T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA KLİNİĞİ

OSTEOPOROZ KAYNAKLI KEMİK MODÜLASYONUNDA ADRENOMEDÜLLİNİN YERİ VE KEMİK BİYOBELİRTEÇLERİ İLE İLİŞKİSİ

Dr. Sema Kurnaz

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ŞİŞLİ HAMİDİYE ETFAL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA KLİNİĞİ

OSTEOPOROZ KAYNAKLI KEMİK MODÜLASYONUNDA ADRENOMEDÜLLİNİN YERİ VE KEMİK BİYOBELİRTEÇLERİ İLE İLİŞKİSİ

Dr. Sema Kurnaz

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatih Özçelik

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

İlk teşekkürümü; uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini her zaman paylaşan, mesleki ve akademik gelişimime büyük katkılarda bulunan; bana yalnızca biyokimya alanındaki engin bilgisini değil, aynı zamanda araştırma disiplini ve bilimsel düşünceyi de öğreten; asistanlığımın ortasında eğitim sorumluluğunu devralarak kısa sürede bizlerin mesleğimizde ilerlememizi sağlayan; tez hazırlama sürecimde desteğini esirgemeyen; sevgi, sabır ve özveriyle bizleri yetiştiren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fatih Özçelik'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Değerli hocam Uzm.Dr.Fatma Turgay'a, bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyen Uzm. Dr. Zeynep Mine Yalçınkaya Kara ve Uzm. Dr. Merve Sena Odabaşı'ya, asistanlığım boyunca yanımda olan tüm asistan arkadaşlarıma ve tez hazırlama sürecimde desteğiyle yanımda olan değerli arkadaşım Ali İmran Daştan'a teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, birçok konuda desteğini ve ortaklığını hissettiğim sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Mihriban Çakır' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince değerli katkılarını esirgemeyen, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği çalışanlarına ve kıymetli arkadaşım Dr. Rümeysa Türkoğlu' na teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince desteğini, sevgisini ve samimiyetini her zaman hissettiğim; enerjileriyle bana güç ve motivasyon veren tüm laboratuvar ekibine içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, sabrını ve sevgisini hiçbir zaman eksik etmeyen, çocuklarıma özveriyle bakarak bana bu yolda ilerleme fırsatı veren canım annem Gülşen Benli' ye, bana bilimin ve eğitimin gücüne inanmayı öğreten, desteğiyle cesaret veren canım babam Ayhan Benli' ye ve sevgisiyle güç veren canım ablam Kübra, kardeşlerim Seda ve Sümeyyenur' a teşekkür ederim.

Son olarak, her anımı anlamla dolduran, varlıklarıyla bana güç, sevinç, motivasyon ve amaç veren canım eşim Dorukhan'a ve henüz çok küçük olan, sabır ve sevgileriyle bana en büyük motivasyonu sağlayan kıymetlilerim sevgili çocuklarım Nida ve Atahan'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER VE KISALTMALAR vi
TABLO LİSTESİ ix
ŞEKİL LİSTESİ x
ÖZET xii
ABSTRACT xiv
GİRİŞ VE AMAÇ 1
GENEL BİLGİLER 3
KEMİK FİZYOLOJİSİ 3
Kemik Yapım Ve Yıkımında Rol Oynayan Faktörler 5
OSTEOPOROZ 9
Tanımı 9
Sınıflandırılması 9
Tanı Yöntemleri 10
ADRENOMEDÜLLİN 15
GEREÇ VE YÖNTEM 17
ETİK KURUL ONAYI 18
Çıkar Çatışması 18
Çalışmaya Kabul Kriterleri 19
Çalışma Red Kriterleri 19
LABORATUVAR ANALİZİ 19
ELISA Çalışması 19
İSTATİSTİKSEL ANALİZ 22
ÇALIŞMANIN POWER ANALİZİ 22
BULGULAR 24
KATILIMCILARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİN KARŞILAŞTIRMASI 24
GRUPLARININ RUTİN BİYOKİMYA SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI 27

KEMİK YAPIM VE YIKIMIYLA İLİŞKİLİ BİYOBELİRTEÇLERİN KARŞILAŞTIRILMASI 34
GRUPLARIN BİYOKİMYASAL VE KEMİK PARAMETRELERİNE AIT KORELASYON ANALİZLERİ 39
Pozitif korelasyonlar: 40
Negatif korelasyonlar: 40
TARTIŞMA 54
ARAŞTIRMANIN KISITLILIKLARI 67
SONUÇ 68
KAYNAKLAR 69
EKLER 85
EK 1. Bilgilendirilmiş Onam Formu ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
EK 2. Etik Kurul Onay Belgesi ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
EK 3. Tez Çalışma Tasarımının STROBE Kılavuzuna Göre Uygunluğu 86
ÖZGEÇMİŞ ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADM: Adrenomedüllin

ALP: Alkalen Fosfataz

AM1: Adrenomedullin 1

AM2: Adrenomedullin 2

BMI: Vücut Kitle İndeksi (Body Mass Index)

BMP: Kemik Morfogenetik Proteini

BUA: Broadband Ultrasonic Attenuation

Ca: Kalsiyum

CGRP: Kalsitonin Geni İlişkili Peptid

CLR: Kalsitonin Benzeri Reseptör

CTR: Kalsitonin Reseptörü

CTX-1: C-Terminal Telopeptid-1

DEXA: Dual Energy X-Ray Absorbsiyometri

DKK-1: Dickkopf-1

DPA: Dual Photon Absorptiometry

DSÖ / WHO: Dünya Sağlık Örgütü

FB-T: Femur Boyun T Skoru

FGF-23: Fibroblast Büyüme Faktörü 23

GH: Büyüme Hormonu

HRP: Horseradish Peroxidase

HYP: Hidroksiprolin

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IFN-γ: İnterferon-gama

IL-1: İnterlökin-1

IL-4: İnterlökin-4

IL-6: İnterlökin-6

IL-10: İnterlökin-10

IL-11: İnterlökin-11

IL-17: İnterlökin-17

IL-33: İnterlökin-33

IOF: Uluslararası Osteoporoz Vakfı

KALP: Kemik Spesifik Alkalen Fosfataz

KMY: Kemik Mineral Yoğunluğu

KRD: Kemik Rezorpsiyon Derecesi

L: Lumbal Vertebra

LRP5: Lipoprotein Reseptörü ile İlişkili Protein 5

LRP6: Lipoprotein Reseptörü ile İlişkili Protein 6

M-CSF: Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör

MKH: Mezenkimal Kök Hücre

NTX-1: N-Terminal Telopeptid-1

OC / BGP: Osteokalsin / Bone Gla Protein

OPG: Osteoprotegerin

P1CP: Prokollajen Tip 1 C-Propeptid

P1NP: Prokollajen Tip 1 N-Propeptid

PDGF: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü

pM: Pikomol

PTH: Paratiroid Hormonu

QCT: Kantitatif Bilgisayarlı Tomografi

RAMP: Reseptör Aktivite Değiştirici Protein (Receptor Activity-Modifying Protein)

RANK: Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatörü

RANKL: Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatör Ligandı

S1P: Sphingosine-1-Fosfat

SD: Standart Sapma

SOS: Speed of Sound

SOST: Sklerostin

SPA: Single Photon Absorptiometry

SXA: Single Energy X-Ray Absorptiometry

T3: Triiyodotironin

TGF-β: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta

Th17: T helper 17 hücreleri

TNF-α: Tümör Nekroz Faktör-Alfa

TRACP: Tartarat Dirençli Asid Fosfataz

TRACP-5b: Tartarat Dirençli Asid Fosfataz 5b

TSH: Tiroid Stimülan Hormon

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VDR: Vitamin D reseptör

WNT: Wingless

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kemik Yapım Ve Yıkımında Rol Oynayan Faktörler 6
Tablo 2. Dünya Sağlik Örgütü'nün Kemik Mineral Yoğunluğuna Göre Osteoporoz Tanımı 11
Tablo 3. Biyokimyasal Kemik Döngü Belirteçleri 11
Tablo 4. Normal Veya Osteopeni Ve Osteoporoz Tanisi Alanlara Göre Oluşturulan Çalışma Gruplarının Demografik Ve Klinik Özellikleri 25
Tablo 5. Çalışma Gruplarının Rutin Biyokimya Sonuçlarinin Karşilaştirilmasi 28
Tablo 6. Çalışma Gruplarının Kemik Yapım Ve Yıkımında İlişkili Biyobelirteçlere Ait Sonuçlarının Karşılaştırılması 36
Tablo 7. Tüm Çalışma Gruplarına Ait İstatistiksel Olarak Anlamlı Çıkan Parametrelerle Yapılan Korelasyon Matriks Analizi 42
Tablo 8. Normal Veya Osteopeni Grubunun İstatistiksel Olarak Anlamlı Çıkan Parametreleriyle Yapılan Korelasyon Matriks Analizi 43
Tablo 9. Osteoporoz Grubunun İstatistiksel Olarak Anlamlı Çıkan Parametreleriyle Yapılan Korelasyon Matriks Analizi 44
Tablo 10. Osteoporoz Oluşumu Üzerinde Etkisi Olduğu Düşünülen On Bir Bağımsız Değişkenin Kullanılarak Uygulanan Binary Regresyon Analizi Sonuçlari 48
Tablo 11. Osteoporoz Oluşumu Üzerinde Etkisi Olduğu Düşünülen Altı Bağımsız Değişkenin Kullanılarak Uygulanan Binary Regresyon Analizi Sonuçları 49

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kanonik WNT sinyal yolağı ve kemik remodeling 4
Şekil 2. RANK-RANKL ve osteoprotegrin (OPG) ilişkisi 5
Şekil 3. Sitokinlerin osteoblastlar ve osteoklastlar üzerindeki etkileri 8
Şekil 4. Kemik rezorpsiyonunda tip 1 kollajen parçalanması; CTX ve NTX salınımı. 15
Şekil 5. Çalışma gruplarının yaş ve BMI değerlerini karşılaştıran e box-plot grafiği. 24
Şekil 6. Çalışma gruplarının L1-L2 T skoru değerlerini karşılaştıran box-plot grafiği 26
Şekil 7. Çalışma gruplarının femur boyun T skoru değerlerini karşılaştıran box-plot grafiği 26
Şekil 8. Çalışma gruplarının kemik rezorbsiyon derecesi değerlerini karşılaştıran bar chart grafiği. 27
Şekil 9. Çalışma gruplarının PTH düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 29
Şekil 10. Çalışma gruplarının kreatinin düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. .. 30
Şekil 11. Çalışma gruplarının üre düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği..... 30
Şekil 12. Çalışma gruplarının ürik asit düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği..... 31
Şekil 13. Çalışma gruplarının ALP düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 31
Şekil 14. Çalışma gruplarının TSH düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 32
Şekil 15. Çalışma gruplarının T3 düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 32
Şekil 16. Çalışma gruplarının kortizol düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 33
Şekil 17. Çalışma gruplarının D vit düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği..... 33
Şekil 18. Çalışma gruplarının Ca düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 34
Şekil 19. Çalışma gruplarının ADM düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği 35
Şekil 20. Çalışma gruplarının OPG düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği..... 37
Şekil 21. Çalışma gruplarının CTX-1 düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 37
Şekil 22. Çalışma gruplarının OTC/BGP düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 38
Şekil 23. Çalışma gruplarının SOST düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 38
Şekil 24. Çalışma gruplarının TNF-α düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. 39

Şekil 25. Grup 1'in ADM değerleri ile OPG ve OTC değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren spearman korelasyon grafiği. 46
Şekil 26. Grup 1'in adm değerleri ile CTX-1, SOST ve TNF-α değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren spearman korelasyon grafiği. 46
Şekil 27. Osteoporoz grubunun ADM değerleri ile OPG, OTC değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği. 47
Şekil 28. Osteoporoz grubunun ADM değerleri ile CTX-1, SOST ve TNF-α değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği. 47
Şekil 29. T3, kortizol ve Ca testlerinin osteoporoz durumunun saptanmasındakı tanısal değerini tespit etmek için yapılan ROC analiz sonuçları. 52
Şekil 30. ADM, OPG ve CTX-1 testlerinin osteoporoz durumunun saptanmasındakı tanısal değerini tespit etmek için yapılan ROC analiz sonuçları. 53

ÖZET

Amaç: Osteoporoz, kemik yoğunluğunda azalma ve yüksek kırık riskiyle karakterize bir hastalıktır. Adrenomedüllin hormonunun kemik metabolizmasında rol oynayabileceği düşünülmekle birlikte, osteoporozdaki etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı, osteoporozlu hastalarda adrenomedüllinin (ADM) kemik modülasyonundaki etkisini ve kemik biyobelirteçleri [C-terminal telopeptid-1 (CTX-1), osteoprotegerin, sklerostin, osteokalsin ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF-α)] ile ilişkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Tek merkezli kesitsel klinik çalışma olarak planlanan çalışmaya, osteoporoz tanılı 90 hasta ve osteoporozu olmayan 90 hasta kontrol grubu olarak alındı. Hastaların serum ve plazma numuneleri toplandı. Hastaların demografik, klinik özellikleri, DEXA ve biyokimyasal sonuçları (serum kreatinin, üre, ürik asit, ALP, kalsiyum, PTH, TSH, T3, kortizol, D-vitamini) kayıt altına alındı. Tüm katılımcıların serumlarında ADM, C-terminal telopeptit-1 (CTX-1), osteoprotegerin, sklerostin, osteokalsin ve TNF-α düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Bu çalışmada, postmenopozal kadınlarda osteoporoz ile biyokimyasal ve kemik biyobelirteçleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Toplam 180 katılımcı, kemik mineral yoğunluğuna göre normal/osteopeni (Grup-1) ve osteoporoz (Grup-2) olarak iki gruba ayrılmıştır. Osteoporoz grubunda TSH ve T3 düzeyleri düşük; kortizol, D vitamini ve kalsiyum düzeyleri olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). ADM ve CTX-1 düzeyleri Grup 2'de artmış, OPG düzeyleri azalmıştır. Lojistik regresyon analizinde T3, kortizol, Ca, ADM, OPG ve CTX-1 parametreleri osteoporozla anlamlı ilişkili bulunmuştur. ROC analizinde, CTX-1 en yüksek tanısal doğruluğa sahip belirteç olarak öne çıkmış (AUC=0.752), onu Ca (AUC=0.648) ve ADM (AUC=0.615) izlemiştir. Bu bulgular, osteoporozda artmış kemik yıkımının biyobelirteç düzeylerine yansıdığını ve özellikle CTX-1, ADM, Ca ve OPG'nin osteoporozun tanısal değerlendirmesinde anlamlı katkılar sağlayabileceğini göstermektedir.

Sonuç: Bu parametrelerin hiçbirinin duyarlılık ve özgüllük toplamı, klinik pratikte tek başına tanı için gerekli olan 170 eşiğine ulaşamamıştır. Bu bulgular, tek bir biyobelirtece güvenmenin yetersiz kalacağını göstermekte olup gelecek çalışmalar,

bu tür çoklu biyobelirteç panellerinin klinik etkinliğini ve prediktif değerini daha detaylı araştırmalıdır.

Anahtar kelimeler: Adrenomedullin, C-terminal telopeptid, Osteokalsin, Osteoprotegerin, Osteoporoz, Sklerostin

THE ROLE OF ADRENOMEDULLIN IN OSTEOPOROSIS-INDUCED BONE MODULATION AND ITS RELATIONSHIP WITH BONE BIOMARKERS

ABSTRACT

Aim: Osteoporosis is a disease characterized by decreased bone density and increased fracture risk. Although adrenomedullin (ADM) hormone is thought to play a role in bone metabolism, its effect in osteoporosis remains unclear. This study aimed to investigate the role of ADM in bone modulation and its relationship with bone biomarkers [C-terminal telopeptide-1 (CTX-1), osteoprotegerin (OPG), sclerostin (SOST), osteocalcin (OC), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)] in patients with osteoporosis.

Materials and Methods: This single-center cross-sectional study included 90 patients with osteoporosis and 90 healthy controls. Serum and plasma samples were collected, and demographic, clinical, and biochemical data (serum creatinine, urea, uric acid, alkaline phosphatase, calcium, parathyroid hormone, thyroid-stimulating hormone, T3, cortisol, vitamin D) were obtained. Serum levels of ADM, CTX-1, OPG, SOST, OC, and TNF-α were measured.

Results: A total of 180 postmenopausal women were divided into two groups based on bone mineral density: normal/osteopenia (Group 1) and osteoporosis (Group 2). In the osteoporosis group, TSH and T3 levels were significantly lower, while cortisol, vitamin D, calcium levels were significantly higher ($p<0.05$). ADM, CTX-1 levels were elevated, whereas OPG levels were decreased in Group 2. Logistic regression analysis identified T3, cortisol, calcium, ADM, OPG, CTX-1 as significantly associated with osteoporosis. ROC analysis showed CTX-1 had the highest diagnostic accuracy (AUC=0.752), followed by calcium (AUC=0.648) and ADM (AUC=0.615). These findings suggest increased bone resorption reflected by biomarker changes in osteoporosis, with CTX-1, ADM, calcium, OPG providing meaningful diagnostic value.

Conclusion: None of the parameters achieved the sensitivity and specificity sum threshold of 170, indicating that a single biomarker is insufficient for reliable diagnosis. These findings indicate that relying on a single biomarker is insufficient,

and future studies should investigate the clinical utility and predictive value of such multi-biomarker panels in greater detail.

Keywords: Adrenomedullin, C-terminal telopeptide, Osteocalcin, Osteoprotegerin, Osteoporosis, Sclerostin

GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoporoz, kemik mineral yoğunluğunun azalması ve kemik dokusunun mikro yapısındaki bozulması ile seyreden iskelet kırılganlığının arttığı ilerleyici bir kemik metobalizma hastalığıdır (1). Tüm dünyada yaşama süresinin uzamasıyla artan yaşlı nüfusa bağlı olarak, osteoporoz önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Günümüzde osteoporotik birey sayısının 200 milyonu geçtiği tahmin edilmektedir (2).

Klinik olarak genellikle belirti vermeden ilerleyen osteoporoz, düşük enerjili travmalarla ya da travma olmaksızın meydana gelen kırıklarla kendini gösterebilir; ancak kırık gelişmeden önce tanı konulup uygun önleme ve tedavi yaklaşımlarıyla ciddi komplikasyonlar engellenebilir.

Osteoporoz tanısında önerilen temel yöntem, kemiğin mineral yoğunluğunun dual energy X ray absorbsiyometri (DEXA) ile değerlendirilmesidir.

Biyokimyasal kemik döngü belirteçleri olarak kabul edilen, kemiğin rezorpsiyonu (yıkım) ve formasyonu (yapım) sırasında, kanda ve idrarda kemik yapım ya da yıkımı sırasında oluşan maddeler vardır. Bu maddelere biyokimyasal kemik döngü belirteçleri denir. Bu belirteçlerin tayini yapılarak kemikteki yıkım ve yapım durumu hakkında fikir sahibi olunur (3,4).

Biyokimyasal kemik döngü belirteçleri, tedavi edilmemiş olgularda kırık riski ve kemik kaybı hızının öngörülmesinde; tedavi sürecinde belirteç düzeylerinin 3–6. aylarda tekrarlanmasıyla hasta uyumunun ve ilacın uygun kullanımının değerlendirilmesinde; ayrıca tedavi öncesi ve sonrası kemik mineral yoğunluğu değişimlerinin izlenmesi ile tedaviye ara verme veya yeniden başlama zamanının belirlenmesinde kullanılabilir (5,6).

Adrenomedüllin (ADM), ilk kez 1993 yılında Japon araştırmacılar tarafından feokromositomalı bir hastanın tümör dokusundan izole edilmiştir. Adını da adrenal medullada keşfedilmesinden alan, 52 aminoasit uzunluğunda bir peptid hormondur (7). Vücutta bilinen en güçlü vazodilatör hormonlardan biri olan kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP) ile %20 benzer yapı göstermesi nedeniyle, adrenomedüllinin de benzer şekilde güçlü vazodilatör özellik taşıdığı hipotezi ortaya atılmış ve bu etki ilk deneylerle doğrulanmıştır (8). Sepsis, kronik renal yetmezlik ve konjestif kalp yetmezliği gibi sistemik stres oluşturan klinik tablolarda da adrenomedüllin

düzeylerinin arttığı ve bu artışın prognostik bir belirteç olarak değerlendirilebileceği literatürde vurgulanmaktadır (9). Osteoblastlar ve kemik dokuya yönelik çalışmalarda, hücre proliferasyonu ve apoptozun inhibisyonu açısından olumlu etkiler göstermiştir (10).

Bu çalışmada osteoporozlu hastalarda kemik modülasyonuna adrenomedüllinin etkisinin olup olmadığının araştırılması ve adrenomedüllinin kemik biyobelirteçleriyle (osteoprotegerin, CTX-1, sklerostin, osteokalsin, TNF-α) ve diğer biyokimyasal parametrelerle (kreatinin, üre, ürik asit, ALP, Ca, PTH, TSH,T3, kortizol, D-vit) ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

KEMİK FİZYOLOJİSİ

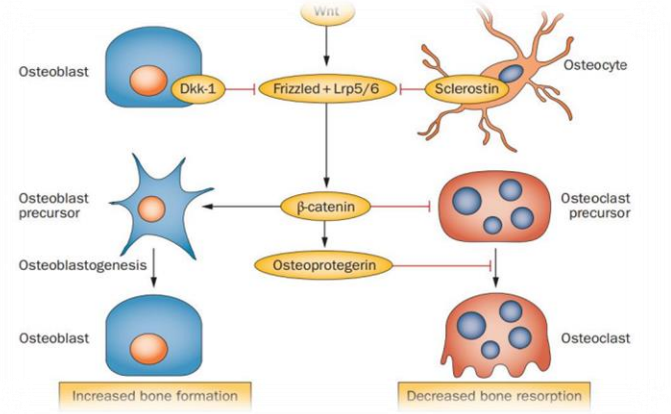
Kemik, canlı organizmalarda sürekli olarak kendini yenileyebilen dinamik bir bağ dokusu niteliğindedir. Temel işlevleri arasında; beyin, kalp ve akciğer gibi hayati organları koruyucu bir yapı ile çevreleyerek korumak, kalsiyum başta olmak üzere çeşitli minerallerin depolanmasını sağlamak, vücuda mekanik destek sunmak, hematopoez sürecine katkıda bulunmak ve bağışıklık sistemi fonksiyonlarını desteklemek yer almaktadır (11).

Kemik hücreleri, iskelet dokusunun korunması, tamiri ve çevresel faktörlere uyumu gibi işlevleri üstlenen özelleşmiş bir hücresel organizasyonu temsil eder. Bu hücreler temel olarak üç ana grupta incelenir. Osteoblastlar, mezenkimal kök hücrelerden türeyen (osteoprogenitör hücreler) , mononükleer yapıda ve kemik dokusunun temel hücreleridir. Bu hücreler, osteoid adı verilen organik kemik matriksini sentezlemenin yanı sıra osteoklast aktivitesini de düzenleme işlevi görür. Osteoblast işlev ve kemik oluşumu için kemik morfogenetik proteini (BMP), TGF β aktivasyonunu ve özellikle Wingless (WNT) sinyal yolu aktivasyonu gerekmektedir. WNT, osteoblastogenezi indükler ve böylece kemik oluşumunu arttırır. WNT sinyali, sklerostin, Dickkopf 1 gibi WNT inhibitörleri tarafından negatif kontrol altındadır (12)(Şekil 1). İnaktif olduklarında, kemik yüzeyinde yerleşerek 'kemik yüzey hücreleri' adı verilen durağan bir formda bekleyebilirler. Gerektiğinde, örneğin travma sonrası, yeniden aktive olarak osteoblast fenotipine dönüşebilirler. Ayrıca bazı osteoblastlar, faaliyetlerini sürdürerek kendi ürettikleri osteoid matriksi içerisinde gömülüp terminal farklılaşma ile osteositlere dönüşebilirler (13).

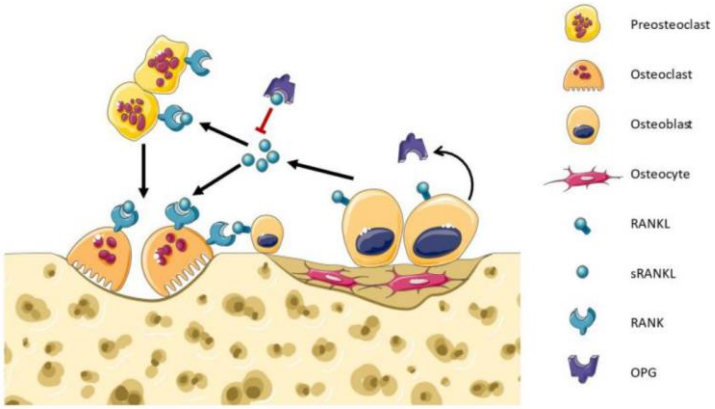
Osteositler, kemik dokusundaki hücrelerin yaklaşık %90'ını oluşturan ve kemik içi mekaniğin düzenlenmesinde önemli rol oynayan hücrelerdir. Uzantıları aracılığıyla birbirleriyle ve yüzeydeki diğer kemik hücreleriyle dendritik bağlantılar kurabilirler. Bu bağlarla kemikte nerede yeni doku sentezlenmesi veya rezorpsiyon gerçekleşmesi gerektiği konusunda bilgi aktarımı sağlarlar. Osteositler tarafından üretilen anahtar moleküller arasında da RANKL, WNT sinyal yolunun inhibitörleri (sklerostin ve Dickkopf 1 dâhil) ve fosfat homeostazının düzenleyicisi olan fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF23) bulunmaktadır (14). Osteositlerin bu düzenleyici rolü,

başta Wnt/β-katenin sinyal yolu olmak üzere çeşitli hücresel sinyal mekanizmaları aracılığıyla gerçekleştirilir (15).Osteoklastlar ise kemik yıkımı ve yeniden yapılanma süreçlerinde hayati öneme sahiptir. Osteoblastlar ile osteositler, mezenkimal kökenli kök hücrelerden farklılaşırken; osteoklastlar, hematopoetik kökenli hücrelerden türemekte olup monosit/makrofaj soyuyla ilişkilidir (16).

