	TTTCGTCC	1 (0,6)	1 (0,9)		0,8120#	
Col1A1+2046(G→T)	TTTCGTTC	4 (2,5)	0 (0)		0,2451*	
CTR+1340 (T→C)	TTTCTTCC	1(0,6)	0 (0)		0,5940#	
	TTTCTTTC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTTCTTTT	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTCCGGCC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTCCGGTC	2 (1,3)	1 (0,9)		0,8478#	
	TTCCGTTC	0 (0)	1 (0,9)		0,8120*	
	TTCCGTTT	1 (0,6)	0 (0)		0,5940#	
	TTCCTTTC	1 (0,6)	1 (0,9)		0,8120#	
Toplam		158	108			

İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar kalın karakterle yazılmıştır

* Fisher exact test, # Mid-P exact test

5. TARTIŞMA

OS -298 C>T, *ESR1* +397 T>C, *Col1A1* +2046G>T ve *CALCR* +1340 T>C gen polimorfizmleri ile osteoporoz ve kemik mineral yoğunluğu arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla farklı populasyonlarda birçok çalışma yapılmıştır. Sonuçları birbirinden farklılık gösteren bu çalışmaları kendi bulgularımız ile karşılaştırdık.

Demografik özellikler ve genotip dağılımları

Osteoporozlu hasta grubumuzun demografik özellikleri ile *OS* -298 C>T, *ESR1* +397 T>C, *Col1A1* +2046G>T ve *CALCR* +1340 T>C gen polimorfizmleri arasında istatistiksel bir ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$). Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, Albagha ve arkadaşları vki, yaş ve menopoz yaşını içeren demografik verilerle *ESR1* genotipi arasında ilişki bulmamıştır (Albagha ve ark., 2005). Aynı şekilde Nguyen ve arkadaşları vki, yaş ve menopoz yaşını içeren demografik verilerle *Col1A1* 2046G>T genotipi arasında bir ilişki saptamamışlardır (Nguyen ve ark., 2005). Bu çalışmaya oldukça benzer parametrelerin değerlendirildiği Bandres ve arkadaşlarının çalışmasında ise *ESR1*, *Col1A1*, *CALCR* ve *VDR* gen polimorfizmleri ile osteoporoz ve KMY dışında yaş, vki, menopoz yaşı, menopoz süresi, sigara kullanımı, ve egzersiz alışkanlığı gibi demografik veriler arasında dikkate değer bir ilişki bulunmamıştır (Bandres ve ark., 2005). Bu çalışmaya benzer bir çalışma Türkiye’de Erdoğan ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. *ESR1* ve *Col1A1* gen polimorfizmlerini çalışan Erdoğan ve arkadaşları yaş ve vki ile polimorfizmler arasında istatistiksel bir ilişki olmadığını göstermişlerdir (Erdoğan ve ark., 2010). Perez ve arkadaşlarının Arjantinli kadınlarla yaptığı diğer bir çalışmada da vki, yaş ve menopoz yaşı gibi değerler ile *ESR1* gen polimorfizmi arasında ilişki olmadığı ortaya konmuştur (Perez ve ark., 2008). Bu çalışmaların aksine, Taboulet ve arkadaşları tarafından yapılan *CALCR* geni 1340 C>T polimorfizmi ile osteoporozun ilişkisini belirlemeye yönelik çalışma; yaşlı, zayıf, vki’si düşük ve daha erken yaşta menopoza girmiş kadınlarda osteoporotik kırık riskinin daha fazla olduğunu göstermiştir (Taboulet ve ark., 1998). 152 Japon kadında Nakamura ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ise; *CALCR* geni 1340T>C polimorfizmi ile *VDR* gen polimorfizm kombinasyonunun düşük vücut ağırlığı ile ilişkili olduğunu göstermişken ($p=0,0236$), KMY ile ilişkili olmadığını ortaya koymuştur (Nakamura ve ark., 2001). Kobayashi ve arkadaşlarının çalışmasıyla *ESR1* geni 397T>C polimorfizmi ile estradiol seviyesinin değiştiği ve artmış menopoz süresi ile Z-skoru değerinin azaldığı gösterilmiştir (Kobayashi ve ark., 2002). Xu ve arkadaşları 328

menopoz öncesi Çinli kadında yaptıkları çalışmada, vki'si yüksek bireylerde T allel frekansının daha fazla olduğunu göstermiştir ($p=0,03$) (Xu ve ark., 2010). Menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınlarda yapılan bir çalışma neticesinde 397T>C (*PvuII*) polimorfizmi açısından CC genotipli kadınların KMY değerlerinin yanısıra, estradiol seviyelerinin de düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,0001$, $p=0,01$) (Jeedigunta ve ark., 2010).

5.1. OS GENİ -298C>T POLİMORFİZMİ

Değerlendirilmesi amaçlanan polimorfik bölge, -298 C>T değişimi şeklinde olup *osteokalsin* geninin promotor bölgesinde yer almaktadır (Chen ve ark., 2001). Bu kısım maksimum promotor aktivitesine sahiptir. C298T değişiminin *OS* geninin promotor aktivitesini azalttığı bildirilmiştir. Bu genin düşük ekspresyonu, kemik organik matriks bileşiminde osteokalsin düzeyini azaltmaktadır (Dohi ve ark., 1998).

OS geni -298 C>T polimorfizmi; birçok hastalıkta çalışılmış, ancak bunlar arasında sadece prostat kanseri, kemik kaybı ve osteoporozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Wu ve ark., 2003).

OS geninin -298 C>T polimorfizminin genotipik dağılımı, normal popülasyonun menopoz sonrası Çin, Japon ve Beyaz Avrupa kökenli kadınlarında birbiriyle benzerlik gösterirken (CT>TT>CC) (Chen ve ark., 2001; Yamada ve ark., 2002; Deng ve ark., 2002) bu çalışma popülasyonunun menopoz sonrası sağlıklı kadınlarında (108 kontrol) elde edilen genotip dağılımlarının farklı olarak CC %47,2, CT %41,7 ve TT için %11,1 şeklinde olduğu görüldü.

158 menopoz sonrası osteoporozlu kadın ile 108 menopoz sonrası sağlıklı kadın üzerinde yapılan çalışmada, hasta ve kontrollere ait genotip dağılımları ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı saptandı (sırasıyla $p=0,293$ ve $p=0,437$) (Tablo 22). Genotiplerden; CC+CT ile TT, CC genotipi ile TT+CT karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan bir ilişkinin olmadığı anlaşıldı [sırasıyla $p=0,850$ OR=1,159 %95CI (0,541–2,483) ve $p=0,209$ OR=0,730 %95CI (0,447–1,193)] (Tablo 22).

Bu çalışma popülasyonuna benzer şekilde, 261 Beyaz Amerikalı menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınla çalışan Sowers ve arkadaşları da, osteoporozla -298 C>T polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığını ifade etmişlerdir ($p>0,05$) (Sowers ve ark., 1999). Mo ve arkadaşlarının 169 menopoz sonrası ve 388 menopoz öncesi Çin kökenli kadında yaptıkları çalışma da, osteoporoz ile -298 C>T polimorfik alleli arasında bir

ilişkinin olmadığını göstermiştir ($p = 0,073$) (Mo ve ark., 2004). Jiang ve arkadaşlarının 402 çekirdek aileye mensup 1263 menopoz öncesi kadında yaptıkları çalışmada osteoporozla -298 C>T polimorfizmi arasında bir ilişkinin olmadığını göstermiştir ($p > 0,005$) (Jiang ve ark., 2007). Zhao ve arkadaşlarınca 205 menopoz sonrası Çin kökenli kadında yapılan çalışmada da osteoporozla -298 C>T polimorfizmi arasında yine herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Zhao ve ark., 2005).

Bu çalışmadan saptanan sonuçlardan farklı olarak, Dohi ve arkadaşlarınca menopoz sonrası 160 Japon kökenli kadında yapılan çalışma sonuçlarının; homozigot CC polimorfik genotipine sahip bireylerde osteopeni görülme riskinin 5,74 kat, heterozigot CT genotipine sahip olanlarda ise 1,59 kat fazla olduğu bildirilmiştir ($p < 0,05$ OR= 5,74 %95CI 1.08-30.4) (Dohi ve ark., 1998). Chen ve arkadaşları, Tayvanda yaşayan menopoz sonrası 175 Çin kökenli kadında yaptıkları çalışmada CC genotipine sahip bireylerde osteoporoz görülme riskinin 6,4 kat, CT genotipte sahip olanlarda ise 1,2 kat daha fazla olduğunu göstermiştir ($P < 0,05$ OR=6,4 %95CI 1,0-5.0) (Chen ve ark., 2001). Deng ve arkadaşlarının 596 Avrupa kökenli Beyaz Amerikalı kadınlarda yaptıkları çalışma sonuçları, T allelinin kalçada yüksek KMY değeri ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0,05$) (Deng ve ark., 2002). Gustavsson ve arkadaşlarının İsveçli 97 beyaz kadında yaptıkları çalışma sonuçları, polimorfik C allelinin osteopeni ile ilişkili olduğunu ve osteopeni riskini 4,5 kat arttırdığını göstermiştir ($p = 0,03$) (Gustavson ve Nordström, 2000). Kim ve arkadaşlarınca 267 menopoz sonrası kadında yapılan çalışma sonucunda, lumbar seviyedeki düşük KMY değeri ile T alleli arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p = 0,04$) (Kim ve ark., 2006).

Kompozit analizler için; hasta ve kontrollerin ikili *OS/ESR1*, *OS/COL1A1* ve *OS/CALCR* ve üçlü *OS/COL1A1/CALCR*, *OS/ESR1/CTR* ve *OS/ESR1/CALCR* genotipleri karşılaştırıldığında, iki grubun genotipleri arasında istatistiksel bir ilişkinin olmadığı görüldü ($p > 0,05$) (Tablo 24 ve 25). Xu ve arkadaşları tarafından yapılan *ESR1* ve *OS* geni kompozit analizleriyle saptanan sonuçlar ile benzer şekilde bir ilişkinin olmadığı görüldü ($p > 0,05$) (Xu ve ark., 2010).

5.2. *ESR1* GENİ 397T>C POLİMORFİZMİ

Östrojen hormonu; iskelet oluşumu ve gelişiminde önemli etkilere sahiptir. Bu etkiler arasında; kortikal ve trabeküler kemik metabolizmasının düzenlenmesi, doruk kemik kütlelerine ulaşılması ve kemik kaybının önlenmesi gibi önemli görevler yer alır.

Östrojen, bu etkileri sitozol ve çekirdekte bulunan spesifik östrojen reseptörlerine (ER) bağlanarak yerine getirir (Gennari ve ark. 2005).

ESR1 geninin, intron1 397T>C polimorfizm (Bandres ve ark., 2005) bölgesi, transkripsiyon faktörü *myb*'nin potansiyel tanıma noktasıdır. 397T>C polimorfizminin varlığında C alleli *myb* transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkileyerek transkripsiyonun azalmasına sebep olur (Gennari ve ark., 2005).

ESR'lerin; meme, over, prostat, kolon ve endometrial kanserler, Alzheimer, kardiyovasküler hastalıklar (Clemons, 2002; Fabian, 2005; Haris, 2003), yaşlanma (Yaghmaie ve ark., 2005), obezite (Ohlsson ve ark., 2000) ve şizofrenide geç diskinezi (Lai, 2002) ile ilişkili bir role sahip olduğunu göstermiştir. Son yıllarda çalışılan *ESR1* geni *PvuII* polimorfizminin; preeklampsi (Zhang ve ark., 2009), endometriosis (Govindan ve ark., 2009), spontan abortus (Pineda ve ark., 2010), menopoz sonrası depresyon (Kim ve ark., 2010), inme (Mushi ve ark., 2010), ruhsal durum bozuklukları (Sunderman ve ark., 2010), prematur ovarian yetmezlik (Yoon ve ark., 2010), erkek infertilitesi ve semen parametreleri (Safarinejad ve ark., 2010) ile de ilişkilendirildiği anlaşılmıştır.

Bu çalışmada *ESR1* geni 397T>C polimorfizmi açısından normal populasyonda (108 kontrol) elde edilen genotip dağılımları; TT %22,3, TC %65,7 ve CC için %12 olarak saptanmıştır (Tablo 22). *ESR1* geni 397T>C polimorfizmi açısından normal popülasyonda menopoz sonrası Japon, Çin, İskoç, Hindistan, Arjantin ve Koreli kadınlarda saptanan genotip dağılımlarının bu çalışmaya ait dağılımlardan farklı olduğu (CT>CC>TT) (Kobayashi ve ar., 2002; Ho ve ark., 1999; Albagha ve ark., 2005; Jeedigunta ve ark., 2010; Perez ve ark., 2008; Kim ve ark., 2010) ve ülkemizde menopoz sonrası kadınlarda Erdoğan ve arkadaşlarınca yapılan çalışma ile saptanan genotip dağılımlarıyla uyumlu olduğu görülmüştür (Erdoğan ve ark., 2010).

158 menopoz sonrası osteoporozlu kadın hastada ve 108 menopoz sonrası sağlıklı kadın kontrolde yapılan bu çalışma sonucunda saptanan hasta ve kontrollere ait *ESR1* geni 397T>C genotipleri ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görüldü (sırasıyla $p=0,084$ ve $p=0,113$). Benzer şekilde, TT ile CC+TC genotipleri karşılaştırıldığında yine istatistiksel bir ilişki saptanmadı ($p=0,625$). Ancak, TT+TC ile CC genotipleri karşılaştırıldığında ise anlamlı bir ilişkinin olduğu anlaşıldı [$p=0,039$ OR=2,156 %95 CI (1,083–4,93)] (Tablo 22). Bu sonuçlardan, CC genotipinin osteoporoz açısından iki kat risk oluşturduğu kanaatine varıldı.

Erdoğan ve arkadaşları tarafından Türkiye'de yapılan bir çalışma, 126 menopoz sonrası kadında lumbar vertebral seviyedeki KMY'nin TT genotipli kadınlarda daha

yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($p=0,030$) (Erdoğan ve ark., 2010). Willing ve arkadaşlarınınca 253 kadın üzerinde yapılan çalışmada ise TT genotipli kadınların lumbar seviyedeki omurga KMY değerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Willing ve ar., 1998). Ho ve arkadaşlarının, menopoz sonrası 182 Çin kökenli kadında yaptıkları bir çalışma sonuçları, homozigot TT genotipine sahip bireylerin omurganın torasik ve kosta bölge KMY değerinin düşük olduğunu göstermiştir (Ho ve ark., 2000).

Nam ve arkadaşlarınınca menopoz sonrası 174 Kore kökenli kadınlarda yaptıkları çalışma, polimorfik allel bakımından homozigot CC genotipine sahip kadınların osteoporozla bağlı kalça ve omurga kırık oranlarının daha fazla olduğunu ortaya koymuştur ($p<0,05$) (Nam ve ark., 2005). Wang ve arkadaşları, menopoz sonrası 4297 Çinli kadında yaptıkları çalışmada *ESR1* geni ile ilgili olarak saptadıkları homozigot CC ve TC genotiplerini karşılaştırdıklarında, TT genotipine sahip kadınların omurga lumbar seviye KMY değerinde bir fark görmezken femoral boyun seviyedeki KMY değerlerinin düşük olduğunu belirlemişlerdir ($p=0,038$ OR=1,38 %95 CI 2,68-0,07) (Wang ve ark., 2007). Mitra ve arkadaşları 246 menopoz sonrası Hint kökenli kadında *ESR1* geni *PvuII* polimorfizmini araştırmış ve osteoporotik kadınlarda CC, sağlıklı kadınlarda ise TT genotipini yüksek oranda saptamışlardır. Bu araştırmacılar ayrıca, CC genotipinin osteoporoz oluşumunda yüksek risk faktörü olduğunu göstermişlerdir ($p<0,001$) (Mitra ve ark., 2006). Albagha ve arkadaşları, menopoz sonrası 3054 İskoç kökenli kadında *ESR1* geni *PvuII* ve *XbaI* polimorfik bölgelerini araştırmış ve her iki bölgenin polimorfik alleleline sahip haplotipin (Cx) femoral boyun seviyedeki kemik kaybına yol açtığını saptamışlardır ($p=0,02$) (Albagha ve ark., 2005). Bustamante ve arkadaşları menopoz sonrası 719 İspanyol kökenli kadında *ESR1* genini incelemiş, *PvuII* ve *XbaI* polimorfik bölgelerini araştırarak, ve heriki bölgenin polimorfik alleleline sahip TX haplotipli bireylerin KMY değerinin yüksek olduğunu belirlemişlerdir ($p=0,03$) (Bustamante ve ark., 2007). Jeedigunta ve arkadaşları 477 osteoporotik, 460 sağlıklı kadın kontrolde *ESR1* geni *PvuII* ve *XbaI* polimorfik bölgelerini incelemiş, genotip dağılımları ve allel frekanslarının hasta ve kontrollerde istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğunu saptamışlardır [menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınlarda sırasıyla $p=0,01$ OR=1,69 %95 CI(1,11-2,57) ve $p=0,007$ OR=1,85 %95 CI (1,29-2,67)]. Menopoz öncesi ve menopoz sonrası kadınlarda 397T>C (*PvuII*) polimorfizmi açısından CC genotipli kadınların KMY değerlerinin ve östradiol seviyelerinin düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,0001$ ve $p=0,01$) (Jeedigunta ve ark., 2010). Diğer araştırmacılar farklı olarak, Kobayashi ve arkadaşları, menopoz sonrası Japon kökenli kadınlarda *ESR1* geni *PvuII* ve *XbaI*

polimorfik bölgelerini çalışmış ve TTxx genotipine sahip kadınların omurga lumbar seviyede düşük KMY değerine sahip olduklarını saptanmışlardır (Kobayashi ve ark., 1996; Kobayashi ve ark., 2002).

ESRI geni 397T>C polimorfizmi ile osteoporoz ya da kemik kaybı arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını ifade eden çalışmalar da yapılmıştır. Han ve arkadaşları menopoz sonrası 312 Koreli kökenli kadın, Rapuri ve arkadaşları menopoz sonrası 489 kadında yaptıkları incelemede *ESRI* geni 397T>C polimorfizmi ile osteoporoz arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır ($p>0,05$) (Han ve ark. , 1999; Rapuri ve ark., 2006). Yine, Danimarkalı menopoz sonrası 315 kadın (Bagger ve ark., 2000), menopoz sonrası 177 İspanyol kadın (Bandres, 2005) ve 220 İskoç kökenli kadında yapılan çalışmalarda ise osteoporozla *ESRI* geni 397T>C polimorfizmi arasında bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$) (Albagha, 2001).

Kompozit genotip analizinde; *ESRI/CALCR* genleri, CCTT kompozit genotipi, hasta ve kontrollerde karşılaştırıldığında, osteoporozla yakınlık olduğu saptanmıştır ($p=0,009$). Buna karşın, TCCC kompozit genotipinin kontrollerde fazla görülmesi; koruyucu bir etkiyi düşündürmüştür [$p=0,0125$ OR= 0,323 %95CI (0,1383–0,755)] (Tablo 23). Xu ve arkadaşlarınca *ESRI* ve *OS* geninde yapılan kompozit analizinde ise herhangi bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$) (Xu ve ark., 2010).

Richard ve arkadaşları, Avrupanın 5 farklı ülkesinde 19195 birey üzerinde yaptıkları meta analiz ile, aralarında *ESRI* geninin de bulunduğu dokuz genin, farklı bölge KMY değerlerinde düşüklüğe neden olup osteoporozla neden olduğu gösterilmiştir (Richard ve ark., 2009).

5.3. *COL1A1* GENİ 2046 G>T POLİMORFİZMİ

Col1A1 2046G>T polimorfizm bölgesi transkripsiyon faktörü *Sp1*'in bağlanma bölgesidir. *COL1A1* geninin 1. intronunda bulunan *Sp1* transkripsiyon bölgesi, kollajen transkripsiyonunun kontrolünde görev alır. Bu bölgede bulunan tek nükleotid polimorfizmi *Sp1* transkripsiyon faktörünün bağlanma etkinliğini artırarak, *COL1A1* transkript düzeyini artırır. Böylece bu polimorfizm kollajen $\alpha1$ ürününün kollajen $\alpha2$ 'ye olan oranını arttırmış olur. Artmış kollajen $\alpha1$ de anormal homotrimer yapıda kollajen oluşumunu teşvik eder. Bu durum; kemik kompozisyonu ve mekanik gücünü olumsuz etkiler (Mann ve ark., 2001; Deak ve ark., 1985; Ateş ve ark., 2010).

Col1A1 geni 2046 G>T polimorfizmi çoğunlukla osteoporozla ilişkili bulunmuş olup osteoporozun yanısıra, osteosklerozis (McKenna ve ark., 2004), Chron hastalığı (Todhunter

ve ark., 2005) ve miyokard enfarktüsü riskiyle de (Speer ve ark., 2006) ilişkili olduğu bildirilmiştir. Akut yumuşak doku rüptüründe ise koruyucu etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (Collins ve ark., 2010).

Bu çalışmada sağlıklı kadınlarda (108 kontrol) *Col1A1* geni 2046 G>T polimorfizmi ile ilgili genotiplerin GG %44,4 GT %25,4 ve TT %10,2 olduğu saptandı (Tablo 22). Bu sonuçlar, Maltalı menopoz sonrası kadınların genotip dağılımı ile benzerlik göstermiştir (Hubacek ve ark., 2006). Tokat civarında yapılan bir çalışma sonucunda *Col1A1* geni 2046 G>T polimorfizmi ile ilgili olarak saptanan GG %64,4 GT %31,11 TT %4,44 şeklindeki genotip dağılımları bu çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur (Ateş ve ark., 2010). Afyon (Erdoğan ve ark., 2010) ve Antalya (Şimşek ve ark., 2008) çevresinde yapılan çalışmalar ile Amerikalı beyaz kadınlarda görülen genotip dağılımları (McKenna ve ark., 2004) ise bu çalışma sonuçlarıyla farklılık göstermiştir (GG>GT>TT).

Menopoz sonrası 158 osteoporozlu kadında menopoz sonrası 108 sağlıklı kadın kontrolde yapılan bu çalışmadan sağlanan hasta ve kontrollerin *Col1A1* geni 2046 G>T genotip dağılımları ve allel frekansları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığı anlaşılmıştır (sırasıyla $p=0,283$ ve $p=0,491$). GG+GT ile TT ve GG ile GT+TT genotipleri karşılaştırıldığında da istatistiksel açıdan bir ilişkiye rastlanmamıştır (sırasıyla $p=0,204$ ve $p=0,936$) (Tablo 22).

Bu çalışmanın ortaya koyduğu sonuçlara benzer olarak, Hubacek ve arkadaşlarının menopoz sonrası 218 (Hubacek ve ark., 2006) Çek kadında ve Vidal ve arkadaşlarınca 126 Maltalı kadında yapılan çalışmalar sonucunda, *Col1A1* geni *Sp1* polimorfizmi ile osteoporoz arasında bir ilişkinin olmadığı görülmüştür ($p>0,05$) (Vidal ve ark., 2007).

Col1A1 geni +2046 G>T polimorfizmini ilk tanımlayan Grant ve arkadaşları, çalışmasında 205 İskoç ile 94 İngiliz kadından oluşan iki gruptan elde edilen heriki grupta da TT genotipinin omurga seviyesindeki düşük KMY değeri (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,025$) ile kırık oluşturmaya ($p<0,01$) eğilim taşıdığını göstermişlerdir (Grant ve ark., 1996). Menopoz sonrası 734 İskoç kadında yapılan bir başka çalışmada ise *Col1A1* geni TT genotipi lumbar bölgede düşük KMY değeri ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,026$) (Mac Donald ve ark., 2001). Nguyen ve arkadaşlarının menopoz sonrası 677 Avustralyalı beyaz kadında yaptığı çalışmada TT genotipinin, KMY ile ilişkili olmadığı, ancak kalça kırığı riskini arttırdığını göstermiştir (Nyugen ve ark., 2005). Ralston ve arkadaşları, Avrupalı 20786 kadında yaptıkları çalışma sonucunda saptadıkları TT genotipini femoral boyun ($<0,001$) ve omurga lumbar seviye (0,039) düşük KMY değeri ile ilişkili bulmuştur (Ralston ve ark., 2006). Bustamante ve arkadaşları, menopoz sonrası 719 İspanyol kadında

yaptıkları çalışma ile *COL1A1* geni +2046 G>T ve -1997G>T haplotipini, lumbar seviye KMY değeri düşüklüğü ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir ($p<0,01$) (Bustamante ve ark., 2007). Bunun yanısıra, Yazdanpanah ve arkadaşları TT genotipinin osteoporozla bağlı kırık riskini 2.3 kat arttırdığını göstermişlerdir ($p=0,001$) (Yazdanpanah ve ark., 2007). Meksikalı kadınlarda yapılan bir çalışma ise polimorfik T allelinin osteoporozlu kadınlarda daha yüksek frekansta olduğunu göstermiştir ($p<0,0001$) (Ramirez, 2010).

Amerikada menopoz sonrası 308 beyaz kadınla çalışan Liu ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada 1997G>T ve 2046 G>T polimorfizmleri GG görüldüğü bireylerde KMY değerlerinin yüksek olduğunu göstermiştir (Liu ve ark., 2004). Steward ve arkadaşlarının 3270 kadında yaptığı çalışmada, (1997G/1663delT/2046T) haplotipi bakımından homozigot olan bireylerin omurga lumbar seviyede (0,007) ve femoral boyunda ($p=0,0008$) düşük KMY değerine sahip olduklarını ortaya koymuştur (Steward ve ark., 2006). Ayrıca, 32 çalışmada çoğunluğu kadın olan 24.511 kişinin incelendiği bir meta analizde, *COL1A1* 2046 G>T polimorfizminin KMY'yi biraz azalttığı ve kırık riskini arttırdığı gösterilmiştir (Jin ve ark., 2010).

Bu çalışmada hasta ve kontrollerde görülen *OS/COL1A1* CCTT kompozit genotip dağılımının karşılaştırılması sonucunda, yatkınlık gösteren anlamlı bir ilişkinin varlığı ortaya konmuştur ($p=0,027$) (Tablo 23). Diğer kompozit genotipler karşılaştırıldığında ise herhangi bir ilişkinin olmadığı anlaşılmıştır ($p>0,05$) (Tablo 24 ve 25).

5.4. *CALCR* GENİ 1340T>C POLİMORFİZMİ

Kemik dokusuna etki eden kalsitonin hormonu, paratiroid hormonunun aksine, kan kalsiyum iyon yoğunluğunu düşürmektedir. Osteoklast hücreleri üzerinde yer alan kalsitonin reseptörü, G protein eşlikli bir reseptördür. Kalsitonin hormonu bu reseptöre bağlanır ve Ca hemeostazisini sağlayarak kemik formasyonu ve metabolizmasını yönlendirir (Purdue ve ark., 2002).

İnsan *CALCR* geninin en az altı splicing varyantı vardır. Bunlardan ikisi CTR-1 ve CTR-2 olarak bilinen proteinleridir (Gorn ve ark., 1995; Moore ve ark., 1995; Sexton ve ark., 1999; Albrandt ve ark., 1995, Chen ve ark., 1997). CTR-1'de ilk intraselüler domain içinde 16 amino asitlik bir dizinin araya girmesi CTR-2 oluşumuna neden olur. Kalsitonin hormonunun, CTR2 ile etkileşip kemik resorpsiyonunu engellediği düşünüldüğünden, in vitro çalışmalarda CTR-2 tercih edilmektedir (Wolfe ve ark., 2003). *CALCR*'nin kısa formu olan CTR-1, 1340. nükleotid pozisyonundaki timinin (T) sitozine (C) değişimidir.

447. kodonun üçüncü pozisyonundaki T/C baz değişimi sonucunda lösin yerine prolin kodlanmaktadır. *CALCR*'nin kısa formu olan CTR-1'deki 1340. nükleotid ve 447. kodon, uzun formu olan CTR-2'de 1377. nükleotid ve 463. kodona karşılık gelmektedir.

İncelediğimiz polimorfizm, *CALCR* geninde ekzon 13'te 1340T>C değişimidir. Bu polimorfizm transmembran proteininin intraselüler üçüncü domaininde Lösin →Prolin (Leu447Pro) değişimine neden olur. Leu447Pro değişiminin kalsitonin reseptörünün sekonder yapısını değiştirerek, reseptörün biyolojik aktivitesini değiştirebileceği öne sürülmektedir (Taboulet ve ark., 1998).

CALCR geni 1340T>C polimorfizmi ilk defa Nakamura ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Nakamura ve ark., 1997). *CALCR* geni 1340T>C polimorfizmi daha çok osteoporoz ve kemik mineral yoğunluğu ile ilgili düzensizliklerde çalışma konusu yapılmıştır.