Osteoklast öncül hücrelerinin farklılaşması da osteoblastlardaki RANK-RANKL sistemiyle veya doğrudan hemotopoetik yolla; Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör (MCSF) aracılığıyla olur. Bu süreçte osteoblastlardan üretilen RANKL, osteoklast öncüllerinde RANK reseptörüne bağlanarak hücre içi tirozin kinazları aktive eder. Son dönemde, bu sinyal yolunun kemik homeostazındaki rolü dikkat çekmektedir. Osteoblastlar, aynı zamanda OPG (osteoprotegrin) sentezleyerek RANKL ile RANK etkileşimini inhibe eder; bu sayede aşırı osteoklast aktivitesi sınırlanır (17). Osteoklastlar, hücre membranlarında yer alan çeşitli iyon kanalları aracılığıyla ekstrasellüler ortama proton iyonları salgılarlar ve bu mekanizma ile lokal pH'ı düşürerek asidik bir mikroçevre oluştururlar. Bu asidik ortam, mineralize kemik matriksinin çözünmesini kolaylaştırır ve aynı zamanda proteolitik enzimlerin aktifleşmesini sağlar (18) (Şekil 2).



Şekil 1. Kanonik WNT sinyal yolağı ve kemik remodeling- Xiong' den (19)



Şekil 2. RANK-RANKL ve osteoprotegrin (OPG) ilişkisi – Kutlu'dan(20)

Sağlıklı kemik dokusu, sürekli bir yapım ve yıkım döngüsü içinde dinamik bir denge halinde bulunur. Bu süreçte osteoblastlar, yeni kemik matriksinin sentezinden sorumlu iken; osteoklastlar, mevcut kemiğin rezorpsiyonunu gerçekleştirir. Bu kesintisiz döngü, literatürde remodeling olarak tanımlanmakta olup; mikroskobik düzeydeki doku hasarlarının onarılması, iskelet sisteminin mekanik stabilitesinin sürdürülmesi ve plazma kalsiyum düzeylerinin homeostazının sağlanması açısından yaşamsal bir rol üstlenmektedir. (19). Kemik remodelingi sırasında, yapım ve yıkım arasındaki dengenin bozulması, kemik yıkımının artması veya kemik yapımının azalması, osteoporozun patofizyolojik temelini oluşturur (20).

Kemik Yapım Ve Yıkımında Rol Oynayan Faktörler

Kemik yapımı ve yıkımında görev olan pek çok sistemik ve lokal faktör vardır (Tablo 1)(21,22).

Tablo 1. Kemik yapım ve yıkımında rol oynayan faktörler

Hormonlar	**Parakrin / Otokrin faktörler**
1. Kemik yapımını arttıranlar: Kalsitonin: Osteoklastları baskılar, kemik yıkımını azaltır. Büyüme hormonu (GH): IGF aracılığıyla osteoblastları uyarır. İnsülin: Osteoblast fonksiyonlarını destekler. Sex steroids: Östrojen ve testesteron, osteoklast apoptozunu hızlandırır. Kalsitriol (1,25-$(OH)_2D_3$): Paratiroid hormonu (PTH): Aralıklı verildiğinde.	**1. Kemik yapımını arttıranlar** IGF: Osteoblast proliferasyonunu artırır. TGF-β: Osteoblast farklılaşmasını teşvik eder. PDGF: Kemik iyileşmesini hızlandırır. VEGF: Anjiyogenezi artırarak kemik rejenerasyonuna katkı sağlar. OPG: RANKL'yi bloke ederek osteoklast oluşumunu engeller. BMP: Osteoblastları uyararak yeni kemik oluşumunu başlatır. Nitrik oksit: Düşük dozda osteoblastları uyarır. Wnt sinyal yolu: Osteoblast aktivitesini ve OPG üretimini artırır.
2. Kemik yapımına negatif etkililer PTH: Osteoklast aktivitesini artırarak kemik yıkımını tetikler. Glukokortikoidler: Yüksek düzeyde osteoblastları baskılar, kemik kaybına neden olur. Tiroid hormonları: Yüksek düzeyde kemik dönüşüm hızını artırarak osteoporoz riskini yükseltir.	**2. Kemik yapımına negatif etkililer** Sitokinler: IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, TNF-α osteoklast aktivitesini artırır. M-CSF: Osteoklast öncül hücrelerinin farklılaşmasını teşvik eder. Prostanoidler: Osteoklastları uyararak kemik rezorpsiyonuna katkı sağlar. Lökotrienler: Kemik yıkım sürecini destekler. Nitrik oksit: Yüksek doz osteoklast aktivitesini artırabilir. RANK – RANKL sistemi: Osteoklast oluşumu ve fonksiyonunu doğrudan artırır.

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü, TGF-β: Transforme edici büyüme faktörü-beta, PDGF: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü, VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü, OPG: osteoprotegrin, BMP: Kemik morfojenik protein, M-CSF: Makrofaj koloni uyarıcı faktör, RANK: Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatörü, RANKL: Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatör Ligandı

1. Paratiroid hormon (PTH): PTH paratiroid bezi esas hücrelerince sentez edilir, depolanır ve salgılanır. Kalsiyumun önemli bir düzenleyicisidir. Bunu kemik, ince barsaklar ve böbrekteki etkileri ile gerçekletirir. Paratiroid hormonunun kemikteki esas hedefi osteoblast hücreler olmasına rağmen, en belirgin etki osteoklastlarda gözlenmektedir; ancak bu etki dolaylıdır, zira osteoklastlarda PTH reseptörleri doğrudan saptanamamıştır. Böbreklerde 1-α hidroksilaz enzimini aktive ederek 1-25 vit D3' ün yapımını arttırır. 1-25 vit D3 de ince barsaklarda kalsiyum ve fosfat

emilimini arttırır; serum kalsiyum derişimi arttırılmış olur (23–25). Kemikteki anabolik etkileri, kesik aralıklarla uygulanan PTH, osteoblastları (kemik yapıcı hücreler) doğrudan uyararak kemik matriksinin sentezini artırır. Bu etki, kemik mineral yoğunluğunun artmasına ve kemik yapısının güçlenmesine yol açar. Özellikle osteoporoz tedavisinde, vertebral ve non-vertebral kırıkların insidansını azalttığı gösterilmiştir (26). Kemikteki katabolik etkileri, sürekli yüksek PTH seviyeleri, osteoklastları dolaylı yoldan uyararak kemik rezorpsiyonunu artırır. Bu süreç, osteoblastların RANKL üretimini artırması ve OPG üretimini inhibe etmesiyle gerçekleşir (27).

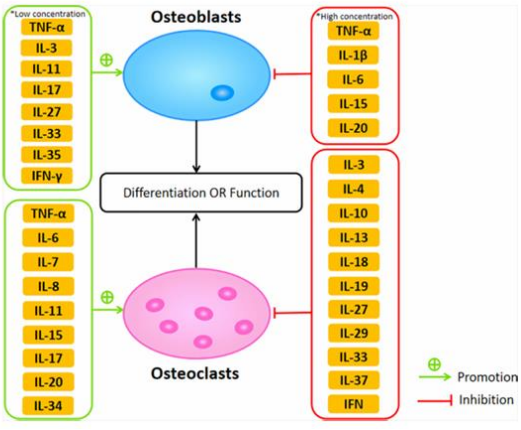
2. Kalsitriol ($1,25\text{-}(OH)_2D_3$): 1,25-Dihidroksivitamin D_3 [$1,25(OH)_2D_3$], barsaklardan kalsiyum, fosfat emilimini artırarak kemik mineralizasyonunu destekler. Serum düzeyleri, başlıca PTH ve serum fosfat düzeylerine bağlı olarak düzenlenmektedir. PTH, renal 1α-hidroksilaz aktivitesini artırarak $1,25(OH)_2D_3$ sentezini uyarırken; fosfat, bu üretimi baskılayıcı yönde etki gösterir. Serum kalsiyum düzeylerinin düşmesi ise PTH salınımını teşvik ederek dolaylı yoldan $1,25(OH)_2D_3$ seviyelerini yükseltir(28). Yüksek düzeyde $1,25(OH)_2D_3$, osteoklastlara doğrudan etkiyle kemik rezorpsiyonunu artırabilir ve mineral salınımını (kalsiyum ve fosfat) kolaylaştırabilir; kemik stromal hücrelerinin M-CSF ve RANKL sunumunu arttırarak. Ancak fizyolojik koşullarda esas etkisi, osteoklastları doğrudan aktive etmek değil; hematopoetik kökenli öncül hücrelerin farklılaşmasını destekleyerek osteoklast oluşumunu artırmaktır. Bu süreç özellikle hipokalsemiye yanıt olarak artan PTH aracılığıyla gerçekleşmektedir (28).

3. Tiroid hormonları: Kemik dokusunun normal gelişimi ve matürasyonu açısından vazgeçilmez bir unsurdur. Yüksek düzeyde ise kemik dokusunda hem rezorptif süreçleri hem de yeni matriks oluşumunu artırıcı etki göstermesine rağmen yıkım oranının yapımdan daha fazla uyarılması nedeniyle, her remodeling ünitesi sonunda kemik kitlesinde net bir azalma gözlenir. Bu etkileri somatomedin ve diğer büyüme faktörlerin yapımını doğrudan arttırarak gercekleştirir (29).

4. Glukokortikoidler: Glukokortikoidlerin iskelet sistemi üzerindeki etkileri dozla ilişkilidir. Fizyolojik konsantrasyonlarda osteoblastik etki ederler. Düşük düzeylerde kemik kollajen yapımını arttırırlar fakat yüksek düzeyleri osteoblastlar

üzerine doğrudan inhibitör etkilidir. Kollajen üretimini yavaşlatırlar. Sindirim sisteminden kalsiyum emilimini azalttıklarından, hipokalsemiye yanıt olarak PTH'nin artan etkisi sonucu osteoklastik aktivitenin artmasına sebep olurlar (25,30).

5. Sitokinler: Sitokinler, yalnızca inflamatuvar ve immün yanıt süreçlerinde değil, aynı zamanda doğrudan kemik hücrelerinin fonksiyonları üzerinde de etkilidir. Bu moleküller, kemik iliğindeki çeşitli hücreler tarafından sentezlenebilir ya da kemik mikroçevresinde yer alan osteoblast, osteoklast ve stromal hücreler tarafından lokal olarak üretilebilir. Böylece kemik dokusunun yeniden şekillenme sürecinde parakrin veya otokrin sinyalleşme yoluyla görev alırlar (31). Örneğin, TNF-α (Tümör Nekroz Faktörü-alfa), osteoblastlar, osteoklast öncülleri ve makrofajlar tarafından üretilir ve stromal hücrelerde RANKL üretimini destekleyip osteoklastların farklılaşmasını artırarak kemik yıkımını teşvik eder. IL-1 (Interlökin-1) da osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından salgılanarak osteoklast aktivitesini artırır ve kemik rezorpsiyonuna yol açar. IL-6 (Interlökin-6), osteoblastlar ve osteositler tarafından üretilir ve osteoklastların farklılaşmasını desteklerken, osteoblast fonksiyonlarını inhibe eder. IL-11, osteoblastlardan salınır ve osteoklastların farklılaşmasını teşvik ederek kemik yıkımını artırır. Interlökin-17 (IL-17) ise Th17 hücreleri tarafından üretilir ve osteoklastogenezi teşvik eder, osteoblastlardan RANKL üretimini artırarak kemik yıkımını artırır. IL-4, IL-10 ve IFN-γ (Interferon-gama) T hücreleri tarafından üretilir ve osteoklastların farklılaşmasını inhibe ederek osteoblast fonksiyonlarını destekler. IL-33, osteoblastlar ve osteositler tarafından salgılanarak osteoblast fonksiyonlarını destekler ve osteoklast farklılaşmasını inhibe eder (31–34) (Şekil 3).



Şekil 3. Sitokinlerin osteoblastlar ve osteoklastlar üzerindeki etkileri (36)

OSTEOPOROZ

Tanımı

Osteoporoz, kemik mineral yoğunluğunda azalma ve dokusundaki mikro yapısının bozulması sonucu iskelet kırılganlığının artışıyla seyreden ilerleyici bir metabolik kemik hastalığıdır (1).Osteoporoz, genellikle kırıklarla sonuçlanan; ağrı, şekil bozukluğu ve işlev kaybına yol açabilen kronik bir hastalıktır. Klinik bulgular ve komplikasyonlar ortaya çıkmadan önce uzun süre belirti vermeyen bir evre izlenebilir; bu sürece "asemptomatik dansitometrik osteoporoz" denilmektedir. Erken tanı bu evrede büyük önem taşımaktadır (35) (36).Osteoporozun tanısı, kemik yoğunluğunun ölçülmesi veya histomorfometrik analizlerle konulabilir. Tanısal süreç; ayrıntılı hasta öyküsü, fiziksel değerlendirme, biyokimyasal parametrelerin incelenmesi, görüntüleme teknikleri ve gerektiğinde kemik biyopsisini içermelidir. Klinik olarak osteoporoz tanısı ölçüm olmaksızın vertebra, kalça, el bileği, humerus veya pelviste atravmatik frajilite kırığı varlığı ile de konulabilir (37). Rutin uygulamalar arasında öykü alma, fizik muayene, laboratuvar analizleri, konvansiyonel radyografi ve Dual Enerji X-Işını Absorpsiyometrisi (DEXA) ile kemik mineral yoğunluğu değerlendirmesi yer almaktadır (38).

Sınıflandırılması

Etiyolojik sınıflandırma, osteoporozun tanı ve yönetiminde en yaygın kullanılan sınıflama biçimidir. Bu yaklaşıma göre osteoporoz, primer ve sekonder olarak iki gruba ayrılır (39).Primer osteoporoz, herhangi bir sistemik hastalık veya dışsal patolojik etken olmaksızın, genellikle yaşlanma, hormonal değişiklikler veya genetik faktörlerle ilişkili olarak ortaya çıkar. Bu formda, kemik kütlesinde azalma kendiliğinden gelişmekte olup, altta yatan doğrudan bir neden tespit edilemez (39).

Buna karşılık, sekonder osteoporoz, başka bir hastalık, endokrin bozukluk, kronik inflamatuar süreçler, beslenme yetersizlikleri veya uzun süreli ilaç kullanımı gibi dışsal ve tanımlanabilir bir etiyolojik faktöre bağlı olarak gelişir. Sekonder osteoporozun varlığı, esas hastalığın bir komplikasyonu olarak ele alınır ve altta yatan nedenin tanımlanması, tedavi başarısı açısından kritik öneme sahiptir (39).

Tanı Yöntemleri

1.Kemik mineral yoğunluğu ölçümünde kullanılan görüntüleme teknikleri: Radyografiler, Çift (Dual) Enerji X-Ray Absorbsiyometre (DEXA), Tek Foton Absorbsiyometre (SPA), Çift Foton Absorbsiyometre (DPA), Kantitatif Komputerize Tomografi (QCT), Ses Hızı (SOS) ve Geniş Bant Ultrasonik Zayıflatma (BUA) verilerini içeren ultrasonik ölçüm, Tek Enerji X-Ray Absorbsiyometre (SXA) (40).

1.1. Çift enerji X-ray absorbsiyometre (DEXA): çift enerji X-ışını absorpsiyometrisi (DEXA), kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesinde en sık tercih edilen yöntemdir. Uygulaması pratik olup, klinik açıdan önemli bölgeler hakkında bilgi sunar. Ancak bu yöntemin başlıca sınırlılığı; görüntüleme tekniği ve cihaz kalibrasyonuna bağlı olarak ölçüm hatalarının oluşabilmesidir. Radyasyon maruziyeti oldukça düşüktür. DEXA ile kemik mineral yoğunluğu alansal olarak ölçülür ve her santimetre kareye düşen mineral miktarını gram olarak ifade eder (g/cm2). Kemik mineral yoğunluğu ölçümü DEXA yöntemi ile gerçekleştirilir. DEXA ölçümü genellikle femur boynu veya lomber vertebra bölgelerindeki kemik yoğunluğunu değerlendirir. Her cihaz için normal değer aralığı farklı olabilir. KMY değeri esas alınarak T ve Z skorları hesaplanır; DEXA sonuçları osteoporoz açısından yorumlanırken KMY değil, T ve Z skorları kullanılır. T skoru hastaların aynı popülasyondaki genç erişkin bireylerin ortalamasına göre standart sapma (SD) farkıdır; Z skoru ise yaşıtlarının ve hemcinslerinin KMY ölçüm değerlerinin ortalamasının standart sapma farkıdır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre osteoporoz tanısı, menopoz sonrası kadınlarda ve 50 yaş ve üzeri erkeklerde lomber omurga, total kalça veya femur boynu T skoru -2,5 veya daha az ise konur. T- skoru - 1 ila -2.5 arasında ise osteopeni, ≥-1 ise normal olarak kabul edilir (42). Premenopozal kadınlarda, çocuklarda ve 50 yaş altı erkeklerde Z skoru kullanılmaktadır (Tablo 2) (43). Z skorları - 2,0 veya daha düşük olanlar kronolojik yaş için düşük KMY olarak sınıflandırılırken, - 2,0 ' ın üzerindekiler yaş için beklenen aralıkta olarak sınıflandırılır (44).

Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü'nün kemik mineral yoğunluğuna göre osteoporoz tanımı (43)

Sınıflama	**Kemik mineral yoğunluğu**	**T skoru**
Normal	Genç-erişkin referans popülasyon ortalamasının 1 SD altında ya da üzerinde olması	-1 ve üzeri
Düşük kemik kütlesi (Osteopeni)	Genç-erişkin referans popülasyon ortalamasının 1.0 ve 2.5 SD altında olması	-1 ile -2.5 arası
Osteoporoz	Genç-erişkin referans popülasyon ortalamasının 2.5 SD ya da daha fazla altında olması	-2.5 ya da daha düşük
Ciddi ya da yerleşmiş osteoporoz	Genç-erişkin referans popülasyon ortalamasının 2.5 SD ya da daha fazla altında olmak ve eşlik eden frajilite kırığı	-2.5 ya da daha düşük ve bir ya da daha çok kırık

SD: Standart sapma

2. Biyokimyasal kemik döngü belirteçleri: Kemik dokusunun rezorpsiyonu ve formasyonu aşamasında, kan ve idrara yansıyan bazı maddeleri vardır. Bu maddelere biyokimyasal kemik döngü belirteçleri denir (Tablo 3). Bu maddelerin tayiniyle kemikteki rezorpsiyon veya formasyon durumuyla ilgili bilgi sahibi olunur (3,4). Kemik döngü belirteçlerinin osteoporoz tanısında kullanılmaları ise önerilmemektedir, tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinde ve ilaçların etkinliğini izlemede kullanılmaktadır (45).

Tablo 3. Biyokimyasal kemik döngü belirteçleri (Garnero, 2017)

Kategori	**Belirteç**
1. Kemik Oluşumu	- Toplam ALP - Kemiğe özgü ALP - P1NP - Osteokalsin - P1CP - OPG (RANKL'yi inhibe ederek osteoklast aktivitesini baskılar) - S1P (osteoblast aktivitesini artırır) - Periostin (non-kollajen matriks proteini, osteoblastları destekler)

2.Kemik Rezorpsiyonu	- Hidroksiprolin - Piridinolin - Deoksipiridinolin - TRACP-5b - CTX-1 - NTX-1 - Katepsin K - RANKL (osteoklast farklılaşmasını ve aktivitesini artırır) - DKK-1 (osteoblast aktivitesini baskılar, rezorpsiyona katkıda bulunur) - Sklerostin (osteoblastları inhibe eder, rezorpsiyonu destekler)
3. Yeni Nesil Belirteçler	- FGF-23 (fosfat homeostazı ve mineral dengesi üzerinde etkili) - microRNA'lar (örn. miR-21, miR-133a, miR-214; hem osteoblast hem osteoklastları etkiler) - Eksozomlar ve içerdiği protein/RNA'lar (kemik hücreleri arası iletişimde rol oynar) - Sirküle eden MKH belirteçleri (MKH'lerden salınan yeni araştırma düzeyinde biyomarkerler)

ALP: Alkalen fosfataz, P1NP: Prokollajen Tip 1 N-propeptid, P1CP: Prokollajen Tip 1 C-propeptid, RANKL: Nükleer Faktör Kappa-B Reseptör Aktivatör Ligandı, OPG: Osteoprotegerin, S1P: Sphingosine-1-fosfat, TRACP-5b: Tartarat dirençli asit fosfataz 5b, CTX-1:C terminal telopeptit-1, NTX-1: N terminal telopaptit-1, DKK-1: Dickkopf-1, FGF-23: Fibroblast growth faktör 23, MKH: Mezenkimal Kök Hücre

2.1. Kemik yapım belirteçleri:

2.1.1. Total ve kemik spesifik alkalen fosfataz: Serum ALP düzeyi, kemik oluşumunun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan biyokimyasal bir göstergedir (46). Farklı organlardan salınan çeşitli izoformlar, genetik kökenlerine göre sınıflandırılır; bunlar arasında bağırsak, plasenta ve kemik-karaciğer-böbrek kaynaklı izoenzim türleri yer almaktadır. Kemik ve karaciğer kökenli izoenzimler, aynı gen ürünü olmalarına rağmen, dokuya özgü glikozilasyon paternleri gibi yapısal farklılıklar taşır. Bu yapısal çeşitlilik, izoenzimlerin klinik olarak ayırt edilmesini mümkün kılar (47). Karaciğer fonksiyonlarının normal olduğu hastalarda, ALP kemik yapımı icin iyi bir biyobelirteçtir. Fakat karaciğer hastalığı olan hastalarda, kemik ALP ölçümü total ALP ölçümüne göre daha iyi bir biyobelirteçtir (48). Kemik spesifik alkalen fosfataz (kALP) osteoblasta özgüdür, serumda kALP aktivitesi kemik mineralizasyonunun ve kemik formasyonunun biyobelirtecidir (49).

2.1.2. Osteokalsin: Osteokalsin (OC), kemik gamma-karboksiglutamik asit içeren protein olarak da bilinir ve 49 amino asitten oluşan küçük bir proteindir. OC, olgun osteoblastlar, odontoblastlar ve hipertrofik kondrositler tarafından

sentezlenir. Ayrıca osteokalsin, kemikteki en bol bulunan kolajen dışı proteindir ve insan vücudundaki toplam proteinin yaklaşık %2'sini oluşturur. Serum osteokalsini osteoblastik aktivitenin spesifik bir göstergesidir ve osteoblastlar tarafından üretilen OC, metabolik düzenleme, kemik mineralizasyonu ve kalsiyum iyonu dengesinin korunmasında önemli bir rol oynar (50). Araştırmalar, osteoporoz tedavisinde kullanılan kemik oluşum ilaçlarına yanıt olarak serum OC düzeyinin artışının kemik mineral yoğunluğundaki (KMY) artışla yüksek oranda ilişkili olduğunu göstermiştir. Serum osteokalsini yaşa bağlı olan ve menopozdan sonra kemik dönüşümündeki osteoblast fonksiyonunun değerlendirilmesinde ve osteoporozda kemik oluşum hızının ölçülmesinde spesifik bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (51).

2.1.3. Prokollajen tip I karboksi ve amino-terminal propeptit: Tip 1 kollajen, iskelet sisteminde bulunan başlıca yapısal proteindir ve kemik dokusunun organik matriksinin yaklaşık %90'ını oluşturur. Tip 1 prokollajen osteoblastlar tarafından salgılanır ve kollajenin öncü molekülüdür. Tip 1 kollajene dönüşüm sırasında prokollajen tip 1 'in karboksi ve aminoterminal uzama uçlarından hücre dışındaki özel bir endoproteinaz ile ayrılma gercekleşir. Prokollajen tip I karboksi ve prokollajen tip I amino-terminal propeptit (PICP ve PINP) oluşup dolaşıma geçer ve bu peptitler Tip I kollajenin üretim hızının ve kemik formasyonunun biyobelirteci olarak kabul edilir (52).

2.1.4. Osteoprotegerin: Latince kökenli olan "osteoprotegrin (OPG)" terimi, kelime anlamı olarak "kemik koruyucu" olup, işleviyle örtüşmektedir (17). Kemik metabolizmasının en önemli temel düzenleyici mekanizmaları arasında Wnt/β-katenin sinyal yolu ile osteoprotegerin/nükleer faktör kappa B reseptör aktivatör ligandı (OPG/RANKL) sistemi yer almakta olup, bu yollar osteoblast ve osteoklast fonksiyonlarının denetiminde kritik rol oynamaktadır (17). Wnt yolağındaki anahtar antagonistlerin sklerostin ve Dickkopf-1 (DKK-1) olduğundan bahsetmiştik. OPG/RANKL yolağında ise OPG kemik yıkımının önemli mediatörü olan RANKL'a bağlanarak tuzak reseptör benzeri fonksiyon göstererek ve Nükleer Faktör Kappa B Reseptör Aktivatörüne (RANK) bağlanmasını engelleyip osteoklast oluşumunu ve aktivasyonunu durduruyor ve böylece kemik yıkımını engellemiş oluyor (53). Osteoklast farklılaşmasını baskılayan bu molekül, kemik rezorpsiyonunu azaltıcı etkisi

nedeniyle osteoporoz tedavisinde potansiyel bir hedef olarak değerlendirilmekte ve bu doğrultuda günümüzde çok sayıda araştırma yürütülmektedir (17).

2.2. Kemik yıkım belirteçleri:

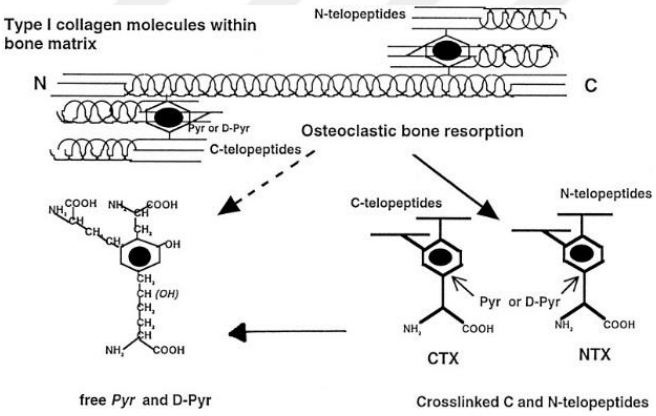
2.2.1. Hidroksiprolin: Kollajen, yapısında yüksek oranda prolin içeren bir protein olup, bu özelliği fibriler formunun stabilitesinde önemli rol oynar. Kollajen yıkımı sırasında serbest hale geçen hidroksiprolin, özellikle olgun moleküllerin %12-14'ünü oluşturan temel aminoasitlerden biridir. Dolaşıma katılan hidroksiprolinin büyük bir kısmı kemik dokusundan köken alırken, kompleman sistemi bileşenlerinden C1q da anlamlı düzeyde bu aminoasiti içerir. İdrar ile atılan hidroksiprolin düzeyi, kemik rezorpsiyonunun izlenmesinde kullanılan belirteçlerden biri olmakla birlikte, yeni sentezlenen kollajen, immün sistem proteinleri, beslenme ve bağ dokusu kaynaklarından da etkilenebildiği için, günümüzde bu parametre spesifik olmayan, sınırlı özgüllüğe sahip bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (54)(55).

2.2.2. Piridinolin ve deoksipiridinolin: Piridinolin ve deoksipiridinolin, fibriler kollajenin ekstrasellüler maturasyonu sırasında çapraz bağ yapıları olarak oluşur ve kollajen yıkımıyla ile serbestleşir. Bu iki çapraz bağ, osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonu sırasında açığa çıkarak idrarla atılır ve bu yönüyle kemik yıkımının izlenmesinde değerli biyokimyasal göstergelerdir. İdrarda kalsiyum ya da hidroksiprolin düzeylerine göre daha duyarlı parametrelerdir. Piridinolin; kıkırdak, bağ dokusu ve vasküler yapılarda bulunabilirken, deoksipiridinolin esas olarak kemik ve dentin kaynaklıdır. Deoksipiridinolin, kemik dokusunun yıkım belirteci olarak yüksek özgüllüğü sahiptir (56) (57).

2.2.3. Tartarat dirençli asid fosfataz: Tartarat dirençli asid fosfataz (TRACP) kemik yıkımı sırasında osteoklastlardan salınan bir enzimdir. Tartarat dirençli asid fosfataz TRACP-5a ve 5b olmak üzere iki alt forma sahiptir. Sadece TRACP 5b karakteristik olarak osteoklastlara özgüdür (58).

2.2.4. Tip 1 Kollajen N- Telopeptid (NTx) ve Tip 1 Kollajen C-Telopeptid (CTx): Kemik dokusunun ana yapısal protein olan Tip 1 Kollajen moleküllerinin arasında çapraz bağlar vardır ve bu bağlar kemik dokusuna dayanıklılık kazandırır. Bu bağlar, Tip 1 kollajenin aminoterminal ucuyla diğer kollajen zincirlerinde bulunan pridinolin yapıları arasında gerçekleşir. Kemik rezorpsiyonu esnasında, çapraz bağ içeren kollajen bölgeleri parçalanarak amino- ve

karboksiterminal telopeptid fragmanları dolaşıma salınır ve ardından idrarla vücuttan atılır (59) (Şekil 4).N-terminal çapraz bağlı telopeptid (NTx), Tip I kollajenin N-terminal telopeptid bölgesi ile diğer kollajen molekülünün α-heliks bölgesi arasında oluşan çapraz bağlanmış telopeptit yapıdır. C-telopeptidlere göre deoksipiridinyum içeriği açısından daha zengindir. Farklı dokulardaki kollajen tiplerine göre özgün peptid dizilimleri içerdiğinden, kemik doku kollajenine özgüllük gösterir. NTx düzeyleri idrar ve serumda ölçülebilir (60)(61).Tip I kollajenin karboksi terminal telopeptid bölgesinde yer alan iki α-zinciri ile başka bir kollajen molekülünün α1 veya α2 zinciri arasında oluşan çapraz bağ ise C-terminal çapraz bağlı telopeptid (CTx). Diğer dokulardaki Tip I kollajende tespit edilememesi nedeniyle kemik dokusuna özgüllük gösterir. Serum NTx ve CTx seviyeleri diürnal varyasyon gösterir; sabaha karşı en yüksek, öğleden sonra ise en düşük seviyelerdedir(yaklaşık % 20) (61). İdrar veya serumda NTx ve CTx immunassay yöntemi ile ölçülürler. Otomatik sCTX testi, basit uygulanabilirliği daha üstün preanalitik özellikleri ve yüksek hacimli laboratuvarlarda güçlü analitik performans sağlaması nedeniyle uNTX testine tercih ediliyor (61) (62).



Şekil 4. Kemik yıkımında tip 1 kollajen parçalanması; CTX ve NTX salınımı(65).

2.2.5. Sklerostin: Osteositler tarafından salgılanan sklerostin SOST geni ile kodlanır. Sklerostin, lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein 5 (LRP5) ve LRP6 'yı bağlanarak WNT sinyal yolunu inhibe eder ve yeni kemik oluşumunu engeller. Ayrıca osteosit kaynaklı RANKL sekresyonunu artırarak osteoklast aktivitesini de etkinleştirir (63,64).

ADRENOMEDÜLLİN

Adrenomedüllin (ADM), ilk kez 1993 yılında Japon araştırmacılar tarafından feokromositomalı bir hastanın tümör dokusundan izole edilmiştir. Adını da adrenal

medullada keşfedilmesinden alan, 52 amino asit uzunluğunda bir peptid hormondur (7). ADM mRNA'sının ekspresyonu en yoğun biçimde adrenal medüllada gözlemlenmektedir; bunun yanında vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde, kardiyak miyositlerde; böbreğin distal ve toplayıcı tübül bölgelerinde; sindirim sisteminin hem mukozal hem de bez epitellerinde; solunum ve üreme sistemlerinin epitel dokularında; ayrıca endokrin ve nöroendokrin yapılarda, hipotalamustaki supraoptik ve paraventriküler nükleusun magnoselüler bölgesinde; kanda, idrarda, serebrospinal sıvı ve amniyon sıvısında tespiti yapılmıştır (65).Adrenal medulladan adrenomedullin (ADM) salınımı, kolinerjik uyarının ardından katekolaminlerle eş zamanlı olarak, birlikte salınım (ko-sekresyon**)** şeklinde gerçekleşir. Peptid yapısındaki birçok molekülden farklı biçimde ADM, sentezlendiği dokuda depolanmaz; yalnızca pankreatik endokrin hücrelerde kısmi depolanma gözlenir. Üretimin hemen sonrasında dolaşım sistemine salınarak etkilerini gösterir. (66).Adrenal medullada saptanan yüksek ADM konsantrasyonu, başlangıçta dolaşımdaki ADM'nin başlıca kaynağının bu bölge olduğunu düşündürmüştür. Ancak yapılan sonraki çalışmalar, dolaşımdaki ADM düzeylerinin esas olarak damar endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilen sentez ve salınımdan kaynaklandığını ortaya koymuştur.

İnsan plazmasındaki adrenomedullin (ADM) düzeyi genellikle 2–10 pM (pikomol) aralığında bulunur. (66).Vücutta bilinen en güçlü vazodilatör hormonlardan biri olan Kalsitonin Geni İlişkili Peptid (CGRP) ile %20 yapısal benzerlik göstermesi sebebiyle, adrenomedüllinin de benzer şekilde güçlü vazodilatör özellik taşıdığı hipotezi ortaya atılmış ve bu etki ilk deneylerle doğrulanmıştır (8). Kalsitonin gen ailesindeki kalsitonin, CGRP ve amilin ile ADM'nin çok benzer yapısı olduğu bulunmuştur. Hücrelerde 'kalsitonin benzeri reseptör' (calcitonin receptor-like receptor - CLR) üzerinden, CGRP ve adrenomedüllinin hücre içi c-AMP düzeyine etkileri bulunmuştur (67).Bu bilgiler doğrultusunda Adrenomedüllinin de kalsitonin benzeri kemik dokusu üzerine etkili olabileceği düşünülmüş ve etki mekanizması incelendiğinde, ilk yapılan araştırmalarda aynı reseptörü paylaşan bu hormonların reseptöre, reseptör aktivitesi modifiye edici protein (RAMP) üzerinden ne zaman ve nerede etki edeceği bilgisi sağlanmakta olduğu; RAMP1 proteini reseptör ile birleştiğinde, reseptör öncelikle CGRP ile aktive olmakta, RAMP2 ve 3 proteinleri ise reseptörü adrenomedülline daha spesifik hale getirdiği düşünülmekteydi (68). İleri

araştırmalarda aslında adrenomedullinin bağlandığı reseptörün CLR ailesine ait AM1 ve AM2 ve RAMP ligandlarının kombinasyonu ile oluşan bir reseptör ailesi olduğu anlaşıldı(69). Ayrıca, kalsitonin reseptörü (CTR), AM1-2 ve RAMP1-2-3 reseptörlerinin kombinasyonları ile tüm kalsitonin ailesine ait peptid hormonlar hücre zarında kendine ait reseptörde, reseptör aktivasyonu gerçekleştirebilmektedir (70). Adrenomedüllinin osteoklast ve osteoblast farklılaşmasını, nüklear-kβ üzerinden hücre nükleusundaki etkisiyle sağladığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır (71).İlerleyen yıllarda, bu peptid grubunun çok çeşitli dokularda biyolojik etkiler göstermesi, adrenomedullin hakkında yapılan çalışmaları hızlandırmış ve adrenomedullinin vasküler sistem, retina, over, kemik dokusu ve diğer birçok dokuda fizyolojik roller üstlendiği ortaya konmuştur (72). Yeni Zelanda'dan Cornish ve çalışma arkadaşları adrenomedullinin kemik dokusu ve özellikle osteoblast aktivitesi üzerindeki etkilerini en ayrıntılı şekilde inceleyen araştırmaları vardır. 1997 yılında gerçekleştirdikleri çalışmayla, çeşitli adrenomedullin fragmanlarının ve amilinin in vitro ortamda osteoblastlara proliferatif etkili ve in vivo olarak da kemik yoğunluğunu artırtığı gösterildi (73).Başka bir çalışmada da adrenomedüllinin (22-55) fragmanı, yapay artrit oluşturulan farelerde inflamasyon oluşumunu baskıladığı görülmüştür. Ayrıca sistemik kemik yıkımını durdurmuş ve anti-inflamatuar bir karakter sergilemiştir (74).

Cornish ve ekibi, 1-22 ile 1-27 numaralı fragmanların, adrenomedullin molekülüne vasküler dokuda CGRP reseptörlerini etkinleştirebilmesi için gerekli halkasal yapıyı sağladığını; buna karşılık, osteoblast hücrelerinde yer alan reseptörlerin bu yapısal bütünlüğe gerek duymaksızın aktive olabildiğini göstermiştir (75).Cornish ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir başka çalışmada, belirli aralıklarla adrenomedullin 27-52 uygulanan fare grubunda, plasebo ile tedavi edilen kontrol grubuna kıyasla kemik mineral yoğunluğunda anlamlı bir artış saptanmıştır (10).

Yapılan araştırmalar sonucunda adrenomedullinin, kemikteki bu anabolik işlevinin osteoporoz tedavisi amacıyla kullanılabileceği düşüncesi ile alınan patentler olsa da henüz osteoporoz tedavisinde kullanımı mevcut değil. Adrenomedüllinin kullanımı mevcut osteoporoz ilaclarından farklı olarak lokal ve sistemik yan etkiler olmadan oldukça spesifik bir osteoblast proliferatif ajan olarak kullanma fikri daga fazla araştırmaya ihtiyaç duymaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

ETİK KURUL ONAYI

Kesitsel klinik çalışma olarak planlanan çalışma için etik kurul onayı, 16/05/2023 tarihi ve 3939 sayı ile SBÜ Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi (EAH) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı. (Bkz. EK.2)

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili herhangi bir kurum, kuruluş veya kişi ile çıkar çatışması olmadığını beyan ederiz. Bu çalışma için herhangi bir kurum ve özel projeden mali destek alınmamıştır.

HASTA SEÇİMİ

Tek merkezli kesitsel klinik çalışma olarak planlanan çalışmada, Mayıs 2023-Kasım 2023 tarihleri arasında hastanemizin Seyrantepe Hamidiye Etfal EAH'si Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon polikliniğine başvuran çalışma kriterlerine uygun 40 yaş üstü postmenopozal 180 kadın hasta araştırmaya dahil edildi. Çalışma kapsamında 2 grup oluşturuldu bunlar,

1. Grup: Osteoporozu (OP) olan hastalar (n=90).
2. Grup: Kontrol grubu (n=90)

OP grubu, Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına uygun olarak; L1–L4 omurga bölgesi, femur boynu ya da total femur bölgelerinden en az birinde ölçülen T skoru –2.5 standart sapma veya daha düşük olan ve osteoporoz için medikal tedavi almayan bireylerden oluşturulmuştur.

Kontrol grubu ise, osteoporoz tanısı almamış, normal kemik mineral yoğunluğuna sahip bireylerden seçilmiştir.

Çalışma İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu ve Helsinki Deklarasyonu ilkelerine uygun olarak yapıldı. Tüm hastalar bilgilendirildi ve aydınlatılmış onamları alındı. DEXA sonuçlarına göre seçilen katılımcıların serum ve plazma örnekleri kullanıldı (1 tüp sarı kapaklı Jel sepetörlü ve 1 tüp mor kapaklı K3-EDTA'lı olacak şekilde). Numuneler 8 saatlik açlıktan sonra sabah 8:00-10:00 saatlerinde toplandı.Kan örnekleri 20 dakika 2000 devir/dakika (rpm) hızında santrifüj edilerek elde edilen serum ve plazmalar eppendorflara porsiyonlanarak -80 ºC'de çalışma gününe kadar depolandı. Hastaların demografik, klinik özellikleri, DEXA sonuçları, serum kreatinin,

üre, ürik asit, ALP, kalsiyum, paratiroid hormon, TSH, T_3, kortizol ve D vitamini düzeyleri not alındı.

Çalışmaya Kabul Kriterleri

- Osteoporoz tanılı olması
- 40 yaş ve üzeri

Çalışma Red Kriterleri

- 40 yaş altı olma
- Gebelik
- Malignite
- Morbid obezite
- D vitamini eksikliği
- Tiroid paratiroid hastalıkları
- Adrenal bez hastalıkları
- Sekonder osteoporoz sebepleri (Ciddi kardiyovasküler ve renal hastalıklar)

LABORATUVAR ANALİZİ

Serum Ca^{+2} düzeyleri RocheCobas 8000 cihazında kolorimetrik end-point yöntemiyle, serum kreatinin, üre, ürik asit ve ALP ise kinetik enzimatik kolorimetrik yöntemiyle ölçüldü. Serum PTH, TSH, T3, kortizol ve D vitamini düzeyleri de Roche Cobas e modülünde kemilüminesans yöntemiyle ölçüldü. ADM, CTX-1, OPG, Sklerostin ,osteokalsin ve TNF-α satın alınan ticari kitler kullanılarak; ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi ile BioTek® ELx800 cihazında ölçüldü.

ELISA Çalışması

1. İnsan adrenomedüllin (ADM) ELISA kiti ölçüm prensibi: Serum ADM düzeyleri SunRed 201-12-1025 katalog nolu insan adrenomedullin ELISA kiti (96 Test) ile ölçüldü.

Kit, örneklerdeki İnsan adrenomedullin düzeyini belirlemek için çift antikorlu sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan adrenomedullin monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış enzim kuyularına, 50 µl standartlar ve 40 µl örnek eklenir. Daha sonra 10 µl biyotin ile işaretli ADM-antikor ve 50 µl Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ekleniyor ve 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Yıkama işlemleri yapılarak bağlanmamış enzim uzaklaştırılır. Daha sonra her kuyuya 50 µl

kromojen çözelti A ve B ekleniyor; asidik stop solüsyonu ekledikten sonra mavi rengin sarıya dönüşümünün 450 nm'deki absorbansı numunedeki insan adrenomedullin (ADM) konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Bu test, ADM (adrenomedullin) tespiti için yüksek hassasiyet ve mükemmel spesifikliğe sahiptir. Kitin saptama sınırı (hassasiyet) 5.118 ng/L, ölçüm aralığı 7 ng/L → 1500 ng/L.

2. İnsan tip 1 kollajen c-terminal telopeptid (CTX-1) ELISA kiti ölçüm prensibi: Serum CTX-1 düzeyleri SunRed 201-12-1350 katalog nolu İnsan Tip 1 Kollajen C-terminal telopeptid (CTX-1) ELISA kiti (96 Test) ile ölçüldü.

Kit, örneklerdeki İnsan CTX-1 seviyesini belirlemek için çift antikorlu sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan CTX-1 monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış enzim kuyularına, 50 µl standartlar ve 40 µl örnek eklenir. Daha sonra 10 µl biyotin ile işaretli CTX-1antikor ve 50 µl Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ekleniyor ve 37 ℃'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Yıkama işlemleri yapılarak bağlanmamış enzim uzaklaştırılır. Daha sonra her kuyuya 50 µl kromojen çözelti A ve B ekleniyor; asidik stop solüsyonu ekledikten sonra mavi rengin sarıya dönüşümünün 450 nm'deki absorbansı numunedeki insan CTX-1 konsantrasyonu doğru orantılıdır. Kitin saptama sınırı (hassasiyet) 0.432 ng/ml, ölçüm aralığı 0.5 ng/ml → 150 ng/ml.

3. İnsan osteokalsin/kemik gla proteini (OT/BGP) ELISA kiti ölçüm prensibi: Serum OT düzeyleri SunRed 201-12-1556 katalog nolu İnsan Osteokalsin/Kemik Gla proteini (OT/BGP) ELISA kiti (96 Test) ile ölçüldü.

Kit, örneklerdeki İnsan OT seviyesini belirlemek için çift antikorlu sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan OT monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış enzim kuyularına, 50 µl standartlar ve 40 µl örnek eklenir. Daha sonra 10 µl biyotin ile işaretli OT-antikor ve 50 µl Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ekleniyor ve 37 ℃'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Yıkama işlemleri yapılarak bağlanmamış enzim uzaklaştırılır. Daha sonra her kuyuya 50 µl kromojen çözelti A ve B ekleniyor; asidik stop solüsyonu ekledikten sonra mavi rengin sarıya dönüşümünün 450 nm'deki absorbansı numunedeki insan OT konsantrasyonu doğru orantılıdır. Kitin saptama sınırı (hassasiyet) 0.458 ng/ml, ölçüm aralığı 0.5 ng/ml → 150 ng/ml.

4. İnsan osteoprotegerin(OPG) ELISA kiti ölçüm prensibi: Serum OPG düzeyleri SunRed 201-12-1559 katalog nolu İnsan OPG proteini ELISA kiti (96 Test) ile ölçüldü.

Kit, örneklerdeki İnsan OPG seviyesini belirlemek için çift antikorlu sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan OPG monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış enzim kuyularına, 50 µl standartlar ve 40 µl örnek eklenir. Daha sonra 10 µl biyotin ile işaretli OPG-antikor ve 50 µl Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ekleniyor ve 37 ℃'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Yıkama işlemleri yapılarak bağlanmamış enzim uzaklaştırılır. Daha sonra her kuyuya 50 µl kromojen çözelti A ve B ekleniyor; asidik stop solüsyonu ekledikten sonra mavi rengin sarıya dönüşümünün 450 nm'deki absorbansı numunedeki insan OPG konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Bu test, OPG tespiti için yüksek hassasiyet ve mükemmel spesifikliğe sahiptir. Kitin saptama sınırı 2.044ng/L, ölçüm aralığı 2.5ng/L→720ng/L.

5. İnsan sklerostin (SOST) ELISA kiti ölçüm prensibi: Serum sklerostin düzeyleri SunRed 201-12-5418 katalog nolu İnsan Sklerostin (SOST) proteini ELISA kiti (96 Test) ile ölçüldü.

Kit, örneklerdeki insan sklerostin seviyesini belirlemek için çift antikorlu sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan sklerostin monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış enzim kuyularına, 50 µl standartlar ve 40 µl örnek eklenir. Daha sonra 10 µl biyotin ile işaretli sklerostin antikor ve 50 µl Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ekleniyor ve 37 ℃'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Yıkama işlemleri yapılarak bağlanmamış enzim uzaklaştırılır. Daha sonra her kuyuya 50 µl kromojen çözelti A ve B ekleniyor; asidik stop solüsyonu ekledikten sonra mavi rengin sarıya dönüşümünün 450 nm'deki absorbansı numunedeki insan sklerostin konsantrasyonu doğru orantılıdır. Kitin saptama sınırı 0.175 ng/ml, ölçüm aralığı 0.2 ng/ml → 60 ng/ml.

6. İnsan tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-α) ELISA kiti ölçüm prensibi: Serum TNF-α düzeyini, SunRed 201-12-0083 katalog nolu insan TNF-α proteini ELISA kiti (96 Test) ile ölçüldü.

Kit, örneklerdeki insan TNF-α seviyesini belirlemek için çift antikorlu sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan TNF-α monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış enzim kuyularına, 50 µl standartlar ve 40 µl örnek eklenir. Daha sonra 10

µl biyotin ile işaretli TNF-α antikor ve 50 µl Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ekleniyor ve 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Yıkama işlemleri yapılarak bağlanmamış enzim uzaklaştırılır. Daha sonra her kuyuya 50 µl kromojen çözelti A ve B ekleniyor; asidik stop solüsyonu ekledikten sonra mavi rengin sarıya dönüşümünün 450 nm'deki absorbansı numunedeki insan TNF-α konsantrasyonu doğru orantılıdır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma verilerinin istatistiksel analizleri için SPSS-Statistic Software (IBM-Corp., V-27, Chicago, USA) programı kullanıldı. Verilerin Gaussian dağılım (normal dağılım) gösterip göstermediğini değerlendirmek için Kolmogorov Smirnov testi uygulandı. Nominal veya ordinal ölçekli nitel (kategorik) verilerin istatistiksel analizinde chi-square testi kullanıldı. İki bağımsız gruptan oluşan parametrik verilerin analizinde Unpaired-t testi uygulandı. Gaussian (normal) dağılım göstermeyen bağımsız iki grubun verilerin karşılaştırılmasında non-parametrik analiz metodu olan Mann-Whitney testi uygulandı. Bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde, parametrik veriler için Pearson-korrelasyon (r) ve nonparametrik veriler için Spearman-korelasyon (rs) analizi kullanıldı. Osteoporoz ve/veya osteopeni durumunu tahmin etmek için osteoporoz ve/veya osteopeni oluşumu üzerine etkisi olduğu düşünülen serum PTH, TSH, T3, kortizol, D vit, Ca, ADM, OPG, OTC, CTX-1, SOST ve TNF-α'dan oluşan bağımsız değişkenler kullanılarak Binary regresyon analizi yapıldı. Yapılan Binary regresyon analizinde bağımsız değişkenlerin, bağımlı değişken üzerindeki etkisini belirlemek için β katsayısından faydalanıldı. Osteoporoz tanısında lojistik regresyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan T3, Kortizol, Ca, ADM, OPG ve CTX-1 biyobelirteçlerin tanısal performansını değerlendirmek amacıyla ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi yapıldı.

Bağımlı bağımsız değişkenler açısından gruplar arasındaki farklılıkların görselleştirilmesi amacıyla Boxplot-kutu grafiği ve Bar-Chart grafiği kullanıldı.