CALCR 1340T>C polimorfizmi, çalışılan populasyonlarda farklı sıklıklarda gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, menopoz sonrası sağlıklı 108 kadın kontrolde saptanan genotip dağılım oranlarının TT homozigot formu için %28.7, TC heterozigot formu için %50.9 ve CC homozigot formu için %20.4 olduğu ve oranların; İtalya, İspanya ve Afrika kökenli Amerikalılarda saptanan oranlarla benzerlik taşıdığı (Masi ve ark., 1998; Wolfe ve ark, 2003), Japon (Nakamura ve ark., 2001), Tayvanlı (Tsai ve ark., 2003) menopoz sonrası (CC>TC>TT) kadınlarda ve Amerikalı beyaz ve Fransız beyaz kadınlarda saptanan oranlardan farklı olduğu ortaya çıkmıştır (TT>TC>CC) (Wolfe ve ark, 2003; Taboulet ve ark., 1998).

CALCR geni 1340T>C polimorfizmi ile ilgili olarak hasta ve kontrollerden saptanan genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı anlaşıldı (sırasıyla $p=0,091$ ve $p=0,097$). TT+TC ile CC polimorfik genotipi karşılaştırıldığında, CC genotipinin osteoporozda koruyucu etkisinin olduğu gözlemlendi ($p=0,045$, %95 CI, OR= 0,471 (0,237–0,9372). TT genotipi ile TC+CC karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan bir ilişkinin olmadığı görüldü ($p=0,404$) (Tablo 22).

Masi ve arkadaşlarınca, menopoz sonrası (141 normal, 166 osteoporotik) 307 İtalyan kadında yapılan çalışma sağlıklı kontrollerde (TT: TC: CC=34.7: 41.7: 23.6) genotip dağılımını, osteoporotik olanlarda ise (TT: TC: CC=38: 47: 15) olduğunu göstermiştir ($p=0,01$) TT genotipli bireylerin KMY değerlerinin CC genotipli olanlara göre, daha düşük olduğu da gösterildi (Masi ve ark., 1998). Taboulet ve arkadaşları, 215 menopoz sonrası kadında çalışmış ve *CALCR* geni 1340T>C polimorfik genotipleri arasında heterozigot TC genotipe sahip olan menopoz sonrası kadınlarda, TT ve CC genotipli

olanlara göre, daha yüksek KMY ve osteoporozla bağlı kırıkların azaldığını ($p<0,037$) ve *CALCR* geni 1340T>C polimorfik bölgenin heterozigot formunu taşıyan bireylerde osteoporozla bağlı kırık riski açısından heterozigot üstünüğü olduğunu öne sürmüş (Taboulet ve ark., 1998), *CALCR* geni 1340T→C (Leu447Pro) varyantının ise kalsitonin reseptör proteininin sekonder yapısını değiştirdiğini ve proteinin biyolojik aktivitesini etkilediğini belirtmişlerdir (Taboulet ve ark., 1998). Wolfe ve arkadaşları da, invitro çalışmalarıyla Kalsitonin reseptöründeki prolin ve lösin varyantlarının; reseptörün kalsitonin hormonuna bağlanmasında ve fonksiyon yapmasında anlamlı bir fark olmadığını göstermişlerdir (Wolfe ve ark., 2003). Wolfe ve arkadaşlarını bu bulgusu, araştırılan hasta ve kontroller arasında genotip dağılımları ile allel frekansları açısından bir ilişkinin bulunmaması sonucunu desteklemiştir (sırasıyla $p=0,091$, $p=0,097$). Buna karşın, CC homozigot genotipinin kontrol grubunda fazla olması istatistiksel açıdan bu genotipin koruyucu olduğunu düşündürmüştür ($p=0,045$ %95 CI OR=0,471 (0,237-0,9372)). Diğer çalışmalarda da genel olarak osteoporotik olmayan normal kadınlarda (CC) genotipi frekansının, (TT) genotipine oranla, daha yüksek gösterilmiştir (Nakamura ve ar., 1997; Masi ve ark., 1998; Masi ve ark., 2001; Tsai ve ark., 2003; Bandres ve ark., 2005).

Tsai ve arkadaşlarınca menopoza sonrası 167 Tayvanlı kadında yapılan çalışmada saptanan homozigot (TT) bireylerin omurga lumbar ve femoral boyun bölgesinde en düşük KMY değerine sahip olduğu (TT: CT: CC=2.4: 22.2: 75.4) ve bu bireylerin osteoporoz açısından büyük risk sahibi oldukları ifade edilmiştir (Tsai ve ark., 2003). Bu sonuçlarla paralellik gösteren varyant allelin koruyucu etki gösterdiği sonuçlarımız, lösin varyantının reseptörün kalsitonin hormonuna bağlanma etkinliğini arttırabileceği yönündedir.

Bandres ve arkadaşlarınca, menopoza sonrası 177 aynı yaşta İspanyol kadında yapılan çalışmada, femoral boyunda düşük KMY değerinin, *CALCR* geni 1340T>C polimorfizmi homozigot (TT) lösin formu ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,035$) (Bandres ve ark., 2005). Drews ve arkadaşlarının menopoza sonrası 139 osteopenik Polonyalı kadında yaptığı çalışma ile, genotip dağılımları CC: CT : TT = 8.6: 45.3: 46.1 şeklinde saptanmış ve Taboulet ve arkadaşlarının bulgularına benzer şekilde CT genotipli bireylerin yüksek KMY değerine sahip oldukları tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Drews ve ark., 2005; Taboulet ve ark., 1998). Bu çalışmaların aksine, 2010 yılında Lee ve arkadaşları, menopoza sonrası Koreli 729 kadında yaptıkları çalışma ile kırık ve KMY ile *CALCR* 1340T>C polimorfizmi arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (Lee ve ark., 2010).

Çalışma grubu hasta ve kontrollerde kompozit genotip analizleri *ESR1/CALCR* CCTT karşılaştırıldığında, osteoporozla yakınlık gösteren bir ilişkinin olduğu görülmüştür

($p=0,009$). Buna karşın, TCCC kompozit genotipinin kontrollerde fazla olması, koruyucu bir ilişkinin olabileceğini düşündürmüştür [($p=0,0125$ OR= 0,323 %95CI (0,1383–0,755)] (Tablo 23).

Bu çalışma ile dört polimorfik gen bölgesinin *OS* -298 T>C, *ESRI* 397 T>C, *ColIA1* 2046 G>T ve *CALCR* 1340 T>C polimorfizmlerinin SNP etkileşimleri araştırıldı ve üçlü ve dördü kompozit genotip analizi sonucunda hasta ve kontroller arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı saptandı (Tablo 24 ve 25).

OS -298 T>C, *ESRI* 397 T>C, *ColIA1* 2046 G>T ve *CALCR* 1340 T>C polimorfizmlerinin kompozit analizleri bu alanda yapılan ilk araştırma örneği olmuştur. Bu özellik, çalışmayı orijinal ve özgün kılmıştır. Ancak araştırma sonuçlarının daha orijinal hale gelmesi, Samsun ve çevresinde elde edilen bu verilerin diğer bölgelerden de elde edilecek veriler ile birleşmesi ve uyuşması ile mümkün olacaktır.

3. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaşam sürecinin uzamasına paralel olarak, osteoporoz önemli bir halk sağlığı sorunu olmuştur (Mohammed, 2000; Melton ve ark., 1997). Dünyada 200 milyonu aşkın kadında osteoporoz görülmektedir. Osteoporozun neden olduğu kırıklar arasında kalça kırıkları önemli bir yer tutmaktadır. Kalça kırıklarının tedavisine harcanan maliyetin önümüzdeki 25 yılda 2 katına çıkacağı bildirilmektedir (Gennari ve ark., 2002). ABD istatistik verilerine göre, önümüzdeki yıllarda Osteoporozu önleyici kuvvetli önlemler alınmazsa, osteoporozun tedavisi için gereken maliyet daha da artacaktır (Norris, 1992).

Osteoporozun patogeneğinde rol alan genleri farklı genlerin polimorfizmlerinin tespit edilmesi ve bunların osteoporoz ile muhtemel ilişkilerinin ortaya konması; osteoporozun erken tanısında, yatkınlığı olan kişilerle ilgili önlem almasında ve hastalığın klinik seyrinin takibinde bize yol gösterici olacaktır. Bu, aynı zamanda, yeni tedavi protokollerinin sağlanması ve daha iyi klinik uygulamaların oluşturulmasını da sağlayacaktır.

Orta Karadeniz Bölgesi, Samsun ve çevresinde yaşayan menopoz sonrası Osteoporozlu kadın hastaların araştırıldığı bu çalışma neticesinde; *OS* -298 C>T polimorfizmi ile osteoporoz arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkinin olmadığı görülmüştür. *ESR1* geni TT+TC genotipleri ile CC genotipi karşılaştırıldığında, CC genotipinin osteoporoz için risk faktörü olduğu anlaşıldı [$p=0,039$ %95 CI OR=2,156 (1,083-4,293)]. *Col1A1* geni 2046 G>T polimorfizmi genotipleri ile allel sıklıkları karşılaştırıldığında, hasta ve kontroller arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı anlaşıldı ($p>0,05$). *CALCR* geni TT+TC genotipleri ile CC polimorfik genotipi karşılaştırıldığında ise koruyucu bir etkinin olduğu görüldü [$p=0,045$ %95 CI, OR= 0,471 (0,237–0,9372)]. Kompozit genotip analizinde, *ESR1/CALCR* TCCC kompozit genotipinin osteoporozu karşı koruyucu etkiye sahip olduğu [$p=0,0125$ %95 CI OR= 0,323 (0,1383–0,755)], ancak, *OS/Col1A1* CCTT ve *ESR1/CALCR* CCTT kompozit genotiplerinin ise osteoporoz için risk unsuru olduğu görüldü (sırasıyla $p=0,027$, $p=0,0090$).

Sonuç olarak; polimorfik genotiplerden *ESR1* geni CC ve kompozit genotiplerden *OS/COL1A1* CCTT ve *ESR1/CALCR* CCTT'nin osteoporozu yatkınlığa neden olduğu buna karşın, *CALCR* geni CC genotipinin ve *ESR1/CALCR* TCCC genotipinin ise osteoporoz için koruyucu etki gösterdiği anlaşıldı. Samsun yöresinde, menopoz sonrası kadınlar üzerinde yapılan bu ilk çalışmanın, ülkemiz genelinde genişletilmesi ve elde edilecek verilerin değerlendirilmesi durumunda, beklenen hedeflere ulaşılacağı ve insan sağlığına katkıda bulunacağı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

Albagha O.M., Pettersson U, Stewart A, McGuigan F, MacDonald H, Reid D, and Ralston S J. (2005). Association of oestrogen receptor α gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone. *Journal of Medical Genetics*, **42(3)**, 240–246.

Albagha O.M., Fiona E.A. McGuigan, David M. Reid, and Stuart H. R. (2001). Estrogen Receptor α Gene Polymorphisms and Bone Mineral Density: Haplotype Analysis in Women from the United Kingdom. *Journal Of Bone and Mineral Research*, **16(1)**, 128-34.

Albagha O.M., McGuigan F.E., Reid D.M., Ralston S.H. (2001). Estrogen Receptor α Gene Polymorphisms and Bone Mineral Density: Haplotype Analysis in Women from the United Kingdom. *Journal Of Bone and Mineral Research*, **16(1)**, 128-134.

Albrandt E.M., Brady C.X., Moore E. Mull M.E., Sierzega K. and Beaumont K. (1995). Molecular cloning and functional expression of a third isoform of the human calcitonin receptor and partial characterization of the calcitonin receptor gene. *Endocrinology*, **136(12)**, 5377–5384.

Aloia A. Vaswani J.K. Yeh, E. and Flaster, S. (1996). Risk for osteoporosis in black women. *Calcified Tissue International*, **59(6)**: 415–423.

Arasıl T. (2001). Osteoporozda Medikal Tedavi, Yeni Tedavi Stratejileri, Kombine Tedaviler Modern Tıp Seminerleri, *Osteoporoz'da*. Editör, Kutsal YG, Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., **17**, 171-187.

Arden N.K., Baker J., Hogg C., Baan K., Spector T.D. (1996). The heritability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneous and hip axis length: a study of postmenopausal twins. *Journal Of Bone And Mineral. Research*, **11**, 530–534.

Ateş Ö., Büdeyri N., Müsellim B, Öngen G., Sarıkaya A.T. (2010). Sistemik sklerozda COL1A1 ve COL1A2 gen polimorfizmlerinin incelenmesi. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, **32**, 181-185.

Auerbach N., Klein A., and Siciliano R.E., (1985). Isospin composition of giant resonances and asymmetries in compared to inelastic scattering. *Physical Review*, **31**: 682 – 685.

Avioli L.V. (1998). The role of calcitonin in the prevention of osteoporosis, Osteoporosis. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **27(2)**: 411–418.

Babiker F.A., De Windt L.J., van Eickels M., Grohe C., Meyer R., Doevendans P.A. (2002). Estrogenic hormone action in the heart: regulatory network and function. *Cardiovascular Research*, **53(3)**, 709–19.

Bagger Y.Z., Jørgensen H.L., Heegaard A.M., Bayer L., Hansen L., Hassager C. (2000). No major effect of estrogen receptor gene polymorphisms on bone mineral density or bone loss in postmenopausal Danish women. *Bone*, **26(2)**, 111–116.

Baghdiantz A., Foster G.V., Edwards A., Kumar M. A., Slack E., Soliman H. A. & Macintyre I. (1964). Extraction and purification of calcitonin. *Nature*, **203**, 1027-1028.