ÇALIŞMANIN POWER ANALİZİ

Tam olarak karşılamasa da çalışmamıza benzer literatürün bulgularına dayanan power analiz sonuçları aşağıda verildiği gibidir:

Ishimitsu ve ark. (76), tarafından hipertansiyon ve böbrek yetmezliği olan hastalarda plazma ADM düzeylerinin kontrol grubuna karşı kıyaslandığı çalışmanın

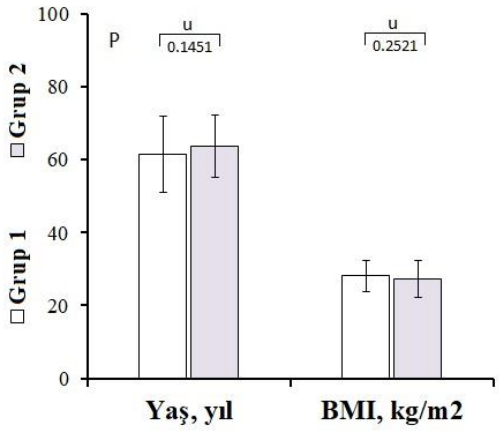
verilerine dayalı a priori güç analizine göre, ADM'nin değerlendirilebilmesi için çalışma gruplarının en az 4 kişiden oluşturulması gerekmektedir (PS - Power and Sample Size Program, Version 3.0, January 2009: α=0.05, güç=0.90).

G*Power yazılımı kullanılarak (iki bağımsız grubun ortalamaları arasındaki fark için t-testi) çift kuyruklu test varsayımıyla, %90 güç ve α=0.05 anlamlılık düzeyinde, d=0.5 etki büyüklüğü esas alınarak yapılan analiz sonucunda, her bir karşılaştırma grubu için en az 86 denek olması gerektiği saptanmıştır. Çalışmanın planlanan toplam örneklem büyüklüğü üç ana grup için N=180 olarak belirlenmiştir (Grup 1: n=90, Grup 2: n=90).

BULGULAR

KATILIMCILARIN DEMOGRAFIK VE KLINIK ÖZELLIKLERIN KARŞILAŞTIRMASI

Normal veya osteopeni ve osteoporoz tanısı alanlara göre araştırma gruplarının demografik özelliklerinin istatistiksel değerlendirilmesi tablo 4'de verilmiştir. Çalışmaya katılan toplam 180 postmenopozal kadın katılımcının 90'ı kemik rezorbsiyonu açısından normal (n:40) veya osteopeni (n:50) tanısı aldı (grup 1). Geriye kalan 90 katılımcı osteoporoz tanısı aldı (grup 2). Grup 1 katılımcıların ortalama yaşları 61,6±10,5 yıl ve grup 2 katılımcıların ise 63,7±8,5 yıldı. Ortalama BMI sırasıyla 28,2±4,3 ve 27,4±5,1 kg/m^2 idi. Araştırma gruplarının cinsiyet, yaş ve BMI değerleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05) (Şekil 5). Bu nedenle diğer bağımsız değişkenler açısından gruplar arasında saptanan farkların, söz konusu bu üç değişkenden bağımsız olduğu kabul edildi. Osteoporozun önemli bir göstergesi olan ve DEXA ölçümüyle elde edilen L1–L4 T skoru ve femur boyun T (FB-T) skoru açısından Grup 1 ve Grup 2 arasında istatistiksel olarak belirgin fark saptandı (p < 0,0001) (Şekil 6 ve Şekil 7). Kemik rezorbsiyon derecesi (Normal, Osteopeni, Osteoporoz) açısından gruplar arasında da istatistiksel fark vardı (p<0.001) (Şekil 8).

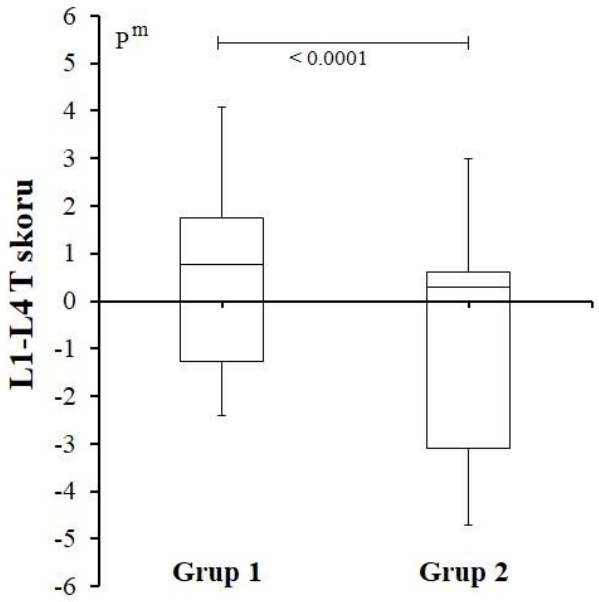


Şekil 5. Çalışma gruplarının yaş ve BMI değerlerini karşılaştıran e box-plot grafiği. Gruplar arasında fark olmadığı görülmektedir. u Unpaired t test

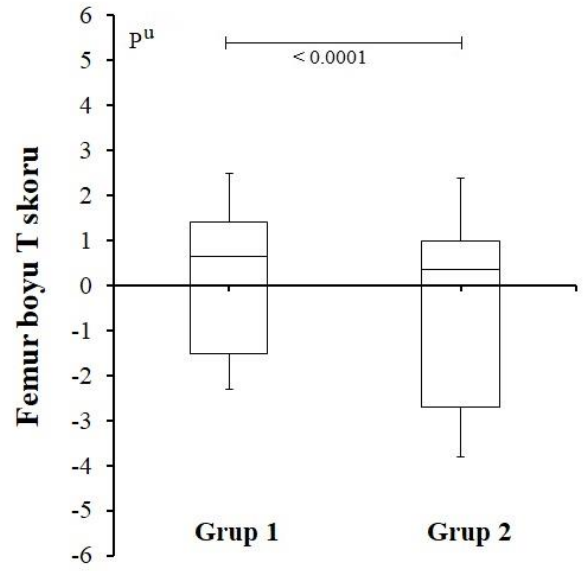
Tablo 4. Normal veya osteopeni ve osteoporoz tanısı alanlara göre oluşturulan çalışma gruplarının demografik ve klinik özellikleri

	Grup 1	**Grup 1**	**p değeri**
n,	90	90	-
Cinsiyet, K (%)	90(%100)	90(%100)	-
Yaş, yıl	61,6±10,5 61(43-81)	63,7±8,5 65(43-81)	u0.1451
BMI, kg/m2	28,2±4,3 27,6(17,9-39,4)	27,4±5,1 26,6(16,8-41,4)	u0.2521
L1-L4 T skoru,	-0,3±1,1 -0,5[(-2,4) - (2,8)]	-2,7±0,8 -2,8[(-4,7) - (0,1)]	m<0.0001
FB-T skoru,	-0,8±0,9 -0,9[(-2,3) - (1,0)]	-2,2±0,8 -2,4[(-3,8) - (-0,3)]	u<0.0001
KRD; N/Ope/Opo, n(%)	40(%44)/50(%56)/0(%0)	0(%0)/0(%0)/90(%100)	c<0.001

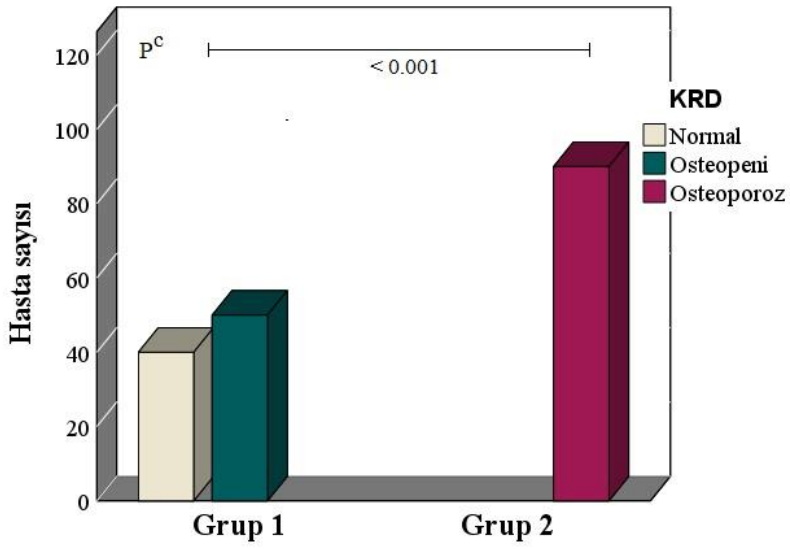
u Unpaired t testi, m Mann-Whitney U Test, c Chi-Square test. İstatistiksel anlamlılık p<0,05 olarak alındı.Tüm veriler ortalama ± SD + ortanca (min - max) olarak verildi. SD: Standart sapma. K: Kadın, BMI: Body Mass Index, L: Lumbal vertebra, Grup 1: Normal veya osteopeni, Grup 2: Osteoporoz, FB-T: Femur boyun T, KRD: Kemik rezorbsiyon derecesi [Normal (N): 0, Osteopeni (OPe) = 1 ve Osteoporoz (OPo): 2]



Şekil 6. Çalışma gruplarının L1-L2 T skoru değerlerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. m Mann-Whitney Test



Şekil 7. Çalışma gruplarının Femur boyun T skoru değerlerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir. u Unpaired t test



Şekil 8. Çalışma gruplarının kemik rezorbsiyon derecesi değerlerini karşılaştıran Bar Chart grafiği. Grup 1 ve grup 2 arasında belirgin fark olduğu görülmektedir. Grup 1'in aksine grup 2 sadece osteoporozu olan vakalardan oluşturulmuştur. c Chi-square test

GRUPLARININ RUTIN BIYOKIMYA SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Çalışma gruplarının rutin biyokimya parametreleri Tablo 5'de verilmiştir. PTH (Şekil 9), kreatinin (Şekil 10), üre (Şekil 11), ürik asit (Şekil 12) ve ALP (Şekil 13) düzeyleri açısından grup 1 ve 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu çalışmada PTH, kreatinin, üre, ürik asit ve ALP düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Bu bulgu, osteoporoz varlığının temel renal fonksiyon veya genel mineral metabolizması parametrelerini doğrudan etkilemediğini düşündürmektedir. Ayrıca, ALP ve PTH değerlerinin benzer olması, kemik turnover veya paratiroid aktivitesinin, osteoporozlu bireylerde büyük farklılık göstermediğine işaret edebilir. Bu nedenle bu parametreler daha fazla tartışılmayacaktır.

Tablo 5. Çalışma gruplarının rutin biyokimya sonuçlarının karşılaştırılması

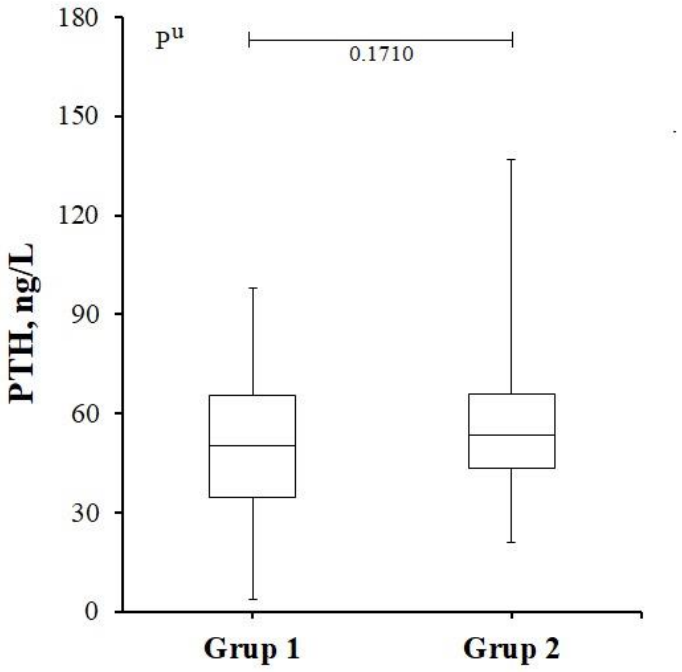
	Grup 1	**Grup 2**	**p değeri**
n	90	90	-
PTH, ng/L	51,6±21,2 50,1(3,7-98,0)	56,1±22,4 53,4(20,8-137)	[u] 0.1710
TSH, mU/L	2,2±1,4 1,9(0,1-8,4)	1,7±1,1 1,5(0,1-6,2)	[u] 0.0122
T3, ng/L	3,2±0,4 3,2(2,3-4,0)	3,0±0,5 3,0(1,4-5,2)	[u] 0.0051
Kortizol, µg/dL	7,8±3,1 7,4(0,5-18,0)	9,3±4,0 8,6(3,0-23,1)	[u] 0.0066
D vit, µg/L	25,8±14,4 24,5(4,5-85,4)	30,3±12,8 30,0(5,9-64,1)	[u] 0.0318
Kreatinin, mg/ dL	0,7±0,1 0,7(0,4-1,4)	0,7±0,2 0,7(0,3-1,6)	[u] 0.1877
Üre, mg/dL	29,6±9,6 28,0(16,0-66,0)	33,3±15,0 31,5(17,0-138,0)	[m] 0.0652
Ürik asit, mg/dL	4,9±1,2 4,7(1,9-8,9)	4,7±1,2 4,5(2,1-7,2)	[u] 0.2974
ALP, U/L	65,5±20,0 62,7(33,3-127)	71,1±31,5 64,3(16,7-247)	[u] 0.1577
Ca, mg/dL	9,4±0,5 9,4(7,7-10,8)	9,7±0,5 9,7(8,3-11,0)	[u] 0.0029

u Unpaired t testi, m Mann-Whitney U Test, c Chi Square test. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak alındı. Tüm veriler ortalama ± SD + ortanca (min - max) olarak verildi. SD: Standart sapma. Grup 1: Normal veya osteopeni, Grup 2: Osteoporoz, PTH: Paratiroid hormonu, TSH: Tiroid stimulan hormon, T3: Triiyodotironin, ALP: Alkalen fosfataz, Ca: Kalsiyum

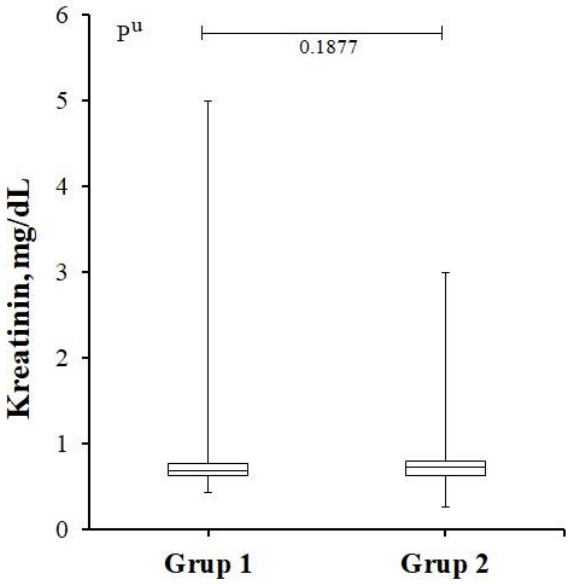
Grup 1 ve grup 2 arasında TSH, T3, Kortizol, D Vit ve Ca düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar vardı. Grup 1 (Normal veya Osteopeni) ve Grup 2 (Osteoporoz) arasında TSH düzeyleri karşılaştırıldığında (Şekil 14), Grup 2'deki TSH ortalamasının (1,7±1,1 mU/L) Grup 1'e göre (2,2±1,4 mU/L) daha düşük olduğu saptandı (p=0,0122). Benzer şekilde, T3 düzeyleri de Grup 2'de (3,0±0,5 ng/L) Grup 1'e göre (3,2±0,4 ng/L) daha düşük bulundu (p=0,0051) (Şekil 15).

Kortizol ve D vitamini düzeylerinde ise tersi bir ilişki gözlenmiştir. Grup 2'deki ortalama Kortizol düzeyi (9,3±4,0 µg/dL) Grup 1'den (7,8±3,1 µg/dL) anlamlı derecede yüksekti (p=0,0066) (Şekil 16). D vitamini düzeyleri de Grup 2'de (30,3±12,8 µg/L) Grup 1'den (25,8±14,4 µg/L) daha yüksek bulundu (p=0,0318) (Şekil 17).

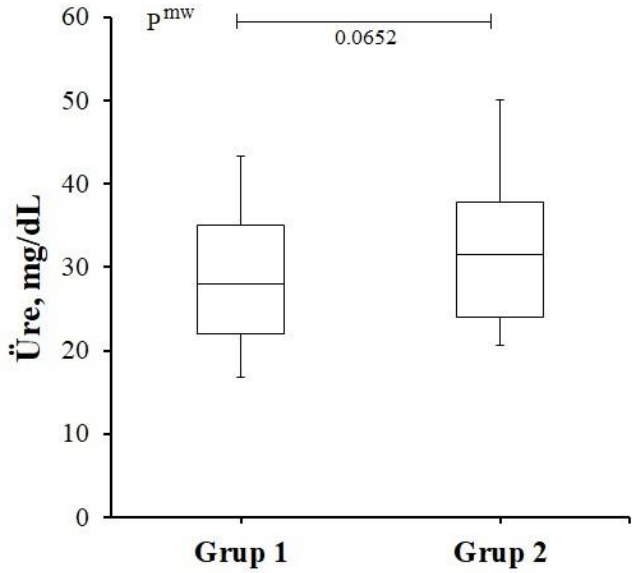
Kalsiyum (Ca) düzeyleri, gruplar arasındaki en dikkat çekici farklılıklardan birini göstermektedir. Osteoporozlu bireylerden oluşan Grup 2'deki ortalama Ca düzeyi (9,7±0,5 mg/dL), normal veya osteopenili bireylerden oluşan Grup 1'e göre (9,4±0,5 mg/dL) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0,0029) (Şekil 18).



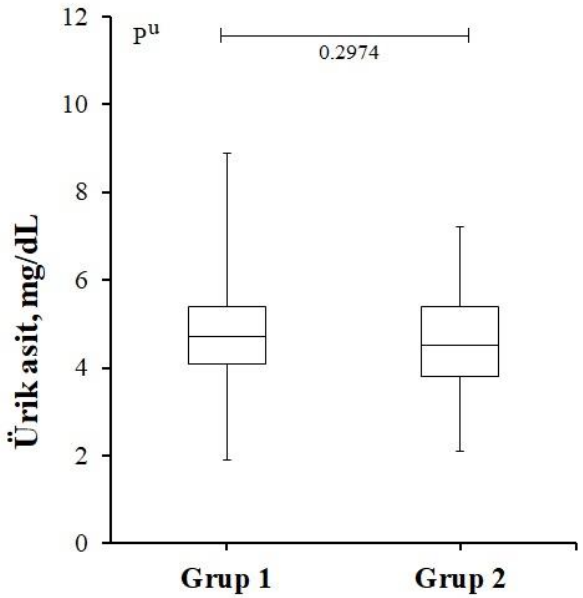
Şekil 9. Çalışma gruplarının PTH düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı görülmektedir. u Unpaired t test



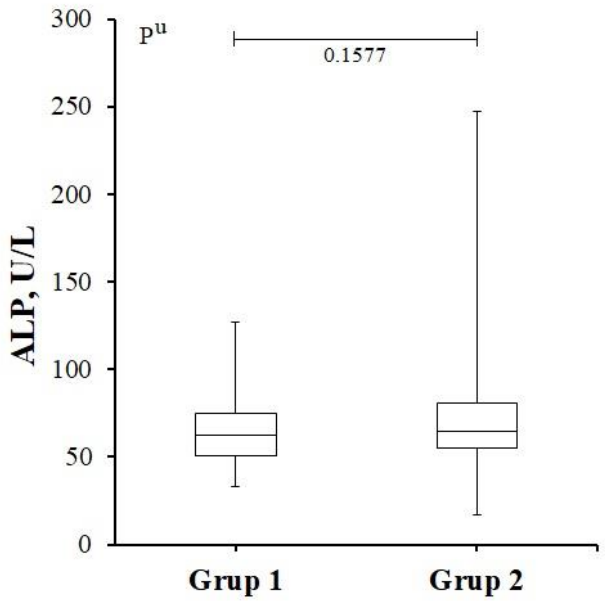
Şekil 10. Çalışma gruplarının kreatinin düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı görülmektedir. u Unpaired t test



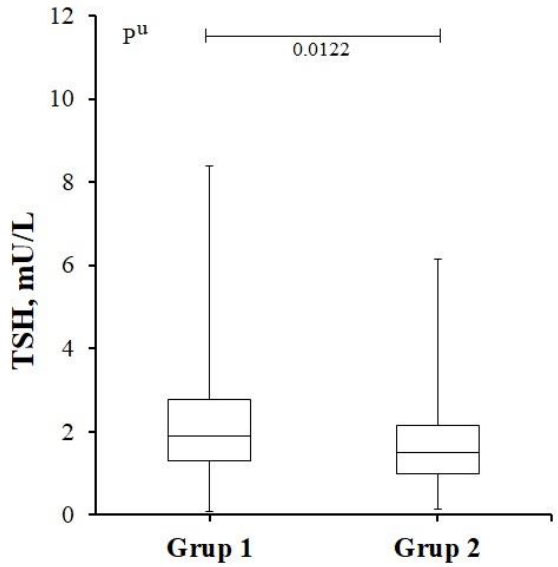
Şekil 5. Çalışma gruplarının üre düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı görülmektedir. m Mann-Whitney Test



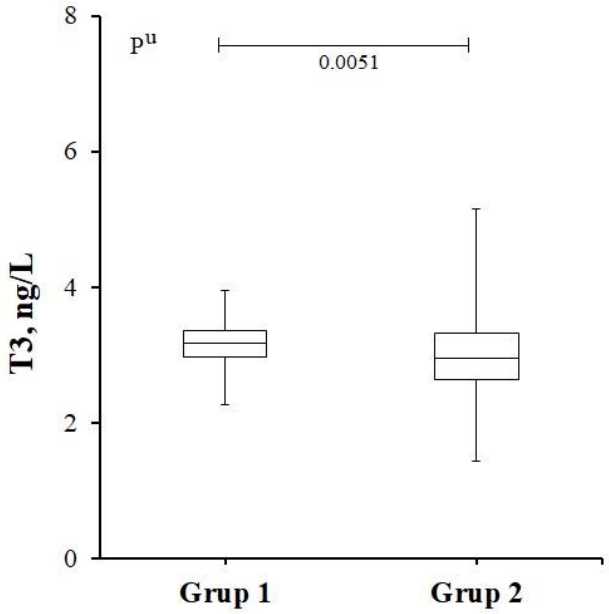
Şekil 6. Çalışma gruplarının ürik asit düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı görülmektedir. u Unpaired t test



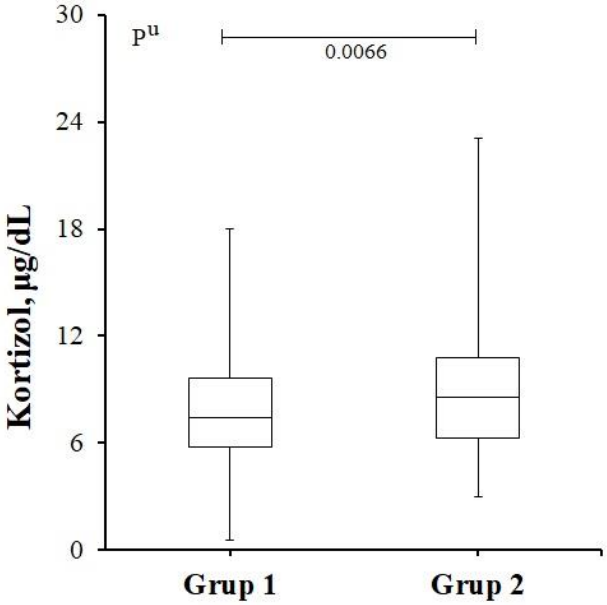
Şekil 7. Çalışma gruplarının ALP düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı görülmektedir. u Unpaired t test



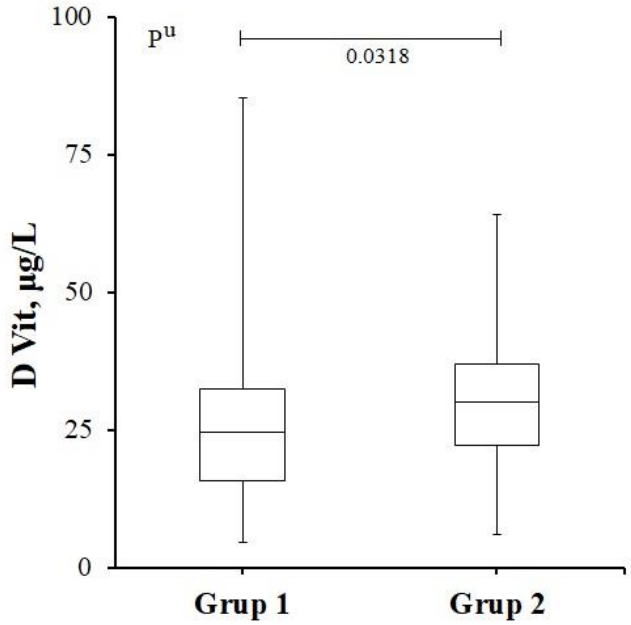
Şekil 8. Çalışma gruplarının TSH düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha düşük olduğu görülmektedir. u Unpaired t test



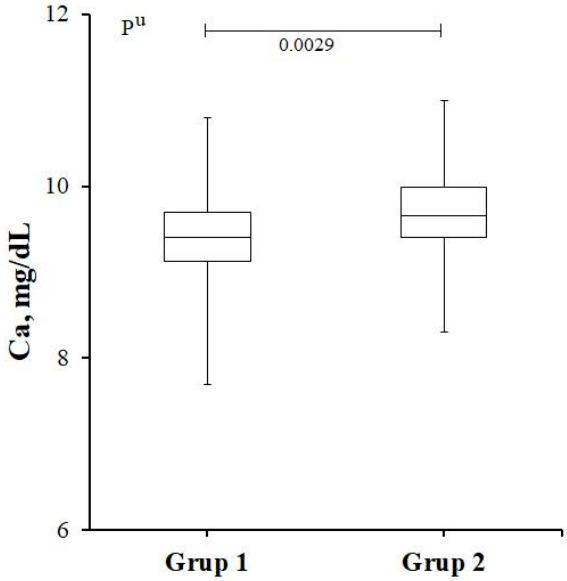
Şekil 9. Çalışma gruplarının T3 düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 1'de düzeylerin daha yüksek olduğu görülmektedir. u Unpaired t test



Şekil 10. Çalışma gruplarının kortizol düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha yüksek olduğu görülmektedir. u Unpaired t test



Şekil 11. Çalışma gruplarının D vit düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha yüksek olduğu görülmektedir. u Unpaired t test



Şekil 12. Çalışma gruplarının Ca düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha yüksek olduğu görülmektedir. u Unpaired t test

KEMİK YAPIM VE YIKIMIYLA İLİŞKİLİ BİYOBELİRTEÇLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

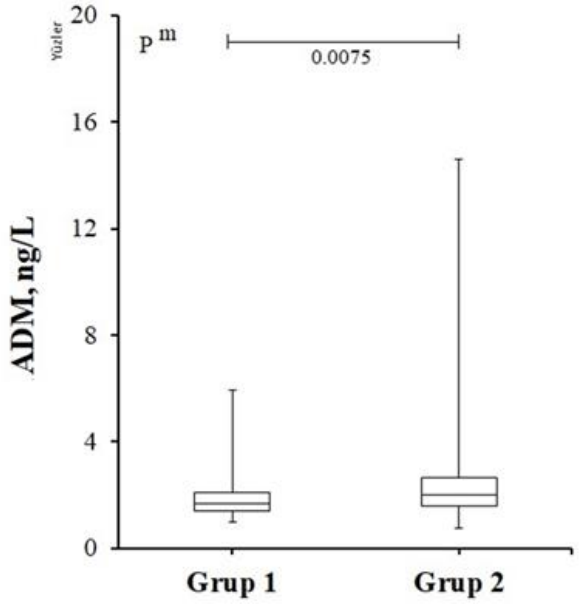
Çalışma gruplarının kemik yapım ve yıkım süreçleriyle ilişkili biyobelirteç düzeyleri Tablo 6'te sunulmuştur. ADM, OPG ve CTX-1 parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Diğer parametreler olan OTC/BGP, SOST ve TNF-α düzeylerinde ise anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p>0.05$).

ADM seviyeleri, osteoporoz tanısı almış bireylerden oluşan Grup 2'de normal veya osteopenili bireylerin yer aldığı Grup 1'e göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptandı [sırasıyla ort±sd. ve ortanca (min-maks): 292±273 ve 201(77-1461) ng/L'e karşı 199±100 ve 166(97-593) ng/L, p=0,0075] (Şekil 19).

OPG (Osteoprotegerin) düzeyleri incelendiğinde ise, Grup 1'deki bireylerin ortalama OPG seviyesi, osteoporozlu Grup 2'deki bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti [sırasıyla ort±sd. ve ortanca (min-maks): 145,5±189,1 ve 89,3(32,4-1347,7) ng/L'e karşı 97,5±70,9 ve 76,7(22,6-439,3) ng/L, p=0,0005] (Şekil 20). Bu, Grup 1'de kemik yıkımını engelleyici bir mekanizmanın daha etkin olduğunu göstermektedir.

Kemik yıkımının en önemli belirteçlerinden biri olan CTX-1, Grup 2'de Grup 1'den çok daha yüksek seviyelerde bulundu ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı [sırasıyla ort±sd. ve ortanca (min-maks): 35,8±28,4 ve 24,7(8,7-133,3) ng/mL'e karşı 19,1±7,7 ve 18,6(2,0-45,8) ng/mL, p<0,0001] (Şekil 21). Bu bulgu, osteoporoz grubunda artmış kemik rezorpsiyonunun doğrudan bir kanıtı niteliğindedir.

Kemik yapım belirteçlerinden OTC/BGP (Şekil 22) ve kemik yapımını baskılayan SOST (Şekil 23) ile inflamatuar bir sitokin olan TNF-α (Şekil 24) düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05). Özetle, ADM ve CTX-1'in osteoporoz grubunda anlamlı derecede yüksek, OPG ise anlamlı derecede düşüktü. Bu sonuçlar, osteoporozun patofizyolojisinde kemik yıkımının baskın bir süreç olduğunu ve bu yıkım sürecine farklı moleküler yolakların dahil olduğunu desteklemekteydi.

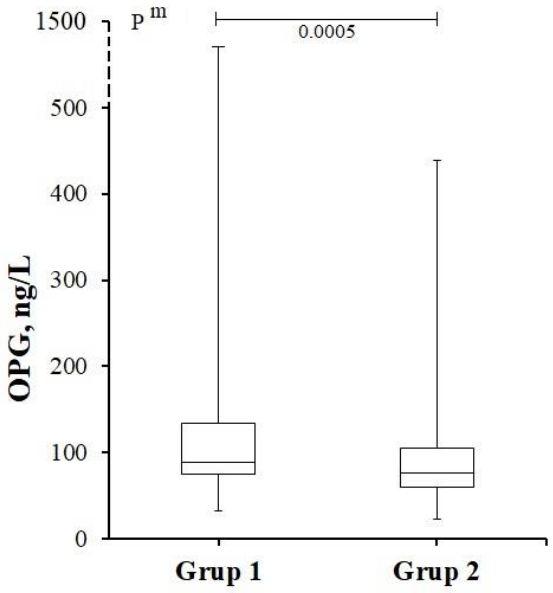


Şekil 13. Çalışma gruplarının ADM düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha yüksek olduğu görülmektedir. m Mann-Whitney Test

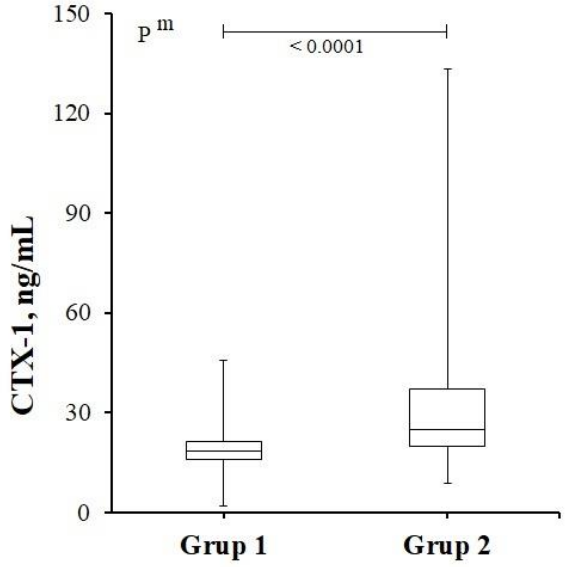
Tablo 6. Çalışma gruplarının kemik yapım ve yıkımında ilişkili biyobelirteçlere ait sonuçlarının karşılaştırılması

	Grup 1	**Grup 2**	**p değeri**
n	90	90	-
ADM, ng/L	199±100 166(97-593)	292±273 201(77-1461)	[m] 0.0075
OPG, ng/L	145,5±189,1 89,3(32,4-1347,7)	97,5±70,9 76,7(22,6-439,3)	[m] 0.0005
OTC/BGP, ng/mL	39,7±92,9 20,5(9,9-804,4)	32,4±31,2 19,1(6,8-151,2)	[m] 0.1593
CTX-1, ng/mL	19,1±7,7 18,6(2,0-45,8)	35,8±28,4 24,7(8,7-133,3)	[m] < 0.0001
SOST, ng/mL	9,6±3,9 8,7(2,5-24,6)	13,8±12,9 8,3(2,6-62,5)	[m] 0.6762
TNF-α, ng/L	393±104 387(193-920)	440±205 370(190-1183)	[m] 0.8101

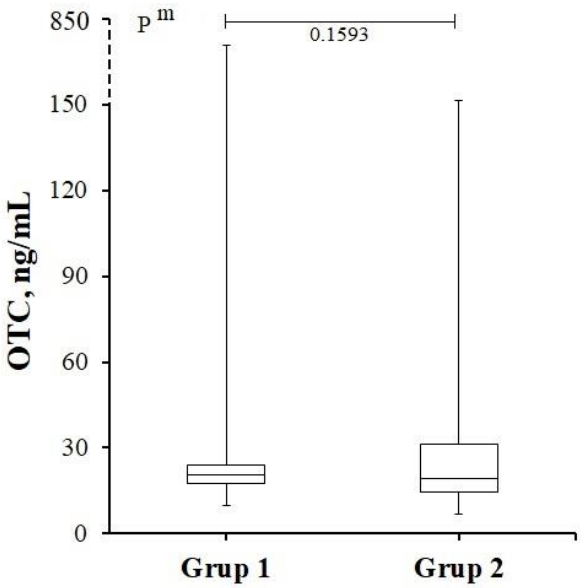
u Unpaired t testi, m Mann-Whitney U Test, c Chi-Square test. İstatistiksel anlamlılık p<0,05 olarak alındı. Tüm veriler ortalama ± SD + ortanca (min - max) olarak verildi. SD: Standart sapma. Grup 1: Normal veya osteopeni, Grup 2: Osteoporoz, ADM: Adrenomedullin, OPG: Osteoprotegerin, OTC/BGP: Osteocalcin (Bone Gla Protein), CTX-1: C-terminal telopeptit tip 1 kollajen, SOST: Sclerostin, TNF-α: Tümör Nekroz Faktörü-alfa



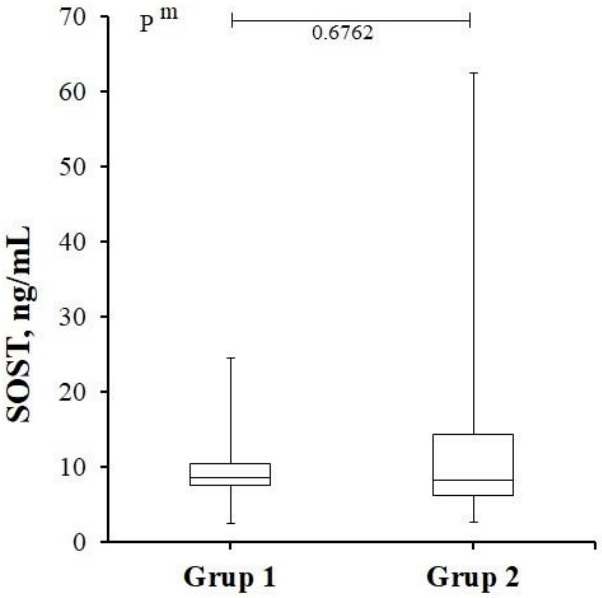
Şekil 14. Çalışma gruplarının OPG düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha düşük olduğu görülmektedir. m Mann-Whitney Test



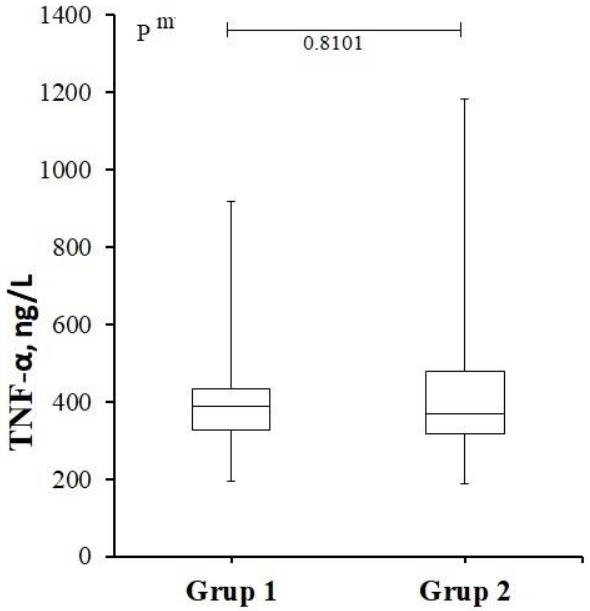
Şekil 15. Çalışma gruplarının CTX-1 düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Grup 2'de düzeylerin daha yüksek olduğu görülmektedir. m Mann-Whitney Test



Şekil 16. Çalışma gruplarının OTC/BGP düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı görülmektedir. m Mann-Whitney Test



Şekil 17. Çalışma gruplarının SOST düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı görülmektedir. m Mann-Whitney Test



Şekil 24. Çalışma gruplarının TNF-α düzeylerini karşılaştıran box-plot grafiği. Gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı görülmektedir. m Mann-Whitney Test

GRUPLARIN BIYOKIMYASAL VE KEMIK PARAMETRELERINE AIT KORELASYON ANALIZLERI

Tüm gruplardan elde edilen veriler kullanılarak yapılan korelasyon matriks analizinde (Tablo 7), ADM değerleri ile CTX-1 ve SOST değerleri arasında sırasıyla orta ve düşük derecede pozitif korelasyon gözlenirken (sırasıyla r=0,527 ve r=0,329), OPG ve OCT/BGP değerleri yüksek derecede pozitif korelasyon vardı (r=0,868). Yine CTX-1 değerleri ile SOST ve TNF-α değerleri arasında düşük derecede pozitif bir korelasyon vardı (sırasıyla r=0,466 ve r=0,377). Bu korelasyonların istatistiksel olarak da anlamlı olup olmadıklarını değerlendirmek için verilerin niteliklerine göre Pearson veya Spearman korelasyon analizleri yapıldı. Bu verilerin r ve p değeri yeniden hesaplandığında; ADM değerleri ile CTX-1 ve SOST değerleri arasında saptanan korelasyonların gerçekte daha düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı [(ADM-CTX-1: Spearman r (rs) = -0,077, 95% CI: -0,224 ile 0,076 p=0,3115; ADM-SOST: rs = -0,151, 95% CI: -0,295 ile -0,00012 p=0,0435].

Sadece normal veya osteopeni grubunun verileri baz alınarak yapılan Korelasyon Matriks Analizinde (Tablo 8) dikkate değer korelasyonlar (r > 0,30) şunlardı:

Pozitif korelasyonlar:

ADM – OPG: Orta pozitif korelasyon (r = 0.7367), ADM – OTC/BGP: Orta pozitif korelasyon (r = 0.5376), OPG – OTC/BGP: Yüksek pozitif korelasyon (r = 0.9343), CTX-1 – SOST: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.3797), CTX-1 – TNF-α: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.3588), SOST – TNF-α: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.3142)

Negatif korelasyonlar:

ADM – CTX-1: Orta negatif korelasyon (r = –0.5761), ADM – SOST: Düşük negatif korelasyon (r = –0.3227), ADM – TNF-α → düşük negatif korelasyon (r = –0.3391), OPG – CTX-1: Düşük negatif korelasyon (r = –0.4966), OPG – TNF-α: Düşük negatif korelasyon (r = –0.3452), OTC/BGP – CTX-1: Düşük negatif korelasyon (r = –0.3813)

Korelasyon matriks analizinden elde edilen korelasyonların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıklarını değerlendirmek için verilerin niteliklerine göre korelasyon analizleri tekrarlandığında (Pearson veya Spearman korelasyon), ADM değerleri ile OPG ve OTC değerleri arasında orta derecedeki korelasyonun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptandı (sırasıyla rs = 0,556, 95% CI 0,389 ile 0,688 p<0,0001 ve rs = 0,566, 95% CI: 0,401 ile 0,695) (Şekil 25). ADM değerleri ile CTX, SOST, TNF-α değerleri arasında saptanan negatif korelasyonun ise sadece ADM ve CTX arasında istatistiksel anlamlı olarak devam ettiği saptandı [rs = -0,380, 95% CI: -0,549 ile -0,182 p= 0,0002; rs = -0,207, 95%CI:-0,402 ile 0,0066; rs = -0,222, 95% CI: -0,415 ile -0,009 p=0,0357] (Şekil 26).

Korelasyon matriks analizinde grup 1'in OPG ve OTC değerleri arasında saptanan yüksek derecedeki pozitif korelasyonun gerçekte orta derece pozitif bir korelasyon olduğu ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptandı (rs = 0,537, 95% CI: 0.366 ile 0,673 p<0,0001). Korelasyon matriks analizinde grup 1'in OPG değerleri ile CTX ve TNF-α arasında saptanan orta derecede negatif korelasyonların gerçekte önemsiz olduğu saptandı (rs = -0,185, 95% CI:-0.383 ile 0,0288 p=0,0802; rs = -0,086, 95% CI:-0,294 ile 0,129 p=0,4181). OTC/BGP ve CTX arasında saptanan negatif

korelasyon da gerçekte önemsizdi (rs = -0,1987, 95% CI: -0,395 ile 0,015 p=0,0604). Grup 1'in CTX değerleri ile SOST ve TNF-α değerleri arasında saptanan korelasyonların devam ettiği ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu belirlendi (sırasıyla rs = 0,545, 95% CI: 0,381 ile 0,683 p <0,0001 ve rs = 0,323, 95% CI: 0,118 ile 0,501, p=0,0019). SOST ve TNF-α değerleri arasında saptanan korelasyonun istatistiksel olarak da anlamlıydı (rs = 0,334, 95% CI: 0,130 ile 0.511 p= 0.0013).

Tablo 7. Tüm Çalışma gruplarına ait istatistiksel olarak anlamlı çıkan parametrelerle yapılan korelasyon matriks analizi

	A:	**B:**	**C:**	**D:**	**E:**	**F:**	**G:**	**H:**	**I:**	**J:**	**K:**
A: TSH	1,000										
B: T3	0.0371	1,000									
C: Kortizol	-0.1143	0.0289	1,000								
D: D vit	-0.0669	-0.1036	-0.0016	1,000							
E: Ca	-0.0705	0.0994	0.1471	0.1004	1,000						
F: ADM	-0.0496	-0.0200	0.0089	0.0824	0.0252	1,000					
G: OPG	-0.1139	0.0477	0.0142	-0.0515	-0.0991	0.2673	1,000				
H: OTC/BGP	-0.1120	-0.0361	0.0402	-0.0438	-0.1076	0.1953	**0.8680**	1,000			
I: CTX	-0.0629	-0.1350	0.1349	0.0735	0.1300	**0.5265**	-0.2123	-0.0800	1,000		
J: SOST	-0.0499	0.1434	0.1173	-0.0417	0.0550	**0.3290**	-0.1490	-0.0765	**0.4655**	1,000	
K: TNF-α	0.1090	0.0498	0.1038	-0.0251	0.1302	0.0778	-0.2097	-0.0931	**0.3773**	0.2073	1,000

Korelasyon matriks analizinden sonra uygun istatistiksel modelle p değeri hesaplanmalı ve istatistiksel anlamlılık değerlendirilmelidir. Korelasyon değeri (r) <0,30 ise ihmal edilebilir korelasyon, r= 0.30 - 0.50 ise düşük pozitif korelasyon, r= 0.50 - 0.70 ise orta derecede pozitif korelasyon, r >0.70 ise yüksek pozitif korelasyon (77). TSH: Tiroid Stimulan Hormon, T3: Triiyodotironin, D vit: Vitamin D (kolekalsiferol), ADM: Adrenomedullin, OPG: Osteoprotegerin, OTC/BGP: Osteokalsin / Bone Gla Protein, CTX: Tip I kollajen C-terminal telopeptidi, SOST: Sklerostin, TNF-α: Tumor Nekroz Faktor-alfa

Tablo 8. Normal veya osteopeni grubunun istatistiksel olarak anlamlı çıkan parametreleriyle yapılan korelasyon matriks analizi

	A:	**B:**	**C:**	**D:**	**E:**	**F:**	**G:**	**H:**	**I:**	**J:**	**K:**
A: TSH	1,000										
B: T3	-0.1061	1,000									
C: Kortizol	-0.0141	0.1268	1,000								
D: D vit	-0.0794	-0.1009	0.1021	1,000							
E: Ca	0.0215	0.0618	-0.1239	0.1998	1,000						
F: ADM	-0.2595	0.0025	-0.0868	-0.0035	-0.0978	1,000					
G: OPG	-0.1809	0.0139	0.0552	-0.0246	-0.1215	**0.7367**	1,000				
H: OTC/BGP	-0.1610	0.0073	0.0721	-0.0269	-0.1403	**0.5376**	**0.9343**	1,000			
I: CTX	0.1076	-0.0073	0.1558	0.0409	0.0057	**-0.5761**	**-0.4966**	**-0.3813**	1,000		
J: SOST	0.1009	-0.0292	0.0947	-0.1076	-0.1402	**-0.3227**	-0.2962	-0.2563	**0.3797**	1,000	
K: TNF-α	0.1095	0.2121	0.1166	-0.1837	0.0125	**-0.3391**	**-0.3452**	-0.2919	**0.3588**	**0.3142**	1,000

Korelasyon matriks analizinden sonra uygun istatistiksel modelle p değeri hesaplanmalı ve istatistiksel anlamlılık değerlendirilmelidir. Korelasyon değeri (r) <0,30 ise ihmal edilebilir korelasyon, r= 0.30 - 0.50 ise düşük pozitif korelasyon, r= 0.50 - 0.70 ise orta derecede pozitif korelasyon, r >0.70 ise yüksek pozitif korelasyon (77). TSH: Tiroid Stimulan Hormon, T3: Triiyodotironin, D vit: Vitamin D (kolekalsiferol), ADM: Adrenomedullin, OPG: Osteoprotegerin, OTC/BGP: Osteokalsin / Bone Gla Protein, CTX: Tip I kollajen C-terminal telopeptidi, SOST: Sklerostin, TNF-α: Tumor Nekroz Faktor-alfa

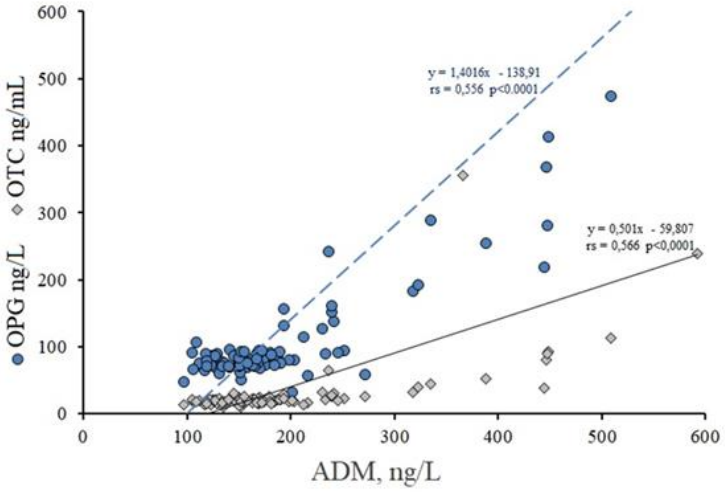
Tablo 9. Osteoporoz grubunun istatistiksel olarak anlamlı çıkan parametreleriyle yapılan korelasyon matriks analizi

	A:	**B:**	**C:**	**D:**	**E:**	**F:**	**G:**	**H:**	**I:**	**J:**	**K:**
A: TSH	1,000										
B: T3	0.1183	1,000									
C: Kortizol	-0.1813	0.0355	1,000								
D: D vit	0.0150	-0.0523	-0.1898	1,000							
E: Ca	-0.1350	0.2453	**0.3557**	-0.1391	1,000						
F: ADM	0.1084	0.0400	-0.0165	0.0977	0.0063	1,000					
G: OPG	-0.0122	0.0191	0.0595	-0.0613	0.1580	**0.3490**	1,000				
H: OTC/BGP	0.0162	-0.2325	0.0210	-0.0984	0.0160	0.0682	0.0427	1,000			
I: CTX	-0.0520	-0.0696	0.0545	0.0136	0.0771	**0.4890**	-0.0903	0.1513	1,000		
J: SOST	-0.0958	0.2708	0.0899	-0.0702	0.0924	**0.3092**	-0.0616	0.0912	**0.4433**	1,000	
K: TNF-α	0.1532	0.0017	0.0728	0.0887	0.1992	0.1675	-0.0575	0.2828	**0.3934**	0.1662	1,000

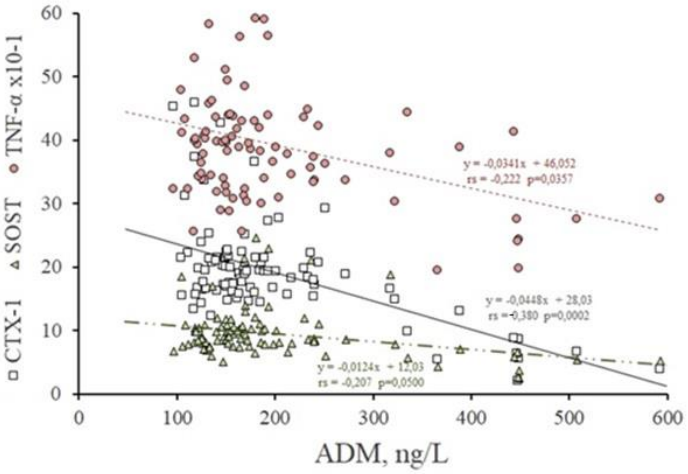
Korelasyon matriks analizinden sonra uygun istatistiksel modelle p değeri hesaplanmalı ve istatistiksel anlamlılık değerlendirilmelidir. Korelasyon değeri (r) <0,30 ise ihmal edilebilir korelasyon, r= 0.30 - 0.50 ise düşük pozitif korelasyon, r= 0.50 - 0.70 ise orta derecede pozitif korelasyon, r >0.70 ise yüksek pozitif korelasyon (77). TSH: Tiroid Stimulan Hormon, T3: Triiyodotironin, D vit: Vitamin D (kolekalsiferol), ADM: Adrenomedullin, OPG: Osteoprotegerin, OTC/BGP: Osteokalsin / Bone Gla Protein, CTX: Tip I kollajen C-terminal telopeptidi, SOST: Sklerostin, TNF-α: Tumor Nekroz Faktor-alfa

Osteoporoz grubunda yapılan korelasyon matriks analizinde (Tablo 9), dikkate değer korelasyonlar şunlardı: Kortizol – Ca: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.3557), ADM – OPG: Düşük derecede pozitif korelasyon (r = 0.3490), ADM – CTX: Orta pozitif korelasyon (r = 0.4090), SOST – CTX: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.4433), TNF-α – CTX-1: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.3934), ADM – SOST: Düşük pozitif korelasyon (r = 0.3092). Grup 1'in korelasyon matriks analizinde kemik yapımı ve yıkımı belirteçleri arasında saptanan negatif korelasyonların osteoporozlu grupta saptanmaması dikkat çekiciydi.