- Baker R., Lynch J., Ferguson L, Priestley L, Sykes B., (1991). PCR detection of five restriction site dimorphisms at the type I collagen loci COL1A1 and COL1A2. *Nucleic Acids Research*, **19(15)**, 4315-16.
- Bandres E., Pombo I., Gonzalez-Huarriz M., Rebollo A., Lopez G. and Garcia Foncillas J. (2005). Association between bone mineral density and polymorphism of the VDR, ERalpha, COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women. *Journal of Endocrinological Investigation*, **28(4)**, 312-21.
- Banerjee C., McCabe L.R., Hiebert S.W., Stein J.L., Stein GS, Lian J.B.(1997). Runt homology domain proteins in osteoblast differentiation: AML3/CBFA1 is a major component of a bone-specific complex. *Journal of Cellular Biochemistry*. **66(1)**,1-8.
- Baron R. (1993). Anatomy and Ultrastructure of bone. In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Ed.Favus MJ. 2 nd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, **1**, 3-9.
- Beato M, Sanchez-Pacheco A. (1996). Interaction of steroid hormone receptors with the transcription initiation complex. *Endocrine Reviews*, **17**, 587–609.
- Bonner FJ, Chesnut CH, Fitzsimmons A and Lindsay R. (1998). Osteoporosis. In: *Rehabilitation Medicine: Principles and Practise*. 3 rd ed. Ed(s), De Lisa JA, Gans BM, Philadelphia, Lippincott-Raven, **58**, 1453-1475.
- Bronner F., (1994). Calcium and Osteoporosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **60**, 831-6.
- Bustamante M. Nogués X. A. Enjuanes et al. (2007). COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women. *Osteoporos International*, **18**, 235–243.
- Caliri A., De Filippis L., Bagnato GL. and Bagnato G.T. (2007). Osteoporotic fractures: mortality and quality of life. *Panminerva Medica*, **49(1)**, 21-7.
- Celeste AJ, Rosen V, Buecker JL, Kriz R, Wang EA and Wozney JM. (1986). Isolation of the human gene for bone glaprotein utilizing mouse and rat cDNA clones. *The EMBO Journal*, **5**, 1885-90.
- Chakravarti A. (1998). It's raining SNPs, hallelujah? *Nature Genetics*, **19**, 216-217.
- Chambers T.J., Dunn, C.J. (1983). Pharmacological control of osteoclastic motility. *Calcified Tissue International*, **35**: 566–579.
- Chambers T.J. Moore, A. (1983). The sensitivity of isolated osteoclasts to morphological transformation by calcitonin. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **57(4)**: 819–824.
- Chen H., S. Armour, J. Way, G. Chen, C. Watson, P. Irving, J. Cobb, S. Kadwell, K. Beaumont, T. Rimele, T. and Kenakin, A. (1997). Expression cloning and receptor

pharmacology of human calcitonin receptors from MCF-7 cells and their relationship to amylin receptors. *Molecular Pharmacology*, **52**: 1164–1175.

Chen H., Tsai H., Chen W., Wu J., Tsai F. And Tsai C. (2001). Relation of Polimorphism in the Promotor Region for the Human Osteocalcin Gene to Bone Mineral Density Occurrence of Osteoporosis in Postmeopausal Chinese Women in Taiwan. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **15**, 251-255.

Christiansen C, Lindsey R. (1991). Eustrogens, bone mass and preservation. *Osteoporosis International*, **1**, 7-13.

Clemens J.D., Herrick M.V., Singer F.R., Eyre D.R. (1997). Evidence that serum NTX (collagen-type I N-telopeptides) can act as an immunochemical marker of bone resorption. *Clinical Chemistry*, **43**, 2058-2063.

Clemons M., Danson S., Howell A. (2002). "Tamoxifen (Nolvadox): A Review," *Cancer Treatmens Reviews*. **28**, 165-180.

Cockerill F.J., Hawa N.S., Yousaf N., Hewison M., O’Riordan J.L., Farrow S.W. (1997). Mutations in the vitamin D receptor gene in three kindreds associated with hereditary vitamin D resistant rickets. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **82**, 3156–60.

Cole D.E.C, Peltekova V.D., Rubin L.A., Hawker G.A., Vieth R., Liew C.C., Hwang D.M., Evrovski J., HENDY G.N. (1999). A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor and circulating calcium concentrations. *Lancet*, **353**, 112-115.

Collins F.S., Guyer M.S., Charkravarti A. (1997). Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science*, **278**, 1580-1581.

Collins M., Posthumus M.,1 Schwellnus M. P. (2010). The *COL1A1* gene and acute soft tissue ruptures. *British Journal of Sports Medicine*, **44**,1063–1064.

Cooper G.S., Umbach D.M. (1996). Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *Journal of Bone and Mineral Research*, **11**, 1841–49.

Copp D.H. (1992). Remembrance: calcitonin: discovery and early development. *Endocrinology*, **131 (3)**: 1007–1008.

Copp E.C., Cameron B., Cheney A.G.F., Davidson K. and Henze K. 1962. Evidence for calcitonin—a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. *Endocrinology*, **70**: 638–649.

Cummings S.R., Vevitt M.C., Browner W.S., Stone K., Fox K.M., Ensrud K.E., Cauley J., Black D., and Vogt T.M. (1995). Risk factors for hip fracture in white women. *The New England Journal of Medicine*, **332**, 767-773.

Cundy T., Cornish J., Evans M.C., Gamble G., Stapleton J., Reid I.R. (1995). Sources of inter-racial variation in bone mineral density, *Journal of Bone and Mineral Research*, **10**, 368–373.

Cvijetic S., Grazio S., Kastelan D. and Korsic M. (2007). Epidemiology of osteoporosis. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, **58(1)**, 13-8.

Dacquin R., Davey RA., Laplace C., Levasseur R., Morris HA., Goldring SR., Gebre-Medhin S., Galson DL., Zajac JD., Karsenty G. (2004). Amylin inhibits bone resorption while the calcitonin receptor controls bone formation in vivo. *The Journal of Cell Biology*, **164(4)**, 509–514.

Deak S.B., Van der Rest M., Prockop D.J., (1985). Altered helical structure of a homotrimer of alpha 1(I) chains synthesized by fibroblasts from a variant of osteogenesis imperfecta. *Collagen and Related Research*, **5(4)**, 305-13.

Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 2.3.1. www.OpenEpi.com, updated 2010/19/09, accessed 2011/02/21.

Delaney MF, Leboff SM. (2001). Metabolic Bone Disease. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. Ed(s). Shaun R, Edward DH, Clement BS, Philadelphia, 1635-53.

Deng H.W., Xu FH, Conway T et al. (2001). Is population bone mineral density variation linked to the marker D11S987 on chromosome 11q12-13? *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 3735-41.

Deng H.W., Mahaney M.C., Williams J.T. (2002). Relevance of the genes for bone mass variation to susceptibility to osteoporotic fractures and its implications to gene search for complex human disease. *Genetic Epidemiology*, **22**, 12-25.

Dennison, N., Yoshimura, T., Hashimoto, C. and Cooper, G. (1998). Bone loss in Great Britain and Japan: a comparative longitudinal study. *Bone*, **23 (4)**: 379–382.

Dequeker J, Mundy GR. (1998). Bone structure and function. In: *Rheumatology*, 2nd ed, Eds, Klippel JH, Dieppe PA, London: Mosby, **8(34)**, 1-12.

Dequeker J, Nijs N, Verstraeten A, Geusens P, Gevers G. (1987). Genetic determinants of bone mineral content at the spine and radius: a twin study. *Bone*, **8**, 207–209.

DeRose, F.R., Singer, A., Avramides, A. Flores, R., Dziadiw, R.K. Baker, S. And Wallach, S.H. (1974). Response of Paget's disease to porcine and salmon calcitonins. *The American Journal of Medicine*, **56 (6)**: 858–866.

Devine A, Criddle RA, Dick IM, Kerr DA, Prince RL., (1995). A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **62(4)**, 740-5.

Dohi Y., Iki M., Ohgushi H., Gojo S., Tabata S., Kajita E., Nishino H. and Yonemasu K. (1998). A novel polymorphism in the promoter region for human osteocalcin gene: the

possibility of a correlation with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Journal of Bone and Mineral Research*, **13**, 1633-9.

Don Haeng L. ve Ki-Baik H. (2008). Inflammatory cytokine gene polymorphisms and gastric cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **22**, 1465-1472.

Douglas, J., Duckworth, J.A., Kanis, A.A., Jefferson, T.J., Martin, R.G. and Russell, G. (1971). Spinal cord dysfunction in Paget's disease of bone. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, **63B** (4), 495-503.

Drewnowski K., Seremak-Mrozikiewicz A., Bartkowiak-Wieczorek J. et al. (2005). Genetic polymorphism of the calcitonin receptor gene and bone mineral density in Polish population of postmenopausal women. *Ginekologia Polska*, **76**(8), 612-8.

Durmaz B. (2004). Biyokimyasal Göstergeler. *Osteoporozda Kemik Kalitesi'nde*. Ed, Kutsal YG . Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., **8**, 175-189.

Econs M.J., Speer M.C., (1996). Genetic studies of complex diseases: let the reader beware. *Journal of Bone and Mineral Research*, **11**, 1835-1840.

Erdogan M.O., Yıldız H., Artan S., Solak M., Taşcıoğlu F., Dündar U., Eser B and E. Çolak E. (2010). Association of estrogen receptor alpha and collagen type I alpha 1 gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women Osteoporosis International. *Osteoporosis International*, [Epub ahead of print].

Eryavuz M.(1998). Osteoporozun tanımı ve sınıflandırılması. *Osteoporoz'da*. Ed: Kutsal YG. İstanbul, 1-7.

Fabian CJ, Kimler BF. (2005). Selective estrogen-receptor modulators for primary prevention of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **23**(8), 1644-55.

Feldman, N.S., Drieger, A.H. and Tashjian, A.H. (1980). Effects of parathyroid hormone and calcitonin on osteoclast formation in vitro. *Endocrinology*, **107**: 1137-1143.

Ferrari S., Garnero P., Emond S. et al. (2001). A functional polymorphic variant in the interleukin-6 gene promoter associated with low bone resorption in the postmenopausal women. *Arthritis and Rheumatism*, **44**, 196-201.

Frost H.M. (1992). The role of changes in mechanical usage set points in the pathogenesis of osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, **7**, 253-61.

Garcia-Closas M., Hankinson S.F, Ho S., Malins D.C., Polissar N.L., Schaefer S.N., Su Y., Vinson M.A. (2000). Factors critical to the design and execution of epidemiologic studies and description of an innovative technology to follow the progression from normal to tumor tissue. *Journal of National Cancer Institute Monographs*, **27**, 147-156.

Garnero P., Rendu E.S., Chapuy M.C. (1996). Increase bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, **3**, 337-349.

Gennari L., Becherini L., Gonnelli S. et al. (2000). Hormonal and Genetic Determinations of Bone Lose in Aged Man: Evidence of a Major Role of Aromatase Gene Polimorphism. *Journal of Bone and Mineral Research*, **15**, 163.

Gennari L., Becherini L., Falchetti A., Masi L., Massart F., Brandi M.L. (2002). Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **81**, 1-24.

Gennari L., Merlotti D., De Paola V., Calabrò A., Becherini L., Martini G., and Nuti R.. (2005).Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and the Genetics of Osteoporosis: A HuGE Review. *American Journal of Epidemiology*, **161(4)**, 307-320.

Ghosh AK. (2002). Factors involved in the regulation of type I collagen gene expression: implication in fibrosis. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, **227**, 301-14.

Gong Y., Vikkula M., Boon L. et al. (1996). Osteoporosis-pseudoglioma syndrome, adisorder affecting skeletal strength and vision, is assgnerd to chromosome region 11q12-13. *American Journal of Human Genetics*, **59**, 146-51.

Gorn S.M., Rudolph M.R., Flannery C.C., Morton S., Weremowicz J., Wang S.M., Krane S.R., and Goldring S.R., (1995). Expression of two human skeletal calcitonin receptor isoforms cloned from a giant cell tumor of bone. The first intracellular domain modulates ligand binding and signal transduction. *The Journal of Clinical Investigation*, **95**: 2680–2691.

Govindan S., Shaik N.A., Vedicherla B., Kodati V., Rao K.P., Hasan Q. (2009). Estrogen receptor-alpha gene (T/C) Pvu II polymorphism in Endometriosis and uterine fibroids. *Disease Markers*, **26(4)**, 149-54.

Grant S.F.A., Reid D.M., Blake G. et al. (1996). Reducaed bone density and osteoporosis associated with a polymorphic spl site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nature Genetics*, **14**, 203-205.

Gross C., Eccleshall T.R., Malloy P.J. et al. (1996). The presence of polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *Journal of Bone and Mineral Research*, **11**, 1850-1855.

Gustavsson A., Nordström P. (2000). Osteocalcin gene polymorphism is related to bone density in healthy adolescent females. *Osteoporosis International*, **11(10)**, 847-51.

Guéguen R., Jouanny P., Guillemin F., Kuntz C., Pourel J., Siest G. (1995). Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. *Journal of Bone and Mineral Research*, Dec;**10(12)**, 2017-22.

Gür S. (2004). Kemik kalitesi ve kırık ilişkisi. *Osteoporozda kemik kalitesi'nde*. Kutsal YG (ed.). Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., **11**, 235-250.

Halkin, J.Y., Reginster, S. (1998). Efficacy and tolerability of calcitonin in the prevention and treatment of osteoporosis. *BioDrugs*, **10 (4)**: 295–300.

- Han K., Choi J., Moon I., Yoon H., Han I., Min H., Kim Y., Choi Y. (1999). Non-association of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and bone turnover in Korean pre-, peri-, and postmenopausal women. *Osteoporosis International*, **9**(4), 290–295.
- Han K.O., Moon Y.S., Kang Y.S. et al. (1997). Nonassociation of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and estrogen responsiveness to hormone replacement therapy in Korean postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, **82**, 991-995.
- Harris H.A., Albert L.M., Leathurby Y., Malamas M.S., Mewshaw R.E., Miller C.P., Kharode Y.P., Marzolf J., Komm B.S., Winneker R.C., Frail D.E., Henderson R.A., Zhu Y., Keith J.C. (2003). Evaluation of an estrogen receptor-beta agonist in animal models of human disease. *Endocrinology*, **144** (10), 4241–9.
- Harris S.S., Dawson-Hughes B. (1994). Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **60**, 573–78.
- Hatun H., Holth L.T., Walker D., Davie J.R., Hager G.L. (1999). Direct visualization of the human estrogen receptor alpha reveals a role for ligand in the nuclear distribution of the receptor. *Molecular Biology of the Cell*, **10** (2), 471–86.
- Hatun Ş., (2002). Osteoporozun önlenmesi ve pubertede kemik sağlığı. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **45**, 284-289.
- Herrington D.M. (2003). Role of estrogen receptor- α in pharmacogenetics of estrogen action. *Current Opinion in Lipidology*, **14**, 145-150.
- Ho A.Y, Yeung S.S, Kung A.W. (2000). PvuII Polymorphisms of the Estrogen Receptor α and Bone Mineral Density in Healthy Southern Chinese Women. *Calcified Tissue International*, **66**, 405–408.
- Hoffmann H.M., Catron K.M., van Wijnen A.J., McCabe L.R., Lian J.B., Stein G.S. & Stein J.L. (1994). Transcriptional control of the tissue-specific, developmentally regulated osteocalcin gene requires a binding motif for the Msx family of homeodomain proteins. *Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America*. **91**, 12887–12891.
- Hong X., Wen X., Dan L., Yong-ming L., Lin Z. and Hai-bin K. (2010) .Association analysis of genetic polymorphisms and potential interaction of the osteocalcin (BGP) and ER- α genes with body mass index (BMI) in premenopausal Chinese women. *Acta Pharmacologica Sinica*, **31**, 455–460.
- Honnie R., Bermas MD. (2008).Steroid Receptors and Selective Estrogen Receptor Modulation in Mammary and Gynecologic Malignancy. *Ovarian carcinoma*, 1756-2228.
- Horwitz K.B., Jackson T.A., Bain D.L. et al. (1996). Nuclear receptor coactivators and corepressors. *Molecular Endocrinology*, **10**, 1167–1177.