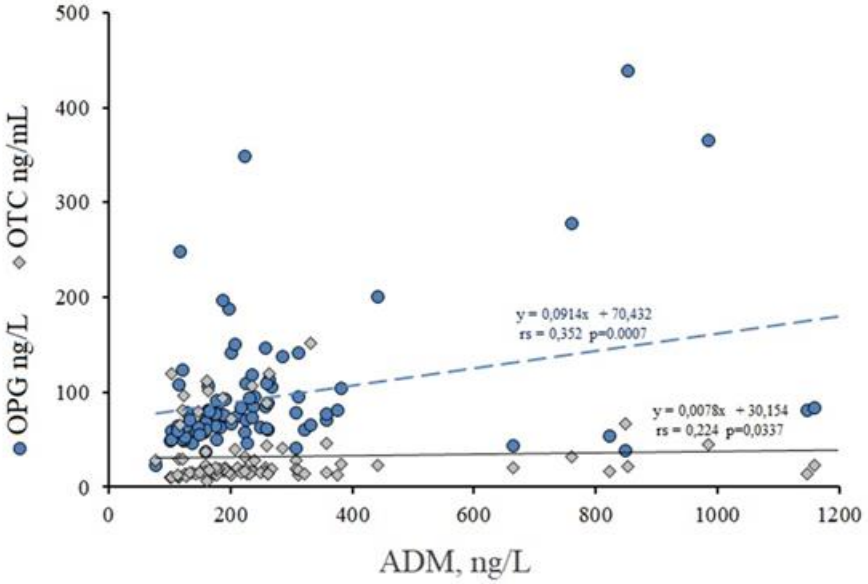
Korelasyon matriks analizinde osteoporoz grubundan elde edilen korelasyonların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadıklarını değerlendirmek için verilerin niteliklerine göre korelasyon analizleri tekrarlandığında (Pearson veya Spearman korelasyon), kortikol ve Ca değerleri arasında saptanan korelasyonun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptandı (Pearson r = 0.3064 95% CI: 0.105 to 0.484 p=0.0035). Korelasyon matriks analizinde ADM ve OPG arasındaki saptanan korelasyonun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptandı (rs = 0.352, 95% CI: 0.150 ile 0.525 p=0.0007) (Şekil 27). CTX-1 ve SOST arasında saptanan korelasyonun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptanırken (rs = 0.4862 95% CI: 0.305 ile 0.634 p<0.0001), ADM değerleri ile CTX ve SOST arasında saptanan korelasyonlar gerçekte önemsizdi (rs = 0.0052, 95% CI: -0.208 to 0.218 p=0.9613 ve rs = -0.010 95% CI: -0.222 ile 0.204 p=0.9276) (Şekil 28). CTX-1 ve TNF-α arasında saptanan korelasyonun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (rs = 0.3142, 95% CI: 0.108 ile 0.494 p=0.0026).



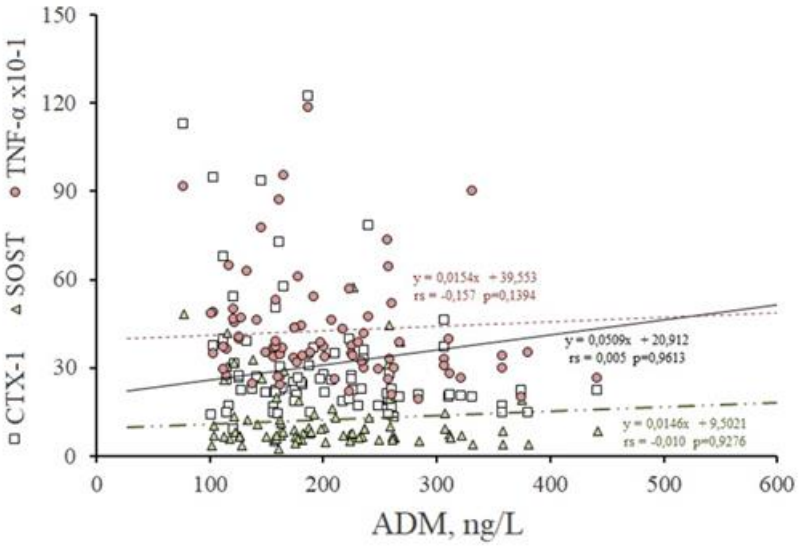
Şekil 18. Grup 1'in ADM değerleri ile OPG ve OTC değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren Spearman korelasyon grafiği. ADM ile OPG ve OTC değerleri arasında orta derecede pozitif korelasyonların olduğu görülmektedir. rs: Spearman korelasyon



Şekil 19. Grup 1'in ADM değerleri ile CTX-1, SOST ve TNF-α değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren Spearman korelasyon grafiği. Sadece ADM ve CTX-1 değerleri arasında düşük derecede pozitif korelasyon olduğu görülmektedir. rs: Spearman korelasyon



Şekil 20. Osteoporoz grubunun ADM değerleri ile OPG, OTC değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği. Bu grupta ADM ve OPG arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon varken ADM ve OTC arasındaki korelasyon önemsizdi. rs: Spearman korelasyon



Şekil 21. Osteoporoz grubunun ADM değerleri ile CTX-1, SOST ve TNF-α değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği. Bu grupta ADM ile CTX-1, SOST ve TNF-α arasında önemli bir korelasyon olmadığı görülmektedir. rs: Spearman korelasyon

Tablo 10. Osteoporoz oluşumu üzerinde etkisi olduğu düşünülen on bir bağımsız değişkenin kullanılarak uygulanan Binary regresyon analizi sonuçları

Değişkenler	**B**	**SE**	**OR**	**95% CI**		**P**
TSH mU/L	-0,286	0,189	0,751	0,519	1,087	0,130
T3 ng/L	-1,160	0,507	0,313	0,116	0,846	**0,022**
Kortizol µg/dl	0,174	0,076	1,190	1,026	1,381	**0,022**
D vit µg/L	0,002	0,017	1,002	0,971	1,035	0,883
Ca mg/dL	1,340	0,485	3,820	1,477	9,879	**0,006**
ADM ng/L	0,013	0,004	1,013	1,005	1,022	**0,002**
OPG ng/L	-0,016	0,006	0,984	0,973	0,995	**0,005**
OTC ng/mL	0,014	0,013	1,014	0,989	1,040	0,285
CTX-1 ng/mL	0,124	0,035	1,133	1,058	1,213	**0,000**
SOST ng/mL	0,018	0,037	1,018	0,947	1,094	0,625
TNF-α ng/L	-0,005	0,003	0,995	0,990	1,000	0,076
Sabit	-13,049	4,886	0,000			0,008

Overall estimate percentage = %79,1, Initial -2 Log Likelihood: 201,262 → 123,978, Omnibus Test (Chi-square= 77,284, p<0,001), Hosmer-Lemeshow Test (Chi-square= 8,569, p=0,380), Nagelkerke R^2=0,547

Tablo 11. Osteoporoz oluşumu üzerinde etkisi olduğu düşünülen altı bağımsız değişkenin kullanılarak uygulanan Binary regresyon analizi sonuçları

Değişkenler	**B**	**SE**	**OR**	**95% CI**		**P**
1. T3 ng/L	-1,336	0,476	0,263	0,103	0,668	0,005
2. Kortizol µg/dl	0,146	0,065	1,157	1,018	1,315	0,025
3. Ca mg/dL	1,244	0,453	3,468	1,426	8,434	0,006
4. ADM ng/L	0,015	0,004	1,015	1,007	1,022	0,000
5. OPG ng/L	-0,014	0,006	0,986	0,975	0,997	0,012
6. CTX-1 ng/mL	0,118	0,034	1,125	1,053	1,202	0,000
Sabit	-13,436	4,746	0,000			0,005
Correlation Matrix	A:	B:	C:	D:	E:	F:
A:T3	1,000	-0,049	-0,121	-0,192	0,026	-0,127
B:Kortizol	-,049	1,000	0,076	0,269	-0,218	0,044
C:Ca	-0,121	0,076	1,000	0,260	-0,260	0,176
D:ADM	-0,192	0,269	0,260	1,000	-0,525	0,307
E:OPG	0,026	-0,218	-0,260	-0,525	1,000	0,052
F: CTX1	-0,127	0,044	0,176	0,307	0,052	1,000

Overall estimate percentage = %78,0, Initial -2 Log Likelihood: 204,706→133,751, Omnibus Test (Chi-square= 70,955, p<0,001), Hosmer-Lemeshow Test (Chi-square= 5.626, p=0,689), Nagelkerke R^2=0.506. OPG ve ADM arasındaki r= -0.525 ve mutlak değeri 0.525'tir. Bu değer kolinearite için genellikle kabul edilen 0.70'lik eşik değerinin altındadır. Bu nedenle, ciddi bir kolinearite sorunu olarak kabul edilmez.

TSH, T3, Kortizol, D vit, Ca, ADM, OPG, OTC, CTX-1, SOST ve TNF-α'den oluşan 11 adet bağımsız değişkenin osteoporoz oluşumu üzerine etkisini belirlemek için yapılan Binary regresyon analiz sonuçları Tablo 10'da verilmiştir. Osteoporoz durumunu açıklamak için oluşturulan onbir değişkenli model, Omnibus testine (Chi-square= 77,284, p<0,001) ve Hosmer-Lemeshow uyum iyiliğini testine (Chi-square= 8,569, p=0,380) göre uygun gözükse de istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanan beş bağımsız değişken içeriyordu.

Osteoporoz oluşumu üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanan bağımsız değişkenler (p>0.05) modelden çıkarılarak uygulanan altı değişkenli model (T3, Kortizol, Ca, ADM, OPG ve CTX-1) de Omnibus Test (Chi-square= 70,955, p<0,001) ve Hosmer-Lemeshow Testine (Chi-square= 5.626, p=0,689) göre istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 11). On bir bağımsız değişkenli modele kıyasla daha basit olan altı bağımsız değişkenli modellin benzer doğrulukta tahmin yapabildiği saptandı (sırasıyla, genel tahmin yüzdesi %79,1'e karşı %78,0). Bu basit modelden elde edilen B katsayıları ile oluşturulan formül, osteoporoz oluşma olasılığının tahmininde kullanılabilir. Olasılık değerini >0.5 olması başarı şeklinde kabul edilir.

$$P(Y) = \frac{1}{1 + e^{-(B0+B1*T3+B2*Kortizol+B3*Ca+B4*ADM+B5*OPG+B6*CTX-1)}}$$

P: Osteoporoz oluşma olasılığı

e: Euler sayısı (2.718281)

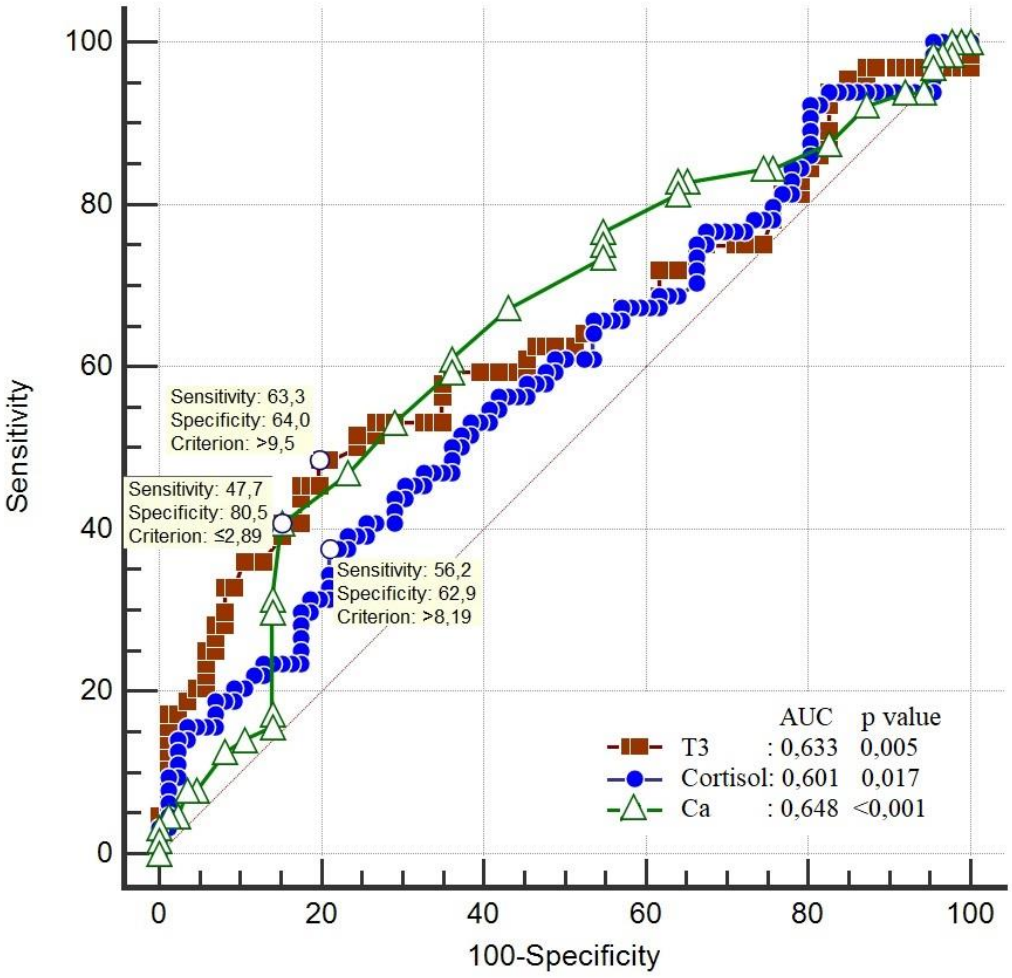
B0: Sabit

B1, B2, B3, B4, B5 ve B6 bağımsız değişkenlerin katsayısı

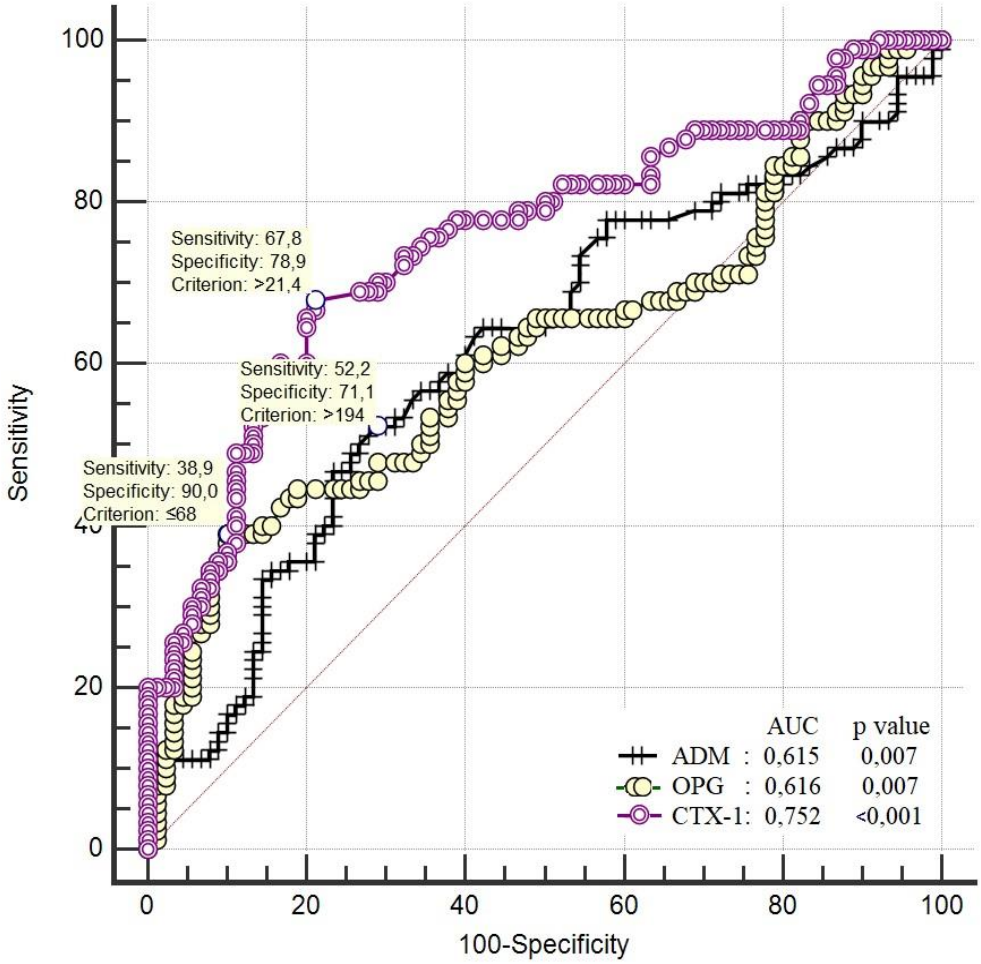
Bu çalışmada osteoporoz tanısında lojistik regresyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan T3, Kortizol, Ca, ADM, OPG ve CTX-1 biyobelirteçlerin tanısal performansını değerlendirmek amacıyla yapılan ROC (Receiver Operating Characteristic) analizlerinde, parametrelerin tanıdaki etkinliğini ortaya kondu. Şekil 29'te gösterilen ROC analizine göre, T3, Kortizol ve Kalsiyum (Ca) parametrelerinin tanısal değerleri incelenmiştir. T3 için Eğri Altında Kalan Alan (AUC: Area Under The Curve) değeri 0.633 olarak, Kortizol için 0.601 olarak ve Kalsiyum (Ca) için ise 0.648

olarak bulunmuştur. Bu AUC değerleri, söz konusu parametrelerin osteoporoz tanısında orta düzeyde bir ayırt ediciliğe sahip olduğunu göstermektedir. AUC değerleri için elde edilen p değerleri T3 için 0.005, Kortizol için 0.017 ve Kalsiyum için <0.001 olup, tüm değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu parametreler arasında en yüksek AUC değeri Ca için saptanmıştır. Ayrıca, spesifik kriter noktalarına bakıldığında T3 için %63.3 duyarlılık ve %64.0 özgüllük, Ca için %47.7 duyarlılık ve %80.5 özgüllük, kortizol için ise %56.2 duyarlılık ve %62.9 özgüllük değerleri elde edilmiştir.

Şekil 30'da yer alan ROC analizinde ise ADM, OPG ve CTX-1 parametrelerinin tanısal performansı verilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre, CTX-1 parametresinin 0.752 AUC değeri ile osteoporoz tanısında en yüksek ayırt ediciliğe sahip olduğu belirlenmiştir. ADM ve OPG parametrelerinin AUC değerleri ise sırasıyla 0.615 ve 0.616 olup, bu değerler orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bir tanısal etkinliğe işaret etmektedir (CTX-1 için p= <0.001, ADM ve OPG için p= 0.007). Spesifik kriter noktalarında CTX-1 için %67.8 duyarlılık ve %78.9 özgüllük, ADM için %52.2 duyarlılık ve %71.1 özgüllük, OPG için ise %38.9 duyarlılık ve %90.0 özgüllük değerleri saptanmıştır.



Şekil 29. T3, Kortizol ve Ca testlerinin osteoporoz durumunun saptanmasındakı tanısal değerini tespit etmek için yapılan ROC analiz sonuçları. Diğerlerine kıyasla Ca daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 30. ADM, OPG ve CTX-1 testlerinin osteoporoz durumunun saptanmasındaki tanısal değerini tespit etmek için yapılan ROC analiz sonuçları. Diğerlerine kıyasla CTX-1'in oldukça yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu görülmektedir.

TARTIŞMA

Osteoporoz, kemik kütlesinin azalması ve kemik dokusunun mikroyapısının bozulmasıyla karakterize, genellikle osteopeni ile başlayan ve iskeletin kırılganlığını ve kırık riskini artıran sistemik bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tanımına göre osteoporoz, kemik mineral yoğunluğunun genç erişkin referans değerinin ortalamasından –2,5 standart sapma veya daha düşük (T skoru ≤ –2,5) olmasıyla tanımlanmaktadır. Patogenezinde genetik yatkınlık, postmenapozal dönemde yaşanan hormonal dengesizlik, yaşlanma, yaşam tarzı faktörleri (beslenme, fiziksel aktivite, sigara, alkol) ve bazı sistemik hastalıklar önemli rol oynamaktadır (78–81). Bu hastalığın patofizyolojisi, kemik yapımı ve kemik yıkımı (rezorpsiyon) arasındaki dengenin bozulmasına dayanmaktadır. Kemik döngüsü olarak bilinen dinamik süreçte, osteoblastlar yeni kemik dokusu oluştururken, osteoklastlar eski kemik dokusunun yıkımında görev alır. Osteoporozda bu denge, kemik yıkımı lehine kaydığından progresif kemik kaybı ortaya çıkar ve buna bağlı kemik kırıkları görülebilir (82). Geleneksel tanı yöntemleri, kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçümü ile sınırlıdır. Son yıllarda kemik metabolizmasının dinamik durumunu yansıtan biyobelirteçler, hastalığın erken tanısı, ilerlemesi ve tedaviye yanıtın izlenmesi amacıyla yoğun olarak araştırılmaktadır. Osteoprotegerin (OPG), osteokalsin (OC), kalsitonin gen ailesinde sınıflandırılan adrenomedullin (ADM), C-terminal telopeptit tip 1 kollajen (CTX-1), sclerostin (SOST) ve çeşitli inflamatuar belirteçler (TNF-α gibi) bu alandaki araştırmaların odağında yer almaktadır. Ancak bu biyobelirteçlerin klinik kullanımı ve tanısal değerleri açısından kesinliğe kavuşmuş standart bir yaklaşım bulunmamaktadır(75,81,83–85). Bu belirsizliği gidermek ve osteoporozun fizyopatolojisine dair yeni bilgiler sağlamak amacıyla yürütülen bu çalışma, söz konusu biyobelirteçlerin osteoporoz tanısı almış bireylerdeki seviyelerini normal/osteopenik popülasyonla karşılaştırarak, bu moleküllerin klinik önemine ışık tutmayı hedeflemektedir. Ayrıca bu çalışmanın bulguları, rutin biyokimya ve spesifik kemik biyobelirteçlerinin osteoporoz patofizyolojisindeki karmaşık rolüne dair değerli bilgiler sunmaktadır. Elde edilen sonuçlar, osteoporozun sadece kemik mineral yoğunluğunda bir azalma olmadığını, aynı zamanda kemik yapımı ve yıkımı arasındaki hassas dengenin bozulmasıyla ilişkili kompleks hormonal ve metabolik

süreçleri içeren çok faktörlü bir hastalık olduğunu göstermektedir. Bu tartışma, bulguları fizyopatolojik mekanizmalarıyla ilişkilendirerek derinlemesine analiz edecektir.

Çalışmanın tablo 5'de verilen bulguları, osteoporoz ve osteopeni/normal kemik mineral yoğunluğu (KMY) olan bireyler arasında bazı rutin biyokimya parametrelerinde anlamlı farklılıklar, hormon düzeyleri ve mineral metabolizması arasındaki karmaşık ilişkiyi vurgulamaktadır. Çalışmada osteoporozlu bireylerde (Grup 2) daha yüksek Ca düzeylerinin bulunması, ilk bakışta bir paradoksal ilişki gibi algılanabilir. Çünkü osteoporozun genel olarak düşük kalsiyum alımıyla veya düşük kalsiyum emilimi ile ilişkilendirilmesi bu kanaati doğurmaktadır. Oysaki bu durumun farklı mekanizmalarının da olabileceği göz ardı edilmemelidir. Örneğin, normalde vücudun sürekli olarak kemikleri yenileme döngüsünün doğal bir parçası kemik rezorpsiyonunun hızlandığı durumlarda (menopoz, hiperparatiroidizm, hipertiroidizm, yüksek kortizol seviyeleri, uzun süreli stres, yaşlanma romatoid artrit gibi iltihaplı hastalıklar v.b.) dolaşımdaki Ca düzeyleri artabilir. Ayrıca, osteoporoz hastalarında yapılan önceki çalışmaların birçoğu (86,87) bu hastalığın daha çok Ca metabolizmasındaki regülasyon bozukluklarıyla ilişkili olduğunu sonucuna ulaşmıştır. Bu bulgu, yalnızca Ca düzeylerine bakarak osteoporoz riskini değerlendirmenin yeterli olmadığını, aksine metabolizmanın diğer yönlerinin detaylı olarak dikkate alınması gerektiğini akla getirmektedir (88). Ayrıca kalsiyum düzeylerinin Grup 2'de yüksek bulunması ek takviye kullanımı ile ilişkili de olabilir. Kalsiyum metabolizmasında karmaşık mekanizmalar göz önüne alındığında, bu bulgunun tek başına osteoporoz gelişimi ile doğrudan ilişkili olmadığı da akla gelmelidir.

Metabolizma hızıyla ilişkisi iyi bilinen TSH ve T3 düzeylerinin bu çalışmada osteoporoz grubunda anlamlı derecede düşük saptanması, tiroid hormonlarının kemik metabolizması üzerindeki etkinliğini desteklemektedir. Bu bulgular, endokrin sistemin kemik metabolizması üzerindeki belirleyici rolünü ortaya koymaktadır. Tiroid hormonlarının kemik hücreleri üzerindeki etkilerini söyle özetleyebiliriz. Triiyodotironin (T3), osteoblastlarda kemik yapımını uyarırken, aynı zamanda osteoklastik aktiviteyi de artırarak kemik döngüsünü hızlandırır (89). Düşük T3 seviyeleri kemik yapım sürecinin baskılanmasına yol açarak, kemik kalitesinin bozulmasına ve kırık riskinin artmasına neden olabilir. Son yıllarda yapılan deneysel

çalışmalar, TSH reseptörlerinin osteoblast ve osteoklastlarda da eksprese edildiğini ve düşük TSH seviyelerinin doğrudan kemik rezorbsiyonunu artırabileceğini göstermiştir. TSH reseptörü ekspresyonundaki azalmanın bile, fokal osteoskleroz ve derin osteoporoza neden olabileceği bildirilmiştir (90) .Abe ve arkadaşlarının bu bulguları bizim çalışma sonuçlarıyla örtüşmektedir. Dolayısıyla, ötiroid durumda bile TSH'ın alt sınırda olması, kemik mineral yoğunluğunu olumsuz etkileyebilecek bağımsız bir risk faktörü olabileceği düşünülmelidir. Yine hipertiroidizmde artmış kemik döngüsü ve hızlanmış rezorbsiyon nedeniyle kemik mineral yoğunluğunda azalma ve osteoporoz riskinde artış meydana geldiği bilinmektedir. Oldukça yakın zamanda yürütülen bir çalışmada postmenopozal kadınlarda daha yüksek tiroid uyarıcı hormon (TSH) düzeyleri osteopeni riski ile negatif ilişkili bulunmuştur (91).

Bu çalışmada osteoporoz grubunda serum kortizol düzeylerinin daha yüksek saptanması, kronik stresin ve glukokortikoidlerin kemik sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini desteklemektedir. Bilindiği gibi yüksek kortizol düzeyleri, kemik yıkımını arttırırken kemik yapımını baskılayabilir. Bu bulgu, kortizol metabolizmasındaki farklılıkların osteoporoz gelişiminde önemli rolüne dair bir ipucu niteliğindedir. Kortizol, serbest amino asitlerin glukoneogenez yoluyla enerji kaynağı olarak kullanılmasını sağlamak için kemik rezorpsiyonunu tetikler. Ayrıca, indirekt yoldan kemiğe kalsiyumum emilimini engelleyerek kemik hücresi büyümesini azaltır (92). Dolayısıyla sonuçta KMY' yi azaltacak şekilde serum kalsiyum homeostazındaki bozarak kemik rezorbsiyonunu artırır (93,94). Bilindiği gibi aşırı kortizol üreten hiperkortizolizm veya Cushing sendromu gibi durumlarda, osteoporoza sık rastlanması (yüksek prevalans) bundandır (95).

Araştırma sonuçları D vitamini düzeylerinin osteoporoz grubunda daha yüksek olduğunu göstermektedir. Kafa karışıklığını gidermek amacıyla bu ilginç bulguyu açıklaması gereken bir bulgu olarak değerlendirdik. Genellikle D vitamini eksikliği, osteoporoz ve kemik sağlığı sorunlarıyla ilişkilendirilmektedir. Oysa burada farklı bir bulgu söz konusudur. Bu bulguyu, iki farklı şekilde yorumlayabiliriz.

Birincisi, bu grup içindeki bireylerin osteoporoz tanısı aldıktan sonra tedavi amaçlı D vitamini takviyesi kullanmaya başlamış olmalarıdır. Bu durum, anket verileri veya hastaların tedavi geçmişi ile daha detaylı incelenmelidir. İkincisi, D vitamininin

biyolojik olarak aktif olmayan formlarının veya reseptör direncinin söz konusu olabileceği hipotezidir. Bu noktayı aydınlatmak için daha ileri çalışmalar gerekebilir.

Birincisi, osteoporozlu grup bireyleri tanı aldıktan sonra tedavi amaçlı D vitamini takviyesi kullanıyor olmaları ihtimalidir. Bu ihtimal, anket verileri veya hastaların tedavi geçmişi ile detaylandırıldığında bir kısım hastanın numune toplanması öncesinde D vitamini aldığı belirlenmesiyle doğrulandı. Ancak tüm hastalar için aynı durum söz konusu olmadığından ikinci bir yoruma halen ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Bu da, D vitamininin biyolojik olarak aktif olmayan formlarının veya reseptör direncinin söz konusu olabileceği hipotezidir. Bu noktayı aydınlatmak için daha ileri çalışmalar gerekebilir. Çünkü ölçülen serum D vitamini düzeylerinin biyolojik olarak aktif formu olan 1,25-dihidroksi vit D'yi değil, esas olarak dolaşımdaki depo formu olan 25-hidroksivitamin D'dir. Dolayısıyla yeterli 25 hidroksi vit D düzeylerine rağmen hedef dokularda vitamin D reseptör (VDR) direnci veya polimorfizmleri, ya da kronik renal yetmezlikler nedeniyle aktif forma dönüşümde yetersizlik söz konusu da olabilir. Bu durum, fonksiyonel D vitamini eksikliği olarak adlandırılmakta ve normal ya da yüksek serum düzeylerine rağmen kemik sağlığı üzerinde koruyucu etkinin sağlanamamasıyla sonuçlanabilmektedir (96,97). Dolayısıyla, osteoporoz grubundaki yüksek D vitamini değerleri biyolojik etkinin yeterli olduğunu göstermez, böyle hasta gruplarında tedaviye bağlı bir bulgusu veya aksine altta yatan VDR yanıt bozukluklarını veya metabolik yolaklardaki aksaklıkları işaret edebilir. Çalışmadaki biyokimyasal parametreler genel olarak değerlendirildiğinde bulgularımız, osteoporozda kalsiyum metabolizması ve hormonal düzeneklerin (tiroid: TSH ve T3 ve adrenal bez: kortizol, renal: Dihidroksi vit D) önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

ADM'nin, renal, endokrin, immün, kardiyovasküler ve kan basıncı regülasyonunda rol oynayan bir hormon olduğu bilinmesine rağmen, son araştırmalarda kemik metabolizmasındaki rolüne dair yeni bilgilere ulaşılmıştır. (98–102). Yüksek ADM düzeylerinin, inflamatuar süreçlerde sitokinlerin salınımını tetikleyerek osteoklast oluşumunu artırabilir (103). Bu bulgu, osteoporozun yalnızca hormonal ve mineral dengesizlikleri değil, aynı zamanda kompleks nöroendokrin ve ADM'nin de yer aldığı inflamatuar süreçlerle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Artmış ADM düzeyleri, kronik inflamasyonun kemik sağlığı üzerindeki olumsuz

etkilerini destekler niteliktedir. Adrenomedullin, yakın zamanda benzer halka yapısı nedeniyle kalsitonin gen ailesine dahil edilmiş ve kalsitonin gen ailesi gibi kemik dokusu üzerinde kemik dokusu kütlesinde artış ve osteoblastlar üzerinde proliferatif etki gibi anabolik etkilere sahip olduğu saptanmıştır (10,75,104,105) . Bu bağlamda adrenomedullinin kemik dokusu üzerindeki etkisi hakkında Cornish ve ark. (10,75,106), kapsamlı araştırmalar yapmış ve adrenomedullinin hem in vivo hem de in vitro osteoblastlarda proliferasyonu ve hücre fonksiyonunu artırdığını bildirmiştir. Ancak literatürde adrenomedullinin osteopeni ve/veya osteoporozlu hastalar üzerindeki etkilerini yeterli çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla bu çalışma, bu ihtiyacı gidermeye yönelik faydalı bilgiler sağlamaktadır.

Çalışmada, osteoporoz grubunda ADM düzeylerinin normal veya osteopenili gruba göre anlamlı derecede daha yüksek bulunması dikkat çekiciydi (p=0,0075). Bu bulgu, ADM'nin anabolik etkilerine dair yukarıdaki ve literatürdeki verilerle çelişki yaratmaktadır. Cornish ve arkadaşlarının çalışmalarında belirtildiği gibi ADM'nin kemik yapımını teşvik etmesi beklenirken (98), biz bu molekülün osteoporoz hastalarında daha yüksek seviyelerde olduğunu saptadık. Bu durum, ADM'nin kemik metabolizmasındaki rolünün çift yönlü veya duruma bağlı olduğunu düşündürmektedir. Bu bulguyu açıklayabilecek olası mekanizmaları şöyle özetleyebiliriz. Birinci hipotezimiz; osteoporozda artan kemik yıkımını dengelemek amacıyla, vücut kemik yapımını teşvik etmek için ADM salınımını artırmış olabileceğine dayanmaktadır. Bu senaryoda, yüksek ADM seviyeleri hastalığın bir nedeni değil, artmış kemik kaybına karşı bir savunma veya telafi mekanizması olabilir (107). Diğer bir hipotez, ADM'nin çift yönlü etkisine dayanmaktadır. Burada ADM'nin fizyolojik rolünün karmaşık olabileceği varsayılır. Bazı durumlarda anabolik etki gösterirken, kronik inflamasyonun eşlik ettiği osteoporoz gibi patolojik durumlarda, inflamatuar sitokinleri artırarak kemik yıkımını tetikleyici bir rol oynaması mümkündür (98). Bulgumuz, bu ikinci olasılığı daha çok desteklemektedir. Son hipotezimiz direnç gelişimi hipotezidir. Bu hipoteze göre ADM seviyeleri yüksek olmasına rağmen, osteoporoz grubundaki bireylerde ADM reseptörlerine karşı bir direnç söz konusu olabilir. Burada, ADM'nin anabolik etkisi zayıflar veya gözlenmez. Dolayısıyla dolaşımdaki ADM seviyesinde tedrici artış gözlenebilir. Tüm bu senaryolar, hormonal mekanizmalardaki bozuklukların kemik kaybına nasıl

etkileyebileceğini açıklayabilir. Sonuç olarak bu çalışma, ADM'nin kemik metabolizmasındaki rolünün daha derinlemesine anlaşılması için önemli bir başlangıç noktası sunmakta ve literatürdeki çelişkili verileri çözme potansiyeli taşımaktadır. Ancak bu hipotezleri doğrulamak için ADM ve kemik turnover belirteçleri arasındaki dinamik ilişkiyi derinlemesine araştıran kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın en önemli bulgularından birisi de, normal/osteopenik gruba kıyasla osteoporozlu grupta CTX-1 düzeylerinin anlamlı derecede yüksek bulunmasıydı. CTX-1, osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu sırasında üretilen ve kana salınan bir kollajen yıkım ürünüdür. Osteoporoz grubunda saptanan yüksek CTX-1 düzeyleri, kemik yıkım hızının arttığının doğrudan bir göstergesidir ve bu daha önce yapılan bir çalışma ile benzerlik göstermektir (107). Ayrıca bu sonuç, osteoporozun temel fizyopatolojik mekanizmasının, kemik yapım hızından daha hızlı bir kemik yıkım süreci olduğu hipotezini de desteklemektedir. Artan kemik yıkımı, kemik matriksinde poroziteye yol açarak kemik matriks yapısını zayıflatır ve kırık riskini artırmaktadır. Osteoporoz grubunda fizyopatolojik olarak artmış yıkım sürecini destekleyen bir diğer bulgu, OPG'nin önemli derecede düşük bulunmasıydı. OPG, kemik yıkımını başlatan osteoklastların oluşumu ve aktivasyonundan sorumlu olan RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor-κB Ligand) ile yarışmalı olarak bağlanır (18). Burada OPG, RANKL reseptör tuzağı gibi işlev görerek RANK–RANKL etkileşimini engeller ve böylece osteoklast farklılaşmasını, aktivasyonunu ve yaşam süresini baskılar. Bu mekanizma sayesinde OPG, kemik rezorbsiyonunu azaltıcı ve kemik yoğunluğunu koruyucu bir rol üstlenir. OPG'nin RANKL'ye bağlanması, RANKL'nin osteoklast öncül hücrelerindeki RANK reseptörlerine bağlanmasını engeller ve böylece kemik rezorpsiyonu inhibe edilir. Bu mekanizmayı değerlendirmeyi hedeflemiş olmamıza rağmen, kullanılan RANKL ELISA kitinde optik dansite ölçümlerinin elde edilememesi ve mali kısıtlılıklar nedeniyle süreç detaylı olarak incelenememiştir. Eldeki bulgularımız, düşük OPG seviyelerinin, RANKL'nin baskılayamadığı ve osteoklastları aktive olması dolayısıyla artan kemik yıkımını katkı sağladığını düşündürmektedir. Bu sonuç, OPG/RANKL sisteminin kemik metabolizmasındaki kritik rolünü teyit etmektedir.

Bu çalışmada kemik biyobelirteçlerinden elde edilen bulgular yanı sıra kemik rezorbsiyonunu destekleyen ilginç biyokimyasal bulgulara da ulaşılmıştır. Osteoporoz

grubunda kortizol düzeylerinin yüksek olması bunlardan biridir. Kortizol gibi glukokortikoidler, osteoblastik kemik yapımını baskılarken osteoklastik kemik yıkımını artırarak kemik kaybına yol açar (108,109). Kronik yüksek kortizol seviyeleri, CTX-1 gibi kemik yıkım belirteçlerinin artmasına katkıda bulunarak kemik kaybını hızlandırabilir. Ayrıca, osteoporoz grubunda serum Ca düzeylerinin daha yüksek bulunması, artan kemik rezorpsiyonuyla ilişkilendirilebilir. Bu durum, yalnızca osteoporozda değil, aynı zamanda kemik yıkımının hızlandığı diğer patolojik durumlarda da görülür. Örneğin; kemik metastazı yapan meme, akciğer, prostat ve böbrek gibi kanser türleri, osteoklastları aktive eden ve kemik rezorpsiyonunu artıran faktörler salgılayan multiple myeloma, osteoporoz ve kemik kistleri gibi iskelet sorunlarına neden olabilen ve hiperkalsemi ile sonuçlanabilen hiperparatiroidizm, uzun süreli hareketsizlik veya Paget hastalığı gibi kemik döngüsünün anormal hızlandığı durumlar. Kemik yıkımı hızlandığında, kemik matriksinden dolaşıma salınan kalsiyum seviyeleri artabilir (110,111). Bu durum, osteoporozun temel mekanizmasının kemiklerin kalsiyumunu kaybetmesi değil, dolaşımdaki kalsiyumun regülasyonundaki bozukluklar olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda OTC/BGP, SOST ve TNF-α düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bunun muhtemel sebebini kemik remodelingi ve mineralizasyonu süreciyle açıklayabiliriz. OTC/BGP, kemik matriksine bağlanarak hidroksiapatit kristallerinin düzenli bir şekilde çökelmesini sağlayan kemik yapımının bir belirtecidir. Ayrıca "kemik remodelingi" olarak bilinen kemik döngüsünün (yapım–yıkım dengesi) biyokimyasal göstergelerinden biridir. Osteokalsin (OC), kemik yapımını yansıtan ve osteoblastlar tarafından üretilen bir proteindir. Aynı zamanda Bone Gla Protein (BGP) olarak da bilinir. K vitamini bağımlı bir protein olan osteokalsin, yapısındaki gama-karboksi glutamik asit (Gla) kalıntıları sayesinde kalsiyum iyonlarına bağlanarak kemik matriksinde mineralizasyonunda kritik rol üstlenir (112). Bu çalışma, kontrol grubuna kıyasla osteoporoz grubunda OTC/BGP düzeylerinde beklenen düşüklüğün saptanmamış olması, literatürdeki bazı beklentilerle çelişmektedir. Bu durum, tek bir nedene bağlı olmayabilir ve çeşitli fizyopatolojik ve metodolojik faktörlerle açıklanabilir:

- Katılımcıların farklı osteopeni/osteoporoz evresinde olması: Osteoporozun farklı evrelerinde kemik döngüsü belirteçlerinin dinamik olarak

değişebileceği bilinmektedir. Hastalığın erken evrelerinde, kemik yapımı ve yıkımı arasındaki denge bozulmaya başlar ve bu belirteçler arasındaki ilişki daha karmaşık olabilir. Bu çalışmaya dahil edilen hastaların kuvvetle muhtemel farklı hastalık evrelerinde olması, grup ortalamalarını etkilemiş olabilir.

- Bireysel biyolojik varyasyonlar: Kemik turnover hızı, genetik faktörler, ırk, yaş, cinsiyet ve yaşam tarzı gibi bireysel farklılıklardan etkilenebilir. OTC/BGP düzeylerindeki geniş dağılım (standart sapmanın ortalamadan daha büyük olması bu durumu desteklemektedir), bireysel biyolojik varyasyonun çalışmanın sonucunu etkilemiş olabileceğini akla getirmektedir.
- Biyolojik stabilite problemi: Osteokalsin, biyolojik olarak hassas bir moleküldür ve numune toplama, işleme ve saklama koşullarından etkilenebilir. OTC/BGP'nin kararsız yapısı nedeniyle, laboratuvar ortamında meydana gelen küçük hatalar bile düzeylerin doğru bir şekilde yansıtılmasını engellemiş olabilir. Bu durum, ölçüm sonuçlarının gerçek biyolojik durumu tam olarak yansıtmamasına yol açabilir (113).
- Kemik yıkımının baskın olması: çalışmamızda kemik yıkım belirteci olan CTX-1'in osteoporoz grubunda belirgin şekilde yüksek olması, kemik yapımına kıyasla kemik yıkımının daha baskın bir süreç olduğunu göstermektedir. Bu durumda, kemik yapımındaki değişiklikler (OTC/BGP ile gösterilen) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratacak kadar belirgin olmayabileceğini düşündürmektedir.

Yukarıdaki tüm bu olası nedenler göz önüne alındığında, OTC/BGP düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmaması, çalışmamızın bir sınırlılığı olmaktan ziyade, özetle kemik metabolizmasının dinamik ve karmaşık doğasına dair önemli bir bulgu olarak yorumlanabilir. Bulgumuz, OTC/BGP'nin osteoporozun tüm evrelerinde tek başına bir tanı veya izlem belirteci olarak kullanılmasının sınırlı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda Sclerostin (SOST) ve Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF-α) düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmaması, kemik metabolizmasının ve inflamatuar süreçlerin karmaşık doğasına işarettir. Kemik yapımını baskılayan ve osteositler tarafından üretilen bir molekül olan SOST düzeylerinde, osteoporoz grubunda beklenen artışın gözlenmemesi, SOST'nin kemik döngüsündeki rolünün

hastalık evresine, bireysel genetik varyasyonlara veya diğer düzenleyici mekanizmalara bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir. TNF-α ise sistemik inflamasyonun ve kemik rezorpsiyonunun güçlü bir mediyatörü olarak bilinir. Ancak TNF-α'nın aktivitesi daha çok lokal düzeyde, yani kemik iliği mikroçevresindedir. Bu nedenle, TNF-α'nın sistemik dolaşımdaki düzeyleri, kemik dokusundaki gerçek inflamatuar durumu tam olarak yansıtmada yetersiz kalabilmektedir. TNF-α düzeylerindeki majör değişiklikler genellikle akut veya şiddetli inflamasyon durumlarında görülürken, kronik ve düşük dereceli inflamatuar hastalıklar için serum seviyeleri her zaman belirgin bir artış göstermeyebilir. Ayrıca, TNF-α'nın da kısa yarı ömürlü olması ve biyolojik stabilitesinin düşük olması, numune toplama ve işleme süreçlerindeki küçük hataların ölçüm sonuçlarını etkileyebileceği de unutulmamalıdır. TNF-α'nın kemik homeostazındaki paradoksal rolü, etkilenen hücre tipinin konsantrasyonuna ve farklılaşma durumuna ve ayrıca maruz kalma süresine bağlanabilir (114). Tüm bu faktörler, bulgularımıza dayanarak TNF-α'nın osteoporozdaki rolünü reddetmek yerine, bu molekülün etkisinin ağırlıklı olarak lokal olduğunu ve sistemik dolaşım düzeylerinin klinik tanıda sınırlı değere sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Normal ve osteopeni grubu ve osteoporoz grubunun korelasyon analizlerinden elde edilen bulgular, kemik metabolizmasındaki değişimlerin hastalığın seyrine bağlı olarak nasıl farklılaştığını açıkça göstermektedir. Normal ve osteopeni grubunda, kemik yapım belirteçleri (ADM, OPG, OTC/BGP) ile yıkım belirteçleri (CTX-1, SOST, TNF-α) arasında pozitif ve negatif korelasyonların bir arada bulunması dikkat çekiciydi ve kemik turnover durumu ile ilgili dengeli bir ilişkiyi yansıtıyordu. Özellikle ADM ve OPG değerlerinin CTX-1, SOST, TNF-α ile gösterdiği negatif korelasyonlar, sağlıklı kemik metabolizmasının temelini oluşturan yapım ve yıkım dengesini yansıtmaktadır. Bu durum, osteoblastik (yapım) aktivite arttığında osteoklastik (yıkım) aktivitenin baskılandığını, yani kemik remodeling döngüsünün düzenli bir şekilde işlediğini gösterir. Osteoporozun aksine, osteopeni aşamasında bile vücut, kemik kütlesi kaybını bir dereceye kadar telafi etmeye çalışmaktadır. Osteoporoz grubunda ise yıkım ve yapım dengesi yıkım lehine bozulmuştur. Bu çalışmada bunun en önemli kanıtlarından biri, normal ve osteopeni grubunda gözlenen kemik yapım ve yıkım belirteçleri arasındaki negatif korelasyonların osteoporoz

grubunda kaybolmuş olmasıdır. Bu durum, kemik yıkımının kemik yapımından daha hızlı hale gelmesiyle açıklanan osteoporozun temel mekanizmasını yansımalarındandır (115). Bu kaybın muhtemel mekanizması, kronik kemik kaybına bağlı olarak remodeling döngüsündeki düzenleyici sinyal yollarının yetersiz kalması veya bozulmasıdır. Sağlıklı bir kemik remodeling döngüsünde osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki iletişim, belirli faktörler (örneğin RANKL, OPG) aracılığıyla hassas bir denge içinde yönetilir (116). Osteoporozda ise bu döngü, artan osteoklastik aktivite ve yetersiz osteoblastik aktivite ile sonuçlanacak şekilde kronik olarak dengesizleşir. Bu süreçte, normalde yıkımı baskılaması beklenen mekanizmalar işlevsiz hale gelebilir.