- Hosoi T., Miyao M., Inoue S. et al. (1999). Association study of parathyroid hormone gene polymorphism and bone mineral density in Japanese postmenopausal women. *Calcified Tissue International*, **64**, 205-8.
- Howard G.M., Nguyen T.V., Harris M., Kelly P.J., Eisman J.A. (1998). Genetic and environmental contributions to the association between quantitative ultrasound and bone mineral density measurements: a twin study. *Journal of Bone and Mineral Research*, **13**, 1318–1327.
- Hubacek J.A., Weichetova M., Bohuslavova R., Skodova Z., Adámkova V., Genetic polymorphisms of TGF-beta, PAI-1, and COL1A-1, and determination of bone mineral density in Caucasian females. *Stepan J. (2006). Journal of Endocrine Regulation*, **40(3)**:77-81.
- Huff, C., Sadler, T. (1997). African American women and osteoporosis. *The ABNF Journal*, **8(3)**, 48–50.
- Huizenga N.A., Koper J.W., Delange P. et al. (1998). A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with an increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **83**,144-151.
- Jeedigunta Y., Reddy P.R.B., Kolla V.K., Munshi A., Ananthapur V., Narasimulu G., Akka J. (2010). Association of estrogen receptor α gene polymorphisms with BMD and their affect on estradiol levels in pre- and postmenopausal women in south Indian population from Andhra Pradesh. *Clinica Chimica Acta*, **411**, 597–600.
- Jensen E.V., Jordan V.C. (2003). The estrogen receptor: a model for molecular medicine. *Clinical Cancer Research*, **9** (6), 1980–9.
- Jiang D.K., Xu F.H., Liu M.Y., Chen X.D., Li M.X., Liu Y.J., Shen H., Deng H.W. (2007). No evidence of association of the osteocalcin gene *HindIII* polymorphism with bone mineral density in Chinese women. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, **7(2)**,149-154.
- Jin H. & E. Evangelou & J. P. A. Ioannidis & S. H. Ralston. (2010). Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies. *Osteoporosis International*, **10**, 1364-5.
- Long J.R., Liu P.Y., Lu Y., Xiong D.H., Zhao L.J., Zhang Y.Y., Elze L., Recker R. R and Deng H.W. (2004). Association between COL1A1 gene polymorphisms and bone size in Caucasians. *European Journal of Human Genetics*, **12**, 383–388.
- Jonas J., Burns J., Abel E.W., Cresswell M.J., Strain J.J., Paterson C.R. (1993). Impaired mechanical strength of bone in experimental copper deficiency. *Annals of Nutrition Metabolism*, **37**, 245–52.
- Jurada S., Marc J., Prezelj J., Kocijancic A., Komel R. (2001). Codon 325 sequence polymorphism of the estrogen receptor alpha gene and bone mineral density in

postmenopausal women. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **78**, 15-20.

Kallio, P.R. Garant, C. and Minkin, D. (1972). Ultrastructural effects of calcitonin on osteoclasts in tissue culture. *Journal of Ultrastructure Research*, **39**, 205–216.

Kanis J.A., Devogelaer J.P., Gennari C. (1996). Practical guide for the use of bone mineral measurements in the assessment of treatment of osteoporosis: a position paper of the European Foundation for Osteoporosis and Bone Disease. *Osteoporosis International*, **6**, 256–61.

Kanis J.A., Melton L.J., Christiansen C et al. (1994). The Diagnosis of Osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, **9**, 1137-1142.

Kanis J.A. (1998). Pathogenesis of osteoporosis and fracture. In: *Osteoporosis*, Ed, Kanis JA, Blackwell Healthcare Communications Ltd., London, **2**, 22-55.

Kannus P., Palvanen M., Kaprio J., Parkkari J., Koskenvuo M. (1999). Genetic factors and osteoporotic fracture in elderly people: prospective 25 year follow up of a nationwide cohort of elderly Finnish twins. *British Medical Journal*, **319**,1334–1337.

Kato S., Endoh H., Masuhiro Y., Kitamoto T., Uchiyama S., Sasaki H., Masushige S., Gotoh Y., Nishida E., Kawashima H., Metzger D., Chambon P. (1995). Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science*, **270** (5241), 1491–4.

Keen R.W., Woodford-Richens K.L. et al. (1998). Allelic variation at the interleukin-1 receptor antagonist gene is associated with early postmenopausal bone loss at the spine. *Bone*, **23**,367-71.

Kerstetter J., Allen L. (1990). Dietary protein increases urinary calcium. *Nutrition Journal*, **120**,134–36.

Kiel D.P., Zhang Y., Hannan M.T., Anderson J.J., Baron J.A., Felson D.T. (1996). The effect of smoking at different life stages on bone mineral density in elderly men and women. *Osteoporosis. International*, **6**, 240–48.

Kim J.G., Ku S.Y., Lee D.O., Jee C., Suh C.S., Kim S.H., Choi Y.M., Moon S.Y. (2006). Relationship of osteocalcin and matrix Gla protein gene polymorphisms to serum osteocalcin levels and bone mineral density in postmenopausal Korean women, **13(3)**:467-73.

Kim J.J., Pae C.U., Kim M.R., Min J.A., Kim K.H., Lee C.U., Lee C. and Paik I.H.(2010). Association between Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and Depression in Post-Menopausal Women: A Preliminary Study. *Psychiatry Investigation*, **7**, 224-227.

Kobayashi N., Fujino T., Shirogane T., et al. (2002). Estrogen receptor alpha polymorphism as a genetic marker for bone loss, vertebral fractures and susceptibility to estrogen. *Maturitas*, **41**, 193–201.

- Kobayashi S., Inoue S., Hosoi T. et al. (1996). Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene in post-menopausal women. *Journal of Bone and Mineral Research*, **11**, 306-311.
- Kotnis A., Sarin R., Mulherkar R. (2005). Genotype, phenotype and cancer: Role of low penetrance genes and environment in tumor susceptibility. *Journal of Bioscience*, **30**, 93-102.
- Kuivaniemi H., Tromp G., Prockop D.J. (1991). Mutations in collagen genes: causes of rare and some common diseases in humans. *The FASEB Journal*, **5**, 2052-60.
- Kumar V, Green S, Stack G et al. (1987). Functional domains of the human estrogen receptor. *Cell*, **51**, 941-951.
- Kurabayashi T., Matsushita H., Kato N., et al. (2004). Effect of vitamin D receptor and estrogen receptor gene polymorphism on the relationship between dietary calcium and bone mineral density in Japanese women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **22**, 139-47.
- Kutlu M. (1997). Kemik dokusu ve fizyolojisi. *Osteoporoz'da*. Yılmaz C (ed.). Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1997, 5-29.
- Kutsal YG. (2000). Osteoporoz. *Fiziksel tıp ve Rehabilitasyon'unda*. Beyazova M, Kutsal YG (eds) An.kara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 1872-1893.
- Kutsal Y.G. (2004). Osteoporozda Kemik Kalitesi. *Görüntüleme Yöntemleri'nde*. Kutsal YG (ed.) Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 9, 193-212.
- Lai I.C., Lioa D.L., Bai Y.M., Lin C.C., Yu S.C., Chen J.W., Wang Y.C. (2002). Association study of the estrogen receptor polymorphisms with tardive dyskinesia in schizophrenia. *Neuropsychobiology*, **46(4)**, 173-5.
- Lander E.S, Schork NJ. (1994). Genetic dissection of complex traits. *Science*, **265**, 2037-2048.
- Langdahl B.L, Gravholt CH, Brixen K, Eriksen EF. (2000a). Polymorphism in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. *European Journal of Clinical Investigation*, **30**, 608-17.
- Langdahl B.L, Knudsen J.Y., Jensen H.K. et al. (1997). A sequence variation:713-8delC in the transforming growth factor-beta1 gene has higher prevalence in osteoporotic women than in normal women and associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. *Bone*, **20**, 289-94.
- Langdahl B.L., Loke E., Carstens M. et al. (2000b). Osteoporotic fractures are associated with an 86-base pair repeat polymorphism in the interleukin-1-receptor antagonist gene but not with polymorphism in the interleukin-1 beta gene. *Journal of Bone and Mineral Research*, **15**, 402-414.

- Lappe J.M. (2001). Pathophysiology of osteoporosis and fracture. In: *Osteoporosis, Nursing Clinics of North America*, **36**, 393-399.
- Lee H.J., Kim S.Y., Kim G.S., Hwang J.Y., Kim Y.J., Jeong B., Kim T.H., Park E.K., Lee S.H., Kim H.L., Koh J.M., Lee J.Y. (2010). Fracture, bone mineral density, and the effects of calcitonin receptor gene in postmenopausal Koreans. *Osteoporosis International*, **21**, 1351–1360.
- Leung Y.K., Mak P., Hassan S., Ho S.M. (August 2006). Estrogen receptor (ER)-beta isoforms: a key to understanding ER-beta signaling. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **103** (35), 13162–7.
- Levin E.R. (2005). Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen. *Molecular Endocrinology*, **19** (8), 1951–9.
- L'Horset F., Dauvois S., Heery D.M. et al. (1996). RIP-140 interacts with multiple nuclear receptors by means of two distinct sites. *Molecular and Cellular Biology*, **16**, 6029–60.
- Li W.H., Gu Z., Wang H., Nekrutenko A. (2001). Evolutionary analyses of the human genome. *Nature*, **409**, 847-849.
- Livshits G., Pavlovsky O., Kobylansky E. (1996) Population biology of human aging: segregation analysis of bone age characteristics. *Human Biology*, **68**(4):540-54.
- Li X., Huang J., Yi P., Bambara R.A., Hilf R., Muyan M. (2004). Single-chain estrogen receptors (ERs) reveal that the ERalpha/beta heterodimer emulates functions of the ERalpha dimer in genomic estrogen signaling pathways. *Molecular and Cellular Biology*, **24** (17), 7681–94.
- Lindsay R., Silverman S.L., Cooper C., Hanley D.A., Barton I., Broy S.B., Licata A., Benhamou L., Geusens P., Flowers K., Stracke H. and Seeman E.(2001). Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture . *JAMA*, **285**, 320 –23.
- Liu P.Y., Lu Y., Long J.R., Xu F.H., Shen H., Recker R.R., Deng H.W.(2004). Common variants at the PCOL2 and Sp1 binding sites of the COL1A1 gene and their interactive effect influence bone mineral density in Caucasians. *Journal of Medical Genetics*, **41**:752–757.
- Lu Q., Pallas D.C., Surks H.K., Baur W.E., Mendelsohn M.E., Karas R.H. (2004). Striatin assembles a membrane signaling complex necessary for rapid, nongenomic activation of endothelial NO synthase by estrogen receptor alpha. *Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America*, **101** (49), 17126–31.
- Luckey M.M., Meier D.L., Mandeli I.P., Da Costa M.C., Hubbard M.L., Goldsmith S.I. (1989). Radial and vertebral bone density in white and black women: Evidence for racial differences in pre-menopausal bone homeostasis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **69**, 762–770.

- Luckey, S., Wallenstein, R., Lapinski, D.E. and Meier, N. (1996). A prospective study of bone loss in African-American and white women—a clinical research center study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **81** (8): 2948–2956.
- Lutz J., Tesar R. (1990). Mother-daughter pairs: spinal and femoral bone density and dietary intakes. *American Journal of Clinical Nutrition*, **52**, 872–77.
- MacDonald L.H.M., McGuigan F.A., Susan A. NEW, Campbell M.K., Golden M.H.N., Stuart H. Ralston, and David M. Reid. (2001). *COL1A1 Sp1* Polymorphism Predicts Perimenopausal and Early Postmenopausal Spinal Bone. *Journal of Bone and Mineral Research*, **16**(9), 1634-1641.
- Majumdar S. (2002). Magnetic resonance imaging of trabecular bone structure. In: *Topics in Magnetic Resonance Imaging*. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, **13**, 323-334.
- Mann V., Hobson E.E., Li B., Stewart T.L., Grant S.F.A., Robins S.P., Aspden R.M., Ralston S.H. (2001). A COL1A1Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *The Journal of Clinical Investigation*, **107**, 899-907.
- Masi L., Becherini L., Gennari L. et al. (1998). Allelic Variants of Human Calcitonin Receptor: Distribution and Association with Bone Mass in Postmenopausal Italian Women. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **245**, 622-626.
- Melton J, Cooper C. (2001). Magnitude and impact of osteoporosis and fractures. In: *Osteoporosis*. Ed(s), Marcus R, Feldman DD, Kelsey J, San Diego: Academic Press, **1**, 557- 567.
- Mc Kenna M.J., Nguyen-Huynh A.T. and Kristiansen A.G. (2004). Association of Otosclerosis with Sp1 Binding Site Polymorphism in COL1A1 gene: Evidence for a Shared Genetic Etiology With Osteoporosis. *Otology and Neurotology*, **25**, 447-450.
- Melton L.J., Thamer M., Ray N.F., Chan J.K., Chesnut C.H., Einhorn T.A., Johnston C.C., Raisz L.G., Silverman S.L., Siris E.S. (1997). Fractures attributable to osteoporosis: report from the national osteoporosis foundation. *Journal of Bone and Mineral Research*, **12**, 16–23.
- Melton L.J. III, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL.(1992). Perspective: how many women have osteoporosis? *Journal of Bone and Mineral Research*, **7**, 1005–10.
- Melton LJ III. (1995). How many women have osteoporosis now ? *Journal of Bone and Mineral Research*, **10**, 175-77.
- Metzger D., Ali S., Bornert J.M. et al. (1995). Characterization of the amino-terminal transcriptional activation function of the human estrogen receptor in animal and yeast cells. *The Journal of Biological Chemistry*, **270**, 9535–9542.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **16**(3), 1215.

- Matkovic V., Skugor M., Ilich J.Z. et al. (1997). Serum Leptin and beta3- Adrenergic receptor Gene Polimorphism in Osteoarthritic and Osteoporotic Patients. *Journal of Bone and Mineral Research*, **12**, 257.
- May H., Murphy S., Khaw K.T. (1995). Alcohol consumption and bone mineral density in older men. *Gerontology*, **41**, 152–58.
- McGillavry M.R., Prins M. (2003). Oral contraceptives and inherited thrombophilia: a gene-environment interaction with a risk of venous thrombosis? *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **29**, 219-226.
- McKenna M.J., Nguyen A.T.H., Kristiansen A.G., (2004). Association of Osteosclerosis with Sp1 Binding Site Polymorphism in Col1A1 Gene: Evidence for a Shared Genetic Etiology with Osteoporosis. *Otology and Neurotology*, **25**, 447-450.
- Mehrian-Shai R., Reichardt J.K. (2004). A ranaissance of “biochemical genetics”? SNPs, haplotypes, function and complex diseases, *Molecular Genetics and Metabolism*, **83**, 47-50.
- Mitra S., Desai M., Khatkhatay M.I. (2006). Association of estrogen receptor a gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Molecular Genetics and Metabolism*, **87** (1), 80–87.
- Miyao M., Hosoi T., Emi M. et al. (2000). Association of bone mineral density with a dinucleotide repeat polymorphism at the calcitonin (CT) locus. *Journal of Human Genetics*, **45**, 346-50.
- Miyao M., Hosoi T., Inoue S. et al. (1998). Polymorphism of insulin-like growth factor 1 gene and bone mineral density. *Calcified Tissue International*, **63**, 306-311.
- Miyao M., Morita H., Hosoi T. et al. (2000b). Associatipn of metylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism with bonew ineral density in postmenapausal Japanese women. *Calcified Tissue International*, **66**, 190-4.
- Mo X.Y.,Cao C.K., Xu F.H., et al. (2004). Lack of association between the *HindIII* RFLP of the osteocalcin (BGP) gene and bone mineral density (BMD) in healthy pre- and postmenopausal Chinese women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **22**, 264–269.
- Mohammad Masud I. (2000). Osteoporosis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Southern Medical Journal*, **93**(1), 2-18.
- Moldawer, S.J., Zimmerman, L.C., and Collins, L. (1965). Incidence of osteoporosis in elderly whites and elderly negroes. *JAMA*, **194** (8): 859–862.
- Moller M., Horsman A., Harvald B., Hauge M., Henningsen K., Peacock. (2002). Genetics of Osteoporosis. *Endocrine Reviews*, **23**(3), 303–326.
- Moore, R.E., Kuestner, S.D., Stroop, F.J., Grant, S.L., Matthewes, C.L., Brady, P.M., Sexton, M., Findlay, D. (1995). Functionally different isoforms of the human calcitonin

receptor result from alternative splicing of the gene transcript. *Molecular Endocrinology*, **9**, 959–968.

Morishima A., Grumbach M.M., Simpson E.R., Fisher C., Qin K. (1995). Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **80**, 3689–3698.

Morrison N.A., Qi JC, Tokita A., Kelly P. et al. (1994). Prediction of bone density by vitamin D receptor alleles. *Nature*, **367**, 284–287.

Munshi A., Sharma V., Kaul S., Al-Hazzani A., Alshatwi A.A., Manohar V.R., Rajeshwar K., Babu M.S., Jyothy A. (2010). Estrogen receptor α genetic variants and the risk of stroke in a South Indian population from Andhra Pradesh. *Clinica Chimica Acta*, **411**, 1817–1821.

Murray R.E., Mcguigan F., Grant S.F., Reid D.M., Ralstone S.H. (1997). Polymorphism of the interleukin-6 gene are associated with bone mineral density. *Bone*, **21**, 89–92.

Nakamura M., Morimoto S., Zhang Z., Utsunomiya H., Inagami T., Ogihara T. and Kakudo K. (2001). Calcitonin Receptor Gene Polymorphism in Japanese Women: Correlation with Body Mass and Bone Mineral Density. *Calcified Tissue International*, **68(4)**, 211–215.

Nam H.S., Shin M.H., Kweon S.S., Park K.S., Sohn S.J., Rhee J.A., Choi J.S., Son M.H. (2005). Association of estrogen receptor- α gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal Korean women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **23**, 84–89.

Natl. Inst. Health Consens. Dev. Panel. 1994. Optimal calcium intake. *JAMA*, **272**, 1942–48.

Nguyen T.V., Esteban L.M., White C.P., Grant S. F., Center J.R., Gardiner E.M., and John A. Eisman. (2005). Contribution of the Collagen I 1 and Vitamin D Receptor Genes to the Risk of Hip Fracture in Elderly Women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **90(12)**, 6575–6579.

Nicholson G.C., Moseley J.M., Sexton P.M., Mendelsohn F.A.O. & Martin T.J. (1986). Abundant calcitonin receptors in isolated rat osteoclasts. Biochemical and autoradiographic characterization. *Journal of Clinical Investigation*, **78**, 355–360.

Nicholson P.H.F., Haddaway M.J., Davie M.W.J. (1994). The dependence of ultrasound properties on orientation in human vertebral bone. *Physics in Medicine and Biology*, **39**, 1013–1024.

Nilsson S., Mäkelä S., Treuter E., et al. (2001). Mechanisms of estrogen action. *Physiological Reviews*, **81** (4), 1535–65.

Nordin B.E.C, Need A.G., Morris H.A., Horowitz M., (1993). The nature and significance of the relationship between urinary sodium and urinary calcium in women. *The Journal of Nutrition*, **123**, 1615–22.

- Nordin B.E.C. (1978). Metacarpal morphometry in monozygotic and dizygotic elderly twins. *Calcified Tissue Research*, **25**, 197–201.
- Norris R.J. (1992). Medical cost of osteoporosis. *Bone*, **13**, 11-12.
- O'Neill T.W., Felsenberg D., Varlow J., Cooper C., Kanis J.A., Silman A.J. (1996). The prevalence of vertebral deformity in European men and women: The European Vertebral Osteoporosis Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, **11**, 1010-1018.
- Ogata N., Shiraki A., Hosoi T.E. et al. (2001). A Polimorphic Variant at the Werner Helikase (WRN) Gene is Associated with Bone Density, but not spondylosis, in postmenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **19**, 296-301.
- Ogawa S., Hosoi T., Shiraki M. et al. (2000). Association of estrogen receptor beta gene polymorphism with bone mineral density. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **269**, 537-41.
- Ogawa S., Urano T., Hosoi E., et al. (1999). Association of Bone Mineral Density with a Polimorphism of peroksisome proliferator-activated receptor gamma gene:PPARgamma expression in Osteoblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **260**, 122-6.
- Ohlsson C., Hellberg N., Parini P., Vidal O., Bohlooly-Y M., Bohlooly M., Rudling M., Lindberg M.K., Warner M., Angelin B., Gustafsson J.A. (2000). Obesity and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor-alpha-deficient male mice. *Biochemical and Biophysical Research. Communications*, **278** (3), 640–5.
- Ollier W.E.R. (2004). Cytokine genes and disease susceptibility. *Cytokine*, **28**, 174-178.
- Ongphiphadhanakul B., Chanprasertyothin S., Payatikul P., et al. (2000). Oestrogen-receptor- α gene polymorphism affects response in bone mineral density to oestrogen in post-menopausal women. *Clinical Endocrinology*, **52**, 581–5.
- Padh H. (1990). Cellular functions of ascorbic acid. *Biochem. Cell Biology* **68**, 1166–73.
- Papiha S.S., Allcroft L.C., Kanan R.M., Francis R.M., Data H.K. (1999). Vitamin D Binding Protein Gene in Male osteoporosis: Association of Plasma DBP and Bone Mineral Density with (TAAA)(n)-Alu Polimorphism in DBP. *Calcified Tissue International*, **65**, 262-6.
- Peacock M., Turner C.H., Econs M.J. and Foroud T. (2002). Genetics of Osteoporosis. *Endocrine Reviews*, **23**(3), 303-326.
- Pérez A., Ulla M., García B., Lavezzo M., Elías E., Binci M., Rivoira M., Centeno V., Nori AA., Talamoni T. (2008). Genotypes and clinical aspects associated with bone mineral density in Argentine postmenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **26**, 358–365.
- Pietsch Obermayer B. (2006). Genetics of Osteoporosis. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, **156/5-6**, 162-167.

- Pineda, B.B.S., Hermenegildo C., Tarín J.J., Laporta P., Cano A., and Perez M.A.G. (2010). Alleles and haplotypes of the estrogen receptor alpha gene are associated with an increased risk of spontaneous abortion. *Fertility and Sterility*, **93**(6), 1809-1815.
- Pocock N.A., Eisman J.A, Hopper L.J., Yeates M.G., Sambrook P.N., and Eber S. (1987). Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *The Journal of Clinical Investigation*, **80**, 706-10.
- Purdue BW, Tilakaratne N, Sexton PM. (2002). Molecular pharmacology of the calcitonin receptor. *Receptors and Channels*, **8** (3-4), 243–55.
- Ralston S.H.(2010). Genetics of osteoporosis, *Annals of the New York Academy of Science*, **1192**, 181-189.
- Ramírez E. F., Leonora C.A., Miranda A., Díez P. Castro C. Rubio J., Gómez R. Flores M.V.(2010). Sp1 polymorphism in collagen I *a1* gene is associated with osteoporosis in lumbar spine of Mexican women. *Molecular Biology Reports*. DOI 10.1007/s11033-010-9963.
- Rapuri PB, Gallagher JC, Knezetic JA, Haynatzka V. (2006). Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with changes in bone remodeling markers and treatment response to estrogen. *Maturitas*, **53**, 371–379.
- Reynolds, J.J., (1968). Inhibition by calcitonin of bone resorption induced in vitro by vitamin A. *Proceedings of the Royal Society*, **B 170**: 61–69.
- Richards J.B., Kavvoura F.K., MD, Rivadeneira F., Styrkársdóttir U., Estrada K., Halldórsson B. Hsu Y., Zillikens C., Wilson S.G., Mullin B.H., Amin N. Et. al. (2009). Collaborative Meta-analysis: Associations of 150 Candidate Genes With Osteoporosis and Osteoporotic Fracture. *Annals of Internal Medicine*, **20**; **151**(8): 528–537.
- Riggs BL, Nguyen TV, Melton LJ et al. (1995). The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *Journal of Bone and Mineral Research*, **10**, 991-996.
- Rizzoli R., Bonjour J.P, Ferrari S.L.(2001). Osteoporosis, genetics and hormones. *Journal Molecular Endocrinology*, **26**, 79-94.
- Rosenquist C., Fledelius C., Christgau S., et al. (1998). Serum cross-laps one step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen. *Clinical Chemistry*, **44**, 2281-2289.
- Safarinejad M.R., Shafiei N., Safarinejad S. (2010). Association of polymorphisms in the estrogen receptors alpha, and beta (ESR1,ESR2) with the occurrence of male infertility and semen parameters. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **122**, 193–203.

Sano M., Inoue S., Hosoi T. et al. (1995). Association of estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism with osteoporosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **217**, 378-83.

Sarıdoğan M.E. (2001). Osteoporoz Epidemiyolojisi. Modern Tıp Seminerleri: 19-Osteoporoz.Ed., Kutsal YG. Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., **2**, 6-21.

Schnitzler C.M., Pettifor J.M., Mesquita J.M., Bird M.D.T., Schnaid E., Smyth A.E. (1990). Histomorphometry of iliac crest bone in 346 normal black and white South African adults, *Bone and Mineral*, **10**, 183-199.

Seeman E., Hopper J.L., Bach L.A., Cooper M.E., Parkinson E., McKay J., Jerums C. (1989). Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *The New England Journal of Medicine*, **320**, 554-558.

Semprini S., Mango R., Brancati F. et al. (2000). Absence of correlation between BMP-4 polymorphism and postmenopausal osteoporosis in Italian women. *Calcified Tissue International*, **67**, 93-4.

Sexton, D.M. Findlay, T.J. and Martin, K. (1999). Calcitonin. *Current Medicinal Chemistry*, **6**:1067-1093.,

Shai, R.K. Baker, S. and Wallach, T. (1971). The clinical and metabolic effects of porcine calcitonin on Paget's disease of bone. *The Journal of Clinical Investigation*, **50**: 1927-1940.

Shastri B.S. (2002). SNP alleles in human disease and evolution. *Journal of Human Genetics*, **47**, 561-566.

Shiraki M., Shiraki Y., Aoki C.H. et al. (1997). Association of Bone Mineral Density with Apolipoprotein E Phenotype. *Journal of Bone and Mineral Research*, **12**, 1438-1445, (1997).

Sindel D. (2002). Tanı yöntemleri. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon'da*. Ank. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. **2(1)**, 17-30.

Slemenda C.W., Christian J.C., Williams C.J., Norton J.A., Johnston Jr C.C. (1991). Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *Journal of Bone and Mineral Research*, **6**, 561-567.

Smith D.M., Nance W.E., Kang K.W., Christian J.C., Johnston C.C. (1973). Genetic factors in determining bone mass. *Journal of Clinical Investigation*, **52**, 2800-2808.

Smith E.L, Gilligan C. (1991). Physical activity effects on bone metabolism. *Calcified Tissue International*, **49**(Suppl.), 50-54.

Smith E.P, Boyd J., Frank G.R., Takahashi H., Cohen R.M., Specker B., Williams T.C, Lubahn D.B., Korach K.S., (1994). Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *New England Journal of Medicine*, **331**, 1056-1061.

- Sowers M., Willing M., Burns T. et al. (1999). Genetic markers, bone mineral density and serum osteocalcin levels. *Journal of Bone and Mineral Research*, **14**, 1411-1419.
- Specker BL. (1996). Evidence for an interaction between calcium intake and physical activity on changes in bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research*, **11**, 1539-44.
- Speer G., Szenthe P., Kósa J.P., Tabák A.G., Folhoffer A., Fuszek P., Cseh K., Lakatos P. (2006). Myocardial infarction is associated with Spl binding site polymorphism of collagen type 1A1 gene. *Acta Cardiologia*. **61(3)**:321-5.
- Spotila L.D., Rodrigues H., Koch M. et al. (2000). Association of a polymorphism in the TNFR2 gene with low bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research*, **15**, 1376-83.
- Stein G., Lian B.J., Wijnen A.J, Stein J. (1997). The osteocalcin gene: a model for multiple parameters of skeletal-specific transcriptional control. *Molecular Biology Reports*, **24**, 185-196.
- Stevenson J.C, Marsh M.S. (2000). Kemigin yapısı. *Osteoporoz Atlası'nda*. Çeviri Dr. Mehmet Pekus. İkinci baskı. Atlas Medikal, **2**, 14-18.
- Stewart T.L., Jin H., McGuigan F.E., Albagha O.M., Garcia-Giralt N., Bassiti A., Grinberg D., Balcells S., Reid D.M., Ralston S.H. (2006). Haplotypes defined by promoter and intron 1 polymorphisms of the COL1A1 gene regulate bone mineral density in women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **91(9)**, 3575-83.
- Stewart T.L., Ralston S.H. (2000). Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *Journal of Endocrinology*, **166**, 235-245.
- Sundermann E.E., Pauline M.A., and Jeffrey R. Bishop J.R. (2010). A review of estrogen receptor (alfa) gene (ESR1) polymorphisms, mood, and cognition. *Menopause*, **17(4)**, 874-886.
- Taboulet J., Frenkian M., Frenco J.L. et al. (1998). Calcitonin receptor polymorphism is associated with decreased fracture risk in post-menopausal women. *Human Molecular Genetics*, **7**, 2129-2123.
- Tanakol R. (2004). Fiziopatolojik etmenler. *Osteoporozda Kemik Kalitesi'nde*. Kutsal YG (ed.). Güneş Kitabevi Ltd. Şti., **1**, 3-70.
- Tempfer C.B., Schneeberger C., Huber J.C. (2004). Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology. *Pharmacogenomics*, **5**, 57-65.
- Thiry-Blaise L.M., Taquet A.N. et al. (1995). Investigation of the Relationship Between Osteoporosis and The Collagenase gene by Means of Polimorphism of the 5' upstream region of this gene. *Calcified Tissue International*, **56**, 88-91.

- Todhunter C.E., Sutherland-Crags A., Bartram S.A., Donaldson P.T., Daly A.K., Francis R.M., Mansfield J.C., Thompson N.P. (2005). Influence of IL-6, COL1A1, and VDR gene polymorphisms on bone mineral density in Crohn's disease. *Gut*, **54**(11), 1579-84.
- Towler D.A., Bennett C.D., Rodan G.A. (1994). Activity of the rat osteocalcin basal promoter in osteoblastic cells is dependent upon homeodomain and CP1 binding motifs. *Molecular Endocrinology*, **8**, 614-624.
- Trojanowska M. (2002). Molecular aspects of scleroderma. *Frontiers in Bioscience*, **7**, 608-18.
- Tsai F.J., Chen H.Y., Tsai C.H. (2003). The AluI Calcitonin receptor gene polymorphism (TT) is associated with low bone mineral density and susceptibility to osteoporosis postmenopausal women. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. **5**, 82-87.
- Tsukamoto K., Orimo H., Hosoi T. et al. (2000b). Association of bone mineral density with polymorphism of the human matrix Gla protein locus in elderly women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **18**, 181-183.
- Tsukamoto K., Yuoshida H., Wanatabae S. et al. (1999). Association of radial bone mineral density with CA repeat polymorphism at the interleukin 6 locus in postmenopausal Japanese women. *Journal of Human Genetics*, **44**, 148-51.
- Tüzün F. (2003). Osteoporozu genel bakış. *Osteoporoz ve Kemik Kalitesi'nde*. Tüzün F (ed.). İstanbul, **1**, 1-11.
- Uitterlinden A.G., van Meurs J.B.J., Rivadeneira F., Pols H.A.P. (2006). Identifying genetic risk factors for osteoporosis. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, **6**(1), 16-26.
- Vidal C, Brincat M, Xuereb-Anastasi A. (2007). Effects of SNPs in the COL1A1 and Methylenetetrahydrofolate Reductase Genes on BMD in Postmenopausal Women in Malta. *Balkan JMG*, 10/1, 9-18.
- Wallach, S.H., Cohn, H.L., Atkins, K.J. Ellis, R., Kohberger, J.F., Aloia, I. and Zanzi, T. (1977). Effect of salmon calcitonin on skeletal mass in osteoporosis. *Current Therapy Resesearch*, **22** (4): 556-572.
- Walter, P., Green, S., Greene, G., Krust, A., Bornert, J.-M., Jeltsch, J.-M., Staub, A., Jensen, E., Scrace, G., Waterfield, M., Chambon, P. (1985). Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **82**, 7889-7893.
- Wang C.-L. & X.-Y. Tang & W.-Q. Chen & Y.-X. Su & C.-X. Zhang & Y.-M. Chen. (2007). Association of estrogen receptor α gene polymorphisms with bone mineral density in Chinese women: a meta-analysis. *Osteoporosis International*, **18**, 295-305.

Willing M.C., Cohn D.H.M., Byers P.H. (1994). Frameshift mutation near the 3' end of the COL1A1 gene of type I collagen predicts an elongated pro alpha 1(1) chain and results in osteogenesis imperfecta type I. *Journal of Clinical Investigations*, **85**, 282-90.

Willing M.C., Cohn D.H.M., Byers P.H. (1998). Frameshift mutation near the 3' end of the COL1A1 gene of type I collagen predicts an elongated pro alpha 1(1) chain and results in osteogenesis imperfecta type I. *Journal of Clinical Investigations*, **85**, 282-90.

Wolfe III L.A., Fling M.E., Xue Z., Armour S., Kerner S.A., Way J., Tom Rimele T., Cox R.F. (2003). In vitro characterization of a human calcitonin receptor gene polymorphism. *Mutation Research*, **522**, 93-105.

Wood R.J. (1998). The Genetics of Osteoporosis: Vitamin D Receptor Polymorphisms, *Annual Review of Nutrition*, **18**, 233-258.

World Health Organization Study Group. (1994). Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *World Health Organisation Technical Report Series*, **843**, 1-129.

Wu H.C., Lin C.C., Chen W.C., Chen H.Y., Tsai F.J. (2003). Osteocalcin gene HindIII C/T polymorphism is a biomarker for prostate cancer and responsiveness to hormone therapy. *European Urology*, **43(2)**, 197-200.

Xu H., Xiao W., Luo D., Liu Y., Zou L. and Kuang H. (2010). Association analysis of genetic polymorphisms and potential interaction of the osteocalcin (BGP) and ER- α genes with body mass index (BMI) in premenopausal Chinese women. *Acta Pharmacologica Sinica*, **31**, 455-460.

Yaghmaie F., Saeed O., Garan S.A., Freitag W., Timiras P.S., Sternberg H. (2005). Caloric restriction reduces cell loss and maintains estrogen receptor-alpha immunoreactivity in the pre-optic hypothalamus of female B6D2F1 mice. *Neuro Endocrinology Letters*, **26 (3)**, 197-203.

Yamada Y., Ando F., Niino N. and Shimokata H. (2002). Association of Polymorphism of Interleukin-6, Osteocalcin, and Vitamin D Receptor Genes, Alone or in Combination, with Bone Mineral Density in Community Dwelling Japanese Women and Men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **88(7)**, 3372-3378.

Yang X., Zheng S.R., Chen R.J., Chen S.L., Fan Z.H., Li H., Lu Y.H. (2003). Study on the relationship between some genetic factors and peak bone mineral density in Beijing young women. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. **38(5)**:273-6.

Yazdanpanah N., Rivadeneira F., Joyce B. J., van Meurs E., Zillikens M.C., Hofman E.A., Cornelia E.M., Huibert A. P., Uitterlinden A.G. (2007). The -1997 G/T and Sp1 Polymorphisms in the Collagen Type I alpha1 (COL1A1) Gene in Relation to Changes in Femoral Neck Bone Mineral Density and the Risk of Fracture in the Elderly: *The Rotterdam Study Calcified Tissue International*, (2007) **81**:18-25.

Yılmaz C. (1997). Osteoporozun etyopatogenezi. *Osteoporoz'da*. Ed, Yılmaz C. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 30-50.

- Yoon S.H., Choi Y.M., Hong M.A., Lee G.H., Kim J.J., Im H.J., Min E.G., Kang B.M., Yoon B.K., Moon S.Y. (2010). Estrogen receptor {alpha} gene polymorphisms in patients with idiopathic premature ovarian failure. *Human Reproduction*, **25(1)**:283-7.
- Zajickova K., Ivana Z. (2003). Osteoporosis: Genetic Analysis of Multifactorial Disease. *Endocrine Regulations*, **(37)**, 31-44.
- Zhang J., Bai H., Liu X.H., Fan P., He G.L. (2009). The Pvu and XbaI Polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene in Chinese patients with severe preeclampsia. *Zhoghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.*, **26(1)**, 40-4.
- Zhao H.Y., Liu J.M., Ning G., Zhang L.Z., Song H.D., Chen Y., Jiang L., Dai M., Xu M.Y., Chen J.L. (2005). Study of the impact of candidate genes on bone mineral density in postmenopausal women. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, **40(12)**,803-7.
- Zivadinovic D., Gametchu B., Watson C.S. (2005). Membrane estrogen receptor-alpha levels in MCF-7 breast cancer cells predict cAMP and proliferation responses. *Breast Cancer Research*, **7 (1)**, 101–12.
- Zmuda J.M., Eichner J.E., Ferrelli R.E. et al.(1998). Genetic variation in alpha 2HS-glycoprotein is related to calcaneal broadband ultrasound attenuation in older women. *Calcified Tissue International*, **63**, 5-8.

8. EKLER

8.1 HASTA BİLGİ FORMU

Adı soyadı :

Tarih:

Cinsiyet :

Dosya No :

Yaş:

Adres:

Boy:

Tel:

Kilo:

VKİ:

Kulaç uzunluğu:

Öğrenim Durumu :

Okuma yazma bilmiyor () ortaokul () üniversite ()
Okuyup yazabiliyor () lise ()
İlkokul () yüksekokul ()

Meslek :

Alkol alışkanlığı

Hergün () haftada 2-3 kere () haftada 1 () 15 günde 1 () ayda 1 () daha az () hiç ()

Süre:

Sigara alışkanlığı

Hiç kullanmamış

Eskiden kullanmış bırakmış

Halen kullanıyor:

Giyim şekli:

Günlük kahve tüketimi:

Günlük çay tüketimi :

()

Günlük kolalı içecek tüketimi:

Düzenli egzersiz alışkanlığı:

İmmobilizasyon öyküsü:

Kırık öyküsü : yaş:

()

kaç ay/yıl: günlük sigara miktarı:

kaç yıldır: günlük sigara miktarı:

çarşaf () geleneksel () modern ()

süre: 3 fincandan az () 3 fincandan fazla ()

süre: 1-3 bardak () 4-10 bardak () 10 üzeri ()

4 bardaktan az () 4 bardaktan fazla ()

hafif () orta () ağır ()

<2 ay () 2-6 ay () >6 ay ()

kendiliğinden () hafif darbe () şiddetli darbe ()

Sistemik hastalık öyküsü (süre)

Diabet () hipertansiyon () kalp hastalığı () guatr () karaciğer hastalığı ()

Böbrek hastalığı () astım () alerji () diğer ()

Düzenli ilaç kullanımı :

dozu süresi

Steroid

Diüretik

Antiepileptik

Antiasit

Heparin

Tiroksin

Metotreksat

D vit., Kalsiyum

Diğer

Günlük kalsiyum alımı :

	<25 yaş	25-50 yaş	50 yaş>
Süt 1-2 bardak /gün			
Haft. Bazı günleri			
Haftada 1 , hiç			
Peynir dilim/gün			
Yoğurt kase/gün			
Diğerleri			

Çocukluk yaşında süt ve süt ürünleri :**Çocukluk yaşında fiziksel aktivite :****Ailede kırık hikayesi :****Ailede kamburlaşan :**

Adet yaşı

Menapoz yaşı : Doğal () Cerrahi ()

Doğum kontrol hapi:

Hormon :

Çocuk sayısı :

Her birini emzirme süresi :

Osteoporoz hakkında bilgisi var mı?

Evet () yeterince bilgin yok () hiç bilgin yok ()

Bu hastalık ile ilgili bilgileri nereden edinmiş ?

Doktorundan () basından () çeşitli kitaplardan () arkadaş-akraba () diğer ()

Bu hastalığın meydana getireceği sorunları biliyor mu?

Kırık () boy kısalması () bombe karın () kamburluk () sırt ve bel ağrısı () diğer ()

Daha önce kemik ölçümü yapılmış mı? Hangi yöntem ?

KMY:

Kalkaneal Ultrason :

Lab: Hg: Htc: Lökosit: Trombosit:

Biokimya:

Ca: P: Alk Fos: PTH:

Osteokalsin: C-Telopeptid:

Direkt Grafi:

Tedavi:

Gen Analizi:

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Hastanesinde yapacağımız çalışma için gönüllü olmayı kabul ettiniz. Fakültemiz Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon polikliniğine başvurduğunuz ve size osteoporoz tanısı konuldu. Sizden 5ml kan örneği alınarak Osteoporozla ilgili DNA analizi yapılacaktır. Bu çalışma sizin gibi osteoporoz olan hastalarının tedavilerine yardımcı olmak, yaşam kalitesini artırmak için yol gösterici nitelikte olabilir. Çalışma sırasında ve sonrasında, iletişim kurabilmeniz için mutlaka bir ilgilinin isim ve telefonu size verilecektir. Eğer istemiyorsanız bu araştırma kapsamında tutulmayacaksınız.

İstediğiniz anda araştırmaya son verilecektir. Araştırmacı tarafından, size sorulmadan araştırma dışına bırakılabiliyorsunuz.

Bu çalışma toplam en az 100 osteoporozlu hastaya uygulanacaktır.

Lütfen yukarıdaki bilgileri dikkatli olarak okuyunuz.

Yukarıdaki gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya katılmayı kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı :

İmzası :

Adresi :

Tel :

Şahit

İmzası :

Adresi :

Tel :

Velayet ve vesayet altında bulunanlar için veli veya vasisinin

Adı :

İmzası :

Açıklama yapan araştırmacının :

Adı :

İmzası :

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Görevi : Ondokuz Mayıs Üniversitesi tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı araştırma görevlisi

Adı :

İmzası :

8.2. ETİK KURUL RAORLARI

T.C. ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOMİSYON KARARLARI		
KARAR TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO
22.01.2008	4	2008/15- 18
<p>38- Doç.Dr. Ömer Faruk AYDIN'ın T.584 nolu "Çocuklarda migren ve sağ-aol şanlı konjenital kalp hastalığı arasındaki ilişki" konulu projesine 3.000,00.-YTL,</p> <p>39- Yrd. Doç.Dr. Ahmet DİLEK'in T.585 nolu "Entübasyonda LMA C Trach ile fiberoptik laringoskop yöntemlerinin karşılaştırılması" konulu projesine 35.000,00.-YTL,</p> <p>40- Doç.Dr. İsmail Serhat KOCAMANOĞLU'nun T.586 nolu "Laparotomi yapılan hastalarda postoperatif analjezide bupivacaine ile levobupicainnin karşılaştırılması" konulu projesine 45.000,00.-YTL,</p> <p>41- Doç.Dr. Tarkan BAŞOĞLU'nun T.587 nolu "Differensiyel tiroid kanserlerinde postoperatif bakiye tiroid dokusunun rekombinant TSH ile hazırlık sonrası I-131 ile ablasyonu" konulu projesine 400.000,00.-YTL,</p> <p>42- Prof.Dr. Tekin AKPOLAT'ın T.588 nolu "Hipertansiyonlu Hastalarda Limon Kullanımının Kan Basıncına Etkisi" konulu projesine 5.000,00.-YTL,</p> <p>43- Prof.Dr. Ferit BERNAY'ın T.589 nolu "Postoperatif entübe edilmiş yenidoğanlarda entübasyonun olumsuz etkilerine neden olan faktörler" konulu projesine 23.000,00.-YTL,</p> <p>44- Prof.Dr. Ferit BERNAY'ın T.590 nolu "Çocukluk Çağı üriner sistem obstrüksiyonları tedavisinde açık cerrahi ve endoskopik cerrahinin karşılaştırılması" konulu projesine 150.000,00.-YTL,</p> <p>45- Yrd. Doç.Dr. Özge DARKA'nın T.591 nolu "Mide biyopsi örneklerinden izole edilen H.pylori suşlarında virülans genlerinin moleküler yöntemlerle araştırılması" konulu projesine 15.000,00.-YTL,</p> <p>46- Doç.Dr.Asuman BİRİNCİ'nin T.592 nolu "Sistemik Kandidemiye neden olan candidaların standart yöntemler ve yeni alternatif yöntemlerle izolasyon ve tür tayinini karşılaştırılması" konulu projesine 10.000,00.-YTL,</p> <p>47- Yrd. Doç.Dr. Nurten KARA'nın T.593 nolu "Menopoz sonrası kadınlarda osteokalsin, östrojen reseptör, kollajenI-A1 ve kalsitonin reseptör genlerindeki polimorfizmlerin osteoporoz ile ilişkisi" konulu projesine 9.000,00.-YTL,</p> <p>48- Doç.Dr.Nilgün ÖZBEK OKUMUŞ'un T.594 nolu "Melatonin ve L-karnitin radyasyon nefropatisine etkisi" konulu projesine 7.000,00.-YTL,</p>		



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
SAMSUN

Sayı : H.30.2.00M.0.01.00.00/ 511 -511
Konu :

Sayın Yrd.Doç.Dr. Nuriye KARLA

İLGİ: 23.01.2008 tarih ve 058-21110 sayılı Rektörlük yazısı.

Araştırma Fonundan desteklenmek üzere hazırladığımız projenizin kabul edildiği Rektörlük Makamınca bildirilmiştir.

Bilgilerinizi ve proje kapsamındaki taleplerinizin alınabilmesi için Dekanlığımıza isteklerinizin yapılmasını rica ederim

Ek: 3

Prof.Dr.Şaban SARIKAYA
Dekan

Başlan 22.01.2008

B-ky 22.01.2008

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Sayı: EK: 12.3

04.05.2007

Sayın Şengül TURAL

Etik kurulumuza sunmuş olduğunuz "**Menapoz Sonrası Kadınlarda Osteokalsin, Östrojen Reseptör, Kalsitonin ve Kalsitonin Reseptör Genlerindeki Polimorfizmlerin Osteoporoz ile İlişkisi**" başlıklı OMÜ Etik 2007/56 protokol nolu hasta materyali araştırma projeniz ile ilgili değerlendirme çalışmaları sonuçlandırılmıştır.

Projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamalarınızı dikkate alarak değerlendirilmiş olup, OMÜ Tıp Fakültesi Etik Kurul yönergesinin 5. maddesi gereği sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere bu araştırmanın uygulanmasında herhangi bir etik sakıncanın olmadığına ve araştırma tamamlandıktan sonra sonucunun etik kurulumuza bildirilmesi gereğine 30.04.2007 tarihli etik kurulumuzda oy birliği ile karar verilmiştir.

Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlandıktan sonra etik kurulumuzdan onay verilecektir.

Bilgilerinize rica ederim.



Prof. Dr. Yüksel KESİM
Etik Kurul Başkanı

9. ÖZGEÇMİŞ

Ünvanı: Araştırma Görevlisi

Adı Soyadı: Şengül Tural

e-mail: stural@omu.edu.tr

Doğum Tarihi ve Yeri: 15.01.1979, İstanbul

Medeni Hali: Evli, iki çocuklu

Yabancı Dil: İngilizce

İş Adresi: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fakülte: Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Telefon: 05334925282

E-mail: stural@omu.edu.tr

EĞİTİM

2005- Doktora, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

2002-2005 Yüksek Lisans, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

1997-2001 Lisans, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

1993-1997 Lise, Samsun Atatürk Anadolu Lisesi

1990-1993 Orta Öğretim Samsun Atatürk Ortaokulu

1988-1990 Samsun Seyfi Demirsoy İlkokulu

1985-1988 İstanbul Yedikule İlkokulu

GÖREV YERLERİ

2005- 2011 Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fakülte: Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (Araştırma Görevlisi)

2003-2005 Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fakülte: Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (Sağlık Teknisyeni)

2001-2002 Samsun Fen Lisesi (Öğretmen)

YAYINLAR

1. SCIENCE CITATION INDEX (SCI) YER ALAN YAYINLAR

1. Günes, S, N. Kara, N. Günel, S. Küçüködük, G. Ökten, **S. Tural** ve E. Taskın, “A Case With Down Syndrome Presenting 21q22q Translocation”, Türkiye Klinikleri J Med Sci., 27(6), 228-229 (2007).

2. Gunes S, Ökten G, Kara N, Saglam Y, Tasdemir HA, Kayacik OE, **Tural S.** De novo 18q deletion with mitral valve insufficiency. Genet Couns. 2008;19(3):261-5
3. Ökten G, Kara N, Güneş SO, **Tural ŞB**, Yiğit S, Pinarli FA. A retrospective study of cases with sex chromosome anomaly at samsun and around. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 22.05.2008 08:53 2008-7056
4. Kara N., **Tural S.**, **Mozaik 45,X/46,X,der(X) Karyotipi** Saptanan Primer Amenoreli Bir Olguda Trizomi Xq ve Delesyon Xp Fenotipi Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. (Makale Kabul Edildi.)

2. ULUSAL HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

- 1.**Tural Ş.**, Güneş S.,B., Büyükalpelli R., Bağcı H., “Mesane Kanseri Olgularında H-Ras Proto-Onkogen Polimorizmi” Türk Üroloji Dergisi, 32 (1): 14-18, 2006.
2. Kara, N., Ökten, G., Güneş, S., Koçak, İ., Yiğit, S., **Tural Bekar, Ş.**, Taşkın, E., Pinarli, F., Samsun ve çevresinde 2000-2005 yılları arasında amniyosentez sitogenetik analiz sonuçları. OMÜ Tıp Dergisi 2005;22(3):119-122.
- 3.Güneş, S., Ökten, G., Kara, N., Yiğit, S., **Tural, Ş.**, Taşkın, E., Karakuş, N., Konjenital malformasyonlu olgularda kromozomal anomaliler. OMÜ Tıp Dergisi 2005;22(3):113118.
4. **Tural, Ş.**, Güneş, S., Kara, N., Koçak, İ., Ökten G., Homolog kromozom çiftinin her ikisinde inv(9)(p11q13) kromozom yapısı görülen, 46,XX,inv(9)(p11q13)x2 karyotipine sahip, habituel abortuslu bir olgu. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst Obst 2007;17:331333.
5. **Tural ŞB.**, Kara N., Ökten G., Güneş SÖ., Koçak İ., Sağlam İY., Pınarlı FA. Recurrent miscarriages in a patient with familial t(1;3), inv(9) and thrombophilia. Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi. 2008; 18(4):270-273

6. Ökten G., S. Güneş, Kara, N., Yiğit S., **Tural Ş.**, Alparslan Pınarlı F., Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde kromozom anomalileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi, 22(3), 119-122 (2007).

7. **Tural S**, T., Kara, N., Güneş, S., Pınarlı F.P., Koçak, İ., Ökten, G., X kromozom anöploidili habituel abortus ve infertilite olguları. Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi. Yıl: 2008 Cilt: 5 Ek: 1 22-25.

3. ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN BİLDİRİLER

1. **Tural Ş.**, Güneş S., Büyükalpelli R., BAĞCI H., “81T→C Poliorphism In theH-ras Proto-onkogene In casesof Urinary Bladder Cancer. Advances in Molecular Medicine.. Volume 1 April 2005 supplement.

2. **Tural ŞB.**, Kara N., Ökten G., Güneş SÖ., Koçak İ., Sağlam İY., Pınarlı FA. Recurrent miscarriages in a patient with familial t(1;3), inv(9) and thrombophilia. Chromosome Research.6th European Cytogenetics Coference.7-10, İstanbul, Turkey July, 2007.

3. Okten G., Alpaslan Pınarlı F., **Tural S.**, Kocak I. A Rare Case of Recurrent Regular Trisomy 21. Chromosome Research.6th European Cytogenetics Coference.7-10, July, İstanbul, Turkey 2007.

4.Gulsen O., Ferda AP., **Sengul T.**, Nurten K., Sezgin G. And Idris K.Recurrent Miscarriages with Familial t(2;14) and Trisomy. Fifth International Symposium on Genetics, Health and Disease. Feb. 17-19, 2008, Amritsar, India.

5. Gulsen O., Nurten K., Sezgin G., **Sengul T.**, Serbulent Y., and Ferda AP. Cytogenetic Study of Cases with Sex Aomaly. Fifth International Symposium on Genetics, Health and Disease. Feb. 17-19, 2008, Amritsar, India.

6. Kara N.,Ökten G., **Tural S.**,Karakuş N.,Koçak İ., Recurrent abortions and postnatal loses in two cases including G-negative band within chromosome 1qh region. Medi Med Gen Mediterrenian Medical Genetics Meeting. 28 June-1 July 2009 Bilkent, Ankara .

7. Ökten G., Kara N., Güneş S., **Tural Ş.**, Koçak İ. Recurrent Miscarriages ad Balanced Translocation t(4;9)(q21;q13). Clinical Genetics. Vol 78. Supplement 1. 9th National Medical Genetics Congress of Turkish Medical Genetics Society with International Participation December 1-5, 2010. Istanbul-Turkey.

8. Ökten G., Karakuş N., Kara N., **Tural S.**, Koçak İ. An Infertile Male with 46, XY, t(3;6)(p22;q22) Balanced Translocation. Clinical Genetics. Vol 78. Supplement 1. 9th National Medical Genetics Congress of Turkish Medical Genetics Society with International Participation December 1-5, 2010. Istanbul-Turkey.

9. **Tural S.**, Kara N., Alaylı G. Association of Osteocalcin, Estrojen Receptor, Collagen1-A1 and Calcitonin Gene Polymorphisms with Osteoporosis in the Postmenopausal Women Clinical Genetics. Vol 78. Supplement 1. 9th National Medical Genetics Congress of Turkish Medical Genetics Society with International Participation December 1-5, 2010. Istanbul-Turkey.

10. Kara N., **Tural S.**, Koçak i., Tekcan A. Premature Ovarian Failure and 46,X,del(X)(q21).Clinical Genetics. Vol 78. Supplement 1. 9th National Medical Genetics Congress of Turkish Medical Genetics Society with International Participation December 1-5, 2010. Istanbul-Turkey.

4.ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN BİLDİRİLER

1. Güneş S., Kara N., Günal N., Küçüködük Ş., Ökten G., **Tural Ş.** ve Taşkın E.. “21q22q Translokasyonu Saptanan Bir Olgu”, IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 102, Manisa, 2005.

2. Güneş Özgür S., G. Ökten, N. Kara, S. Yiğit, **Ş. Tural**, E. Taşkın ve N. Karakuş, “Konjenital Anomalili Olgularda Sitogenetik Analiz Sonuçları”, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 95 , Kayseri, 2006
3. **Tural Ş.**, Güneş S., N. Kara, İ. Koçak ve G. Ökten, “Homolog Kromozom Çiftinin Her İkisinde inv(9)(P11q13) Kromozom Yapısı Görülen, 46,XX,inv(9)(P11q13)X2 Karyotipine Sahip, Habituel Abortuslu Bir Olgu”, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 97, Kayseri, 2006.
4. Ökten G., S. Güneş Özgür, N. Kara, S. Yiğit, **Ş. Tural** ve E. Taşkın, “Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerde Sitogenetik Analiz Sonuçları”, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 99, Kayseri, 2006.
5. Kara N., G. Ökten, S. Güneş, İ. Koçak, S. Yiğit, **Ş. Tural**, E. Taşkın, F. Pınarlı ve A. Kökçü, “Samsun ve Çevresinde 2000-2005 Yılları Arasında Amniyosentez Örneklerinde Sitogenetik Analiz Sonuçları”, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 133, Kayseri, 2006.
6. **Tural Ş.B.**, Kara N., Koçak İ., Ökten G.Habituel Abortus ve Mozaik X Kromozomlu iki olgu. X . Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi 6-9 Eylül 2007 Belek / Antalya
7. Kara N., Ökten G., **Tural Ş.B.**, Güneş S.Ö.,Güven D.,Koçak İ., Balcı A. Düşük örneklerinde sitogenetik analiz sonuçları. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 28-31 Ekim 2009 Bodrum.
8. Ökten G., Kara N., Güven D., **Tural Ş.B.**, Üstün C. Ailesel t(9;11)(p12;p11.2) ve infertilite. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 28-31 Ekim 2009 Bodrum.
9. Güneş S.,Aşçı R., Ökten G., Taşkın E., **Tural Ş.**, Mercimek M.N., Elbistan M.,Bağcı H. Azoospermik ve şiddetli oligozoospermik infertil olgularda sitogenetik ve moleküler genetik analiz sonuçları. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 28-31 Ekim 2009 Bodrum.

KATILDIĞI KURSLAR

1. ADLİ BİYOLOJİK İNCELEMELER VE MOLEKÜLER GENETİK KURSU 3-4 NİSAN 2007 İSTANBUL ADLİ TIP KURUMU (Teorik ve Pratik)

KATILDIĞI KONGRELER

1. VII. ULUSAL PRENATAL TANI VE TIBBİ GENETİK KONGRESİ 17-20 MAYIS 2006, KAYSERİ
2. VI. ULUSAL PRENATAL TANI VE TIBBİ GENETİK KONGRESİ BELEK,21-24 NİSAN 2007 ANTALYA
3. VIII.ULUSAL TIBBİ GENETİK KONGRESİ, 6-9 Mayıs 2008 ÇANAKKALE
4. I. ULUSLARARASI KATILIMLI KÖK HÜCRE SEMPOZYUMU, 29 EYLÜL-1 KASIM 2010 SAMSUN
5. 9. ULUSAL TIBBİ GENETİK KONGRESİ, 1-5 ARALIK 2010, İSTANBUL

ÜYE OLDUĞU DERNEKLER

1. TIBBİ GENETİK DERNEĞİ
2. SAMSUN KÖK HÜCRE DERNEĞİ