ADM'nin osteoporozda CTX ile ilişkisinin kaybolması ve muhtemel mekanizmaları şöyle açıklanabilir. ADM normal şartlarda hem osteoblastik hem de osteoklastik aktiviteyi etkileyebilen bir peptiddir. ADM'nin CTX ile olan negatif korelasyonunun osteoporoz grubunda kaybolması ve hatta pozitif hale gelmesi, ADM'nin kemik metabolizmasındaki rolünün bu hasta grubunda değiştiğine işaret etmektedir. Bu bulgu, ADM'nin normal fonksiyonunu kaybetmesiyle ilişkili olabileceği gibi ADM sinyal yolakları bozulmuş olmasıyla da açıklanabilir. Sağlıklı bireylerde veya normal kemik yoğunluğuna sahip gruplarda ADM, osteoklastik aktiviteyi baskılayarak kemik yıkımını kontrol altında tutar (117–119). Ancak osteoporozlu bireylerde, kemik mikroçevresindeki kronik iltihaplanma, oksidatif stres veya diğer patofizyolojik değişiklikler nedeniyle ADM sinyal yolakları bozulabilir ve böylece ADM'nin osteoklastik aktiviteyi baskılayıcı özelliğini kaybetmesine neden olabilir. Ayrıca ADM'nin, normalde osteoklastlar üzerinde belirli reseptörler aracılığıyla etki ettiği düşünülmektedir. Uzun süreli ve yüksek yıkım temposu ve enflamatuvar süreçler, bu reseptörlerin duyarlılığı azalabilir ve hücresel düzeyde ADM'ye karşı bir direnç gelişimi meydana gelebilir. Bu süreçte, yüksek seviyelerde ADM üretilse bile, yıkım hücreleri (osteoklastlar) bu sinyale yanıt veremez ve yıkım devam eder. Bu durum, sonuç olarak ADM seviyesi ile CTX seviyesi arasında negatif bir korelasyonun görülmemesine, hatta artan kemik yıkımıyla birlikte ADM'nin kompansatuvar olarak yükselmesi nedeniyle pozitif bir ilişki oluşmasına yol açabilir. Bu durum, diyabet gibi insülin direncine benzer bir "ADM direnci" mekanizmasıyla açıklanabilir.

Bu bulgular ışığında, ADM'nin osteoporoz tedavisinde bir hedef olarak potansiyelini değerlendirirken, sadece seviyelerine değil, aynı zamanda sinyal yolaklarının işlevselliğine ve olası direnç mekanizmalarına da odaklanmak gerekebilir. Dolayısıyla osteoporozun karmaşık yapısı, tek bir parametrenin değil, tüm remodeling döngüsünü kapsayan geniş bir biyobelirteç panelinin değerlendirilmesini gerektirmektedir.

Bu çalışmada, osteoporoz oluşumunu öngörmek amacıyla on bir ve altı değişken sayısına sahip Binary regresyon modelleri değerlendirildi. Her iki model, Omnibus Testine ($p<0.001$) ve Hosmer-Lemeshow Testine ($p=0.380$) göre istatistiksel olarak uygun görünse de, bazı bağımsız değişkenlerin anlamsız olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla daha basit bir yapıyla benzer veya daha iyi bir tahmin gücü elde edilebileceği anlaşılmıştır. T3, Kortizol, Ca, ADM, OPG ve CTX-1'den oluşan altı bağımsız değişkenli modelin genel tahmin yüzdesi (%78.0), 11 değişkenli modele (%79.1) oldukça yakın bir performans sergilemektedir. Bu bulgu, gereksiz değişkenlerin çıkarılmasının modelin osteoporozun tahmin gücüne zarar vermediğini, aksine modeli daha sade ve etkin hale getirdiğini göstermektedir. Bu durum, seçilen bu altı biyobelirtecin osteoporoz riskini belirlemede önemli bir rol oynadığını kanıtlamaktadır. Bu modelin başarısı, içerdiği değişkenlerin kemik döngüsü ve metabolizmasındaki kritik rolleriyle açıklanabilir:

Tiroid hormonu olan T3, kemik turnover'ını doğrudan etkiler. Hipertiroidi, T3 seviyelerini artırarak kemik rezorpsiyonunu (kemik yıkımını) hızlandırır ve bu durum osteoporoz riskini artırır (120). Modelde T3'ün negatif katsayısı, T3 düzeylerindeki artışın osteoporoz riskini azaltan bir etki gösterdiği yönünde bir korelasyona işaret eder. T3 düzeyinde 1 birimlik (ng/L) artış, osteoporoz riskini yaklaşık %73.7 azaltır (1 - 0.263 = 0.737). Bu, T3 seviyesi yükseldikçe osteoporoz olma olasılığının azaldığını gösterir. Bu durumun fizyolojik mekanizması daha derinlemesine incelenmelidir.

Aynı zamanda stres hormonu olan kortizol, osteoblastların aktivitesini baskılayarak kemik yoğunluğunu azaltan güçlü bir rezorptif ajandır. Bu nedenle hiperkortizolemi, osteoporoza yol açan önemli patolojik durumlardan biridir (121). Modelde kortizol'ün pozitif katsayı alması, kortizol düzeylerindeki artışın osteoporoz riskini artırdığı yönünde fizyopatolojik mekanizmalarla uyumludur. Kortizol düzeyinde 1 birimlik (µg/dl) artış, osteoporoz riskini %15.7 oranında artırır (OR: 1.157

olduğundan 1.157 - 1 = 0.157). Bu, Kortizol seviyesi yükseldikçe osteoporoz olma olasılığının arttığını gösterir.

Kemik dokusunun ana yapıtaşı olan kalsiyum, kemik mineral yoğunluğunu doğrudan etkiler. Yetersiz kalsiyum alımı veya metabolizması, vücudun kalsiyum ihtiyacını karşılamak için kemiklerden kalsiyum çekmesine neden olur ve bu da kemik zayıflığına yol açar. Modelde Ca'nın pozitif katsayısı, Ca seviyesindeki artışın osteoporoz riskini artırdığı şeklinde bir ilişki göstermektedir. Ca için OR, 3.468 bulundu. Bu kalsiyum düzeyinde 1 birimlik (mg/dL) artış, osteoporoz riskini 3.468 katına çıkartığı anlamına gelir. Bu, kalsiyum seviyesi yükseldikçe osteoporoz olma olasılığının güçlü bir şekilde arttığını gösterir. Ancak bu durum, hiperkortizolizm, kemik turnover hızını arttıran hipertiroidizm, multiple myeloma ve metastatik kanserler, romatizmal artrit, kronik böbrek hastalığı ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarında kemik yıkımını artırması gibi karmaşık mekanizmalarla açıklanabilir ve daha ileri analizler gerektirebilir (86,121–125).

Osteoporoz ve kemik metabolizması ile ilişkisi yakın zamanda araştırılmaya başlanan bir peptid olan ADM hem osteoblast hem de osteoklast aktivitesini etkileyerek kemik döngüsünde rol oynadığı düşünülmektedir. Lojistik regresyon modelinde ADM'nin anlamlı pozitif katsayısı, ADM düzeyinin osteoporoz riskini artırabileceğini gösterir (OR: 1.015). Yorum: ADM düzeyinde 1 birimlik (ng/L) artış, osteoporoz riskini %1.5 oranında artırır (1.015 - 1 = 0.015). Bu, ADM seviyesi yükseldikçe osteoporoz olma olasılığının hafifçe arttığını gösterir. Bu biyobelirteç, kemik sağlığı üzerindeki potansiyel etkisine dair yeni bir bakış açısı sunmaktadır.

Kemik oluşumu ve yıkımı arasındaki dengeyi düzenleyen kritik bir molekül olan OPG, kemik yıkımını başlatan RANKL'yi bağlayarak bu süreci engeller. Dolayısıyla OPG düzeyinin yüksek olması kemik koruyucu etki gösterir. Modelde OPG'nin negatif katsayısı, OPG seviyesindeki artışın osteoporoz riskini azalttığı yönündeki fizyopatolojik beklentiyle uyumludur. OPG düzeyinde 1 birimlik (ng/L) artış, osteoporoz riskini yaklaşık %1.4 azaltır (OR: 0.986; 1 - 0.986 = 0.014). Bu, OPG seviyesi yükseldikçe osteoporoz olma olasılığının hafifçe azaldığını gösterir.

CTX-1, kemik yıkımının bir belirteci olup, osteoklast aktivitesini yansıtır. Yüksek CTX-1 seviyeleri, artan kemik rezorpsiyonuna ve dolayısıyla osteoporoz riskine işaret eder. Modelde CTX-1'in pozitif katsayısı ve OR (1.125) değeri CTX-1

düzeyinde 1 birimlik (ng/mL) artış, osteoporoz riskini %12.5 oranında artırdığını göstermektedir (1.125 - 1 = 0.125). Bu, CTX-1 seviyesi yükseldikçe osteoporoz olma olasılığının arttığını gösterir. Yüksek CTX-1 seviyelerinin artmış osteoporoz riskiyle ilişkili olduğu yönündeki fizyopatolojik bilgiyle uyumludur.

Altı bağımsız değişkenli modelin başarısı, osteoporozun sadece tek bir faktöre bağlı olmadığını, kemik metabolizmasının çeşitli hormonlar (T3, Kortizol), yapıcı maddeler (Ca) ve düzenleyici biyobelirteçler (ADM, OPG, CTX-1) arasındaki karmaşık etkileşimlerin bir sonucu olduğunu göstermektedir. Bu altı değişkenli model, osteoporozun temel patofizyolojisini öngörme konusunda güçlü bir araç sunarak, gelecekteki klinik teşhis ve tedavi yaklaşımlarına yön verebilir. %78,0'luk doğruluk oranı bu tür bir klinik araştırma için kabul edilebilir düzey (%70-80) olabilir. Ancak pratikte klinik açıdan daha güçlü (>%85) öngörüler için farklı parametre veya biyobelirteçlere halen ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Özellikle Ca, ADM ve CTX-1 gibi kemik metabolizması ile doğrudan ilişkili biyobelirteçlerin, modelin tahmin gücüne önemli katkı sağladığı görülmektedir. Bu bulgular, osteoporozun erken teşhisinde bu biyobelirteçlerin rutin klinik kullanımını desteklemektedir.

Osteoporozun tanı ve takibinde biyokimyasal belirteçlerin rolü giderek artmaktadır. Bu çalışmada, T3, Kortizol, Kalsiyum (Ca), ADM, OPG ve CTX-1 gibi çeşitli biyobelirteçlerin osteoporoz tanısındaki potansiyelini ROC analiziyle değerlendirdik. Bulgularımız, bu belirteçlerin her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir tanı gücüne sahip olduğunu gösterse de, klinik pratikte tek başlarına kullanılabilecek mükemmel testler olmadıklarını ortaya koymaktadır. Bir laboratuvar testinin osteoporoz gibi karmaşık bir hastalığın tanısında tek başına kullanılabilmesi için, Wians ve Obuchowski'nin (126,127) belirttiği gibi, duyarlılık ve özgüllük değerlerinin toplamının 170 veya üzerinde olması beklenir. Bu yüksek eşik, testin hem pozitif vakaları doğru bir şekilde yakalamada hem de sağlıklı bireyleri doğru bir şekilde dışlamada üstün performans sergilemesi gerektiğini vurgular. Ancak, ROC analizimizdeki hiçbir parametre bu kritik eşiği aşamamıştır.

Analiz sonuçlarına göre, T3, Kortizol ve Ca'nın duyarlılık ve özgüllük toplamları sırasıyla 127.3, 119.1 ve 128.2 olarak bulunmuştur. Kemik metabolizması belirteçleri olan ADM, OPG ve CTX-1'in toplamları ise sırasıyla 123.3, 128.9 ve 146.7'de kalmıştır. Özellikle, en yüksek AUC değerine (0.752) sahip olan ve kemik

yıkımının en güçlü göstergesi olarak bilinen CTX-1'in dahi duyarlılık ve özgüllük toplamı sadece 146.7'dir. Bu sonuç, CTX-1'in tek başına tanı koymakta yetersiz kaldığını açıkça göstermektedir.

Hastalığın heterojen yapısı ve farklı hasta popülasyonlarındaki değişkenliği göz önüne alındığında, sadece tek bir biyobelirtecin bu yüksek tanısal performansı sergilemesini beklemek gerçekçi değildir. Bu nedenle, bulgularımız biyokimyasal belirteçlerin tekil testler yerine, çoklu bir panelin parçası olarak veya klinik değerlendirme ve DEXA gibi standart tanı yöntemleriyle birlikte kullanılmasını desteklemektedir. Gelecek çalışmalar, bu belirteçlerin kombinasyonlarının veya daha yeni nesil markerların tanısal etkinliğini araştırmalı, böylece osteoporoz tanısı için daha kapsamlı ve güvenilir araçlar geliştirilmesine katkıda bulunulmalıdır.

ARAŞTIRMANIN KISITLILIKLARI

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, çalışma gruplarındaki katılımcıların osteoporozun farklı evrelerinde yer alması, biyobelirteç düzeylerinin karşılaştırılabilirliğini ve sonuçların genellenebilirliğini kısıtlamış olabilir. Bazı biyobelirteçlerin biyolojik stabilitesinin düşük olması (örneğin osteokalsin ve TNF-α), numune alma, işleme ve saklama süreçlerinden etkilenmiş olabilir. RANKL düzeyinin değerlendirilmesi planlanmasına rağmen, kullanılan ELISA kitinin optik dansite ölçümleri sağlıklı şekilde elde edilemediğinden bu parametre analiz edilememiştir. TNF-α ve SOST gibi belirteçlerin sistemik yerine daha çok lokal düzeyde etkili olması, plazma ve serum düzeylerinin hastalığın patofizyolojisini tam olarak yansıtamayabileceğini düşündürmektedir. Biyobelirteçlerin yalnızca tek bir zaman noktasında ölçülmesi, hastalık sürecindeki dinamik değişikliklerin izlenmesini engellemiştir. Tüm bu sınırlılıklar, elde edilen sonuçların yorumlanmasında dikkate alınmalıdır.

SONUÇ

Çalışmamızın istatistiksel analizleri, T3, Kortizol, Ca, ADM, OPG ve CTX-1 gibi biyobelirteçlerin osteoporozla anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, kemik metabolizmasının bir göstergesi olan CTX-1, en yüksek tanısal performansa sahipken, yeni gündeme gelen ADM'nin de osteoporoz tanısında önemli bir potansiyel biyobelirteç olduğu saptanmıştır. Ancak, bu parametrelerin hiçbirinin duyarlılık ve özgüllük toplamı, klinik pratikte tek başına tanı için gerekli olan 170 eşiğine ulaşamamıştır. Bu bulgular, tek bir biyobelirtece güvenmenin yetersiz kalacağını gösterdiğinden, osteoporozun erken tanısı ve takibi için bu belirteçlerin bir panel halinde veya standart tanı yöntemleri (DEXA) ile birlikte kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Gelecek çalışmalar, bu tür çoklu biyobelirteç panellerinin klinik etkinliğini ve prediktif değerini daha detaylı araştırmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Osteoporos Int [Internet]. 2014 Sep 26 [cited 2025 Apr 17];25(10):2359–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25182228/
2. Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: A world-wide projection. Osteoporos Int [Internet]. 1992 Nov [cited 2025 Apr 18];2(6):285–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1421796/
3. Burch J, Rice S, Yang H, Neilson A, Stirk L, Francis R, et al. Systematic review of the use of bone turnover markers for monitoring the response to osteoporosis treatment: the secondary prevention of fractures, and primary prevention of fractures in high-risk groups. Health Technol Assess [Internet]. 2014 Feb [cited 2025 Apr 18];18(11):1–180. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24534414/
4. Chesnut CH, Bell NH, Clark GS, Drinkwater BL, English SC, Johnston CC, et al. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: Urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. Am J Med [Internet]. 1997 Jan [cited 2025 Apr 18];102(1):29–37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9209198/
5. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnero P, Griesmacher A, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. Osteoporos Int [Internet]. 2011 Feb [cited 2025 Apr 18];22(2):391–420. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21184054/
6. Vasikaran S, Cooper C, Eastell R, Griesmacher A, Morris HA, Trenti T, et al. International Osteoporosis Foundation and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine position on bone marker standards in osteoporosis. Clin Chem Lab Med [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2025 Apr 18];49(8):1271–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21605012/
7. Kitamura K, Kangawa kenji, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, et al. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human

pheochromocytoma. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 1993 [cited 2025 Apr 21];192(2):553–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8387282/

8. Muff R, Born W, Fischer JA. Calcitonin, calcitonin gene-related peptide, adrenomedullin and amylin: Homologous peptides, separate receptors and overlapping biological actions. Eur J Endocrinol [Internet]. 1995 [cited 2025 Apr 30];133(1):17–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7627335/
9. Khan SQ, O'Brien RJ, Struck J, Quinn P, Morgenthaler N, Squire I, et al. Prognostic Value of Midregional Pro-Adrenomedullin in Patients With Acute Myocardial Infarction. The LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide) Study. J Am Coll Cardiol [Internet]. 2007 Apr 10 [cited 2025 Apr 30];49(14):1525–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17418290/
10. Cornish J, Callon KE, Bava U, Coy DH, Mulvey TB, Murray MAF, et al. Systemic administration of adrenomedullin(27-52) increases bone volume and strength in male mice. J Endocrinol [Internet]. 2001 [cited 2025 Apr 30];170(1):251–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11431158/
11. Bayliss L, Mahoney DJ, Monk P. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. Surg [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2025 May 6];30(2):47–53. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0263931911002705
12. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: An endocrine cell . . . and more. Endocr Rev [Internet]. 2013 [cited 2025 May 7];34(5):658–90. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23612223/
13. Mackie EJ. Osteoblasts: Novel roles in orchestration of skeletal architecture. Int J Biochem Cell Biol [Internet]. 2003 Sep 1 [cited 2025 May 7];35(9):1301–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12798343/
14. Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways. Trends Cell Biol [Internet]. 2009 Mar [cited 2025 May 7];19(3):119–29. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19208479/
15. Xu H, Duan J, Ning D, Li J, Liu R, Yang R, et al. Role of Wnt signaling in

fracture healing. BMB Rep [Internet]. 2014 [cited 2025 May 7];47(12):666–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25301020/

16. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. Biomed Res Int [Internet]. 2015 [cited 2025 May 6];2015:421746. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4515490/
17. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. Arthritis Res Ther [Internet]. 2007 Jun 29 [cited 2025 May 7];9(SUPPL.1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17634140/
18. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. Nature [Internet]. 2003 May 15 [cited 2025 May 7];423(6937):337–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12748652/
19. Xiong J, Onal M, Jilka RL, Weinstein RS, Manolagas SC, O'Brien CA. Matrix-embedded cells control osteoclast formation. Nat Med [Internet]. 2011 Oct [cited 2025 May 6];17(10):1235–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21909103/
20. KUTLU M, ODABAŞI E. Kemik Doku ve Fizyolojisi. Türkiye Klin Endokrinol Derg [Internet]. 2004 [cited 2025 May 6];2(2):73–89. Available from: https://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-kemik-doku-ve-fizyolojisi-35677.html
21. D'Aquino R, Papaccio G, Laino G, Graziano A. Dental pulp stem cells: A promising tool for bone regeneration. Stem Cell Rev [Internet]. 2008 Mar [cited 2025 May 9];4(1):21–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18300003/
22. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci [Internet]. 2006 [cited 2025 May 9];1092:385–96. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17308163/
23. Zhang Y, Kumagai K, Saito T. Effect of parathyroid hormone on early chondrogenic differentiation from mesenchymal stem cells. J Orthop Surg Res [Internet]. 2014 Aug 1 [cited 2025 May 10];9(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25079095/
24. AlQahtani A, Parsyan A, Payne R, Tabah R. Parathyroid hormone levels 1 hour

after thyroidectomy: An early predictor of postoperative hypocalcemia. Can J Surg [Internet]. 2014 [cited 2025 May 10];57(4):237–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25078927/

25. Huang DC, Yang XF, Ochietti B, Fadhil I, Camirand A, Kremer R. Parathyroid hormone-related protein: Potential therapeutic target for melanoma invasion and metastasis. Endocrinol (United States) [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2025 May 10];155(10):3739–49. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25051432/
26. Miyakoshi N. Effects of Parathyroid Hormone on Cancellous Bone Mass and Structure in Osteoporosis. Curr Pharm Des [Internet]. 2005 Mar 18 [cited 2025 May 10];10(21):2615–27. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15320749/
27. Huang JC, Sakata T, Pfleger LL, Bencsik M, Halloran BP, Bikle DD, et al. PTH Differentially Regulates Expression of RANKL and OPG. J Bone Miner Res [Internet]. 2004 Feb [cited 2025 May 10];19(2):235–44. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14969393/
28. Bergström I, Palmér M, Persson J, Blanck A. Observational study of vitamin D levels and pain in pregnant immigrant women living in Sweden. Gynecol Endocrinol [Internet]. 2014 Jan [cited 2025 Oct 20];30(1):74–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24292616/
29. Rosa B V., Blair HT, Vickers MH, Dittmer KE, Morel PCH, Knight CG, et al. Moderate exercise during pregnancy in Wistar rats alters bone and body composition of the adult offspring in a sex-dependent manner. PLoS One [Internet]. 2013 Dec 5 [cited 2025 May 10];8(12). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24340022/
30. Møller UK, Streym S, Mosekilde L, Heickendorff L, Flyvbjerg A, Frystyk J, et al. Changes in calcitropic hormones, bone markers and insulin-like growth factor i (IGF-I) during pregnancy and postpartum: A controlled cohort study. Osteoporos Int [Internet]. 2013 Apr [cited 2025 May 10];24(4):1307–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22855199/
31. Manolagas SC, Jilka RL. Bone Marrow, Cytokines, and Bone Remodeling — Emerging Insights into the Pathophysiology of Osteoporosis. N Engl J Med

[Internet]. 1995 Feb 2 [cited 2025 May 10];332(5):305–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7816067/

32. Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. Ann Intern Med [Internet]. 1998 Jan 15 [cited 2025 May 10];128(2):127–37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9441573/
33. Amarasekara DS, Kim S, Rho J. Regulation of osteoblast differentiation by cytokine networks. Int J Mol Sci [Internet]. 2021 Mar 2 [cited 2025 May 10];22(6):1–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33799644/
34. Xu J, Yu L, Liu F, Wan L, Deng Z. The effect of cytokines on osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling in osteoporosis: a review. Front Immunol [Internet]. 2023 [cited 2025 May 10];14. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37475866/
35. Salaffi F, Silveri F, Stancati A, Grassi W. Development and validation of the osteoporosis prescreening risk assessment (OPERA) tool to facilitate identification of women likely to have low bone density. Clin Rheumatol [Internet]. 2005 Jun [cited 2025 Oct 20];24(3):203–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15549501/
36. Kerschan-Schindl K, Uher E, Grampp S, Kaider A, Ghanem AH, Fialka-Moser V, et al. A neuromuscular test battery for osteoporotic women: A pilot study. Am J Phys Med Rehabil [Internet]. 2001 [cited 2025 May 5];80(5):351–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11327557/
37. Kanis JA, McCloskey E V., Johansson H, Strom O, Borgstrom F, Oden A, et al. Case finding for the management of osteoporosis with FRAX® - Assessment and intervention thresholds for the UK. Osteoporos Int [Internet]. 2008 [cited 2025 May 6];19(10):1395–408. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18751937/
38. Üstündağ N, Korkmaz M, Öksüzkaya A, Balbaloğlu Ö. Osteoporozun Tanı Yöntemleri, Komplikasyonları ve Maliyetinin Değerlendirilmesi. Bozok Tıp Derg [Internet]. 2013 Mar 1 [cited 2025 May 5];3(1). Available from: https://dergipark.org.tr/tr/pub/bozoktip/issue/3784/50542
39. Khan A. Management of Low Bone Mineral Density in Premenopausal Women.

J Obstet Gynaecol Canada [Internet]. 2005 [cited 2025 Oct 20];27(4):345–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15937608/

40. Faulkner KG. Update on bone density measurement. Rheum Dis Clin North Am [Internet]. 2001 [cited 2025 May 5];27(1):81–99. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11286001/

41. Kanis, J.A. (2008) Assessment of Osteoporosis at the Primary Health Care Level. WHO Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield Medical School; Printed by the University of Sheffield, 6 p. - References - Scientific Research Publishing [Internet]. [cited 2025 May 6]. Available from: https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2287332

42. Schousboe JT, Shepherd JA, Bilezikian JP, Baim S. Executive Summary of the 2013 International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on Bone Densitometry. J Clin Densitom [Internet]. 2013 Oct [cited 2025 May 6];16(4):455–66. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24183638/

43. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Osteoporos Int [Internet]. 2014 Sep 26 [cited 2025 May 6];25(10):2359–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25182228/

44. LeBoff MS, Greenspan SL, Insogna KL, Lewiecki EM, Saag KG, Singer AJ, et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. Osteoporos Int [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2025 May 6];33(10):2049–102. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35478046/

45. Kirazlı Y, Funda &, Çalış A, El Ö, Kutsal YG, Peker Ö, et al. Updated approach for the management of osteoporosis in Turkey: a consensus report. [cited 2025 May 5]; Available from: https://doi.org/10.1007/s11657-020-00799-0

46. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. J Bone Miner Res [Internet]. 1993 Dec 1 [cited 2025 May 8];8(2 S):S549–55. Available from: /doi/pdf/10.1002/jbmr.5650081323

47. Van Hoof VO, De Broe ME. Interpretation and clinical significance of alkaline phosphatase isoenzyme patterns. Crit Rev Clin Lab Sci [Internet]. 1994 [cited

2025 Oct 20];31(3):197–293. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7818774/

48. Woitge HW, Seibel MJ, Ziegler R. Comparison of total and bone-specific alkaline phosphatase in patients with nonskeletal disorders or metabolic bone diseases. Clin Chem [Internet]. 1996 [cited 2025 Oct 20];42(11):1796–804. Available from: https://www.semanticscholar.org/paper/Comparison-of-total-and-bone-specific-alkaline-in-Woitge-Seibel/a1452b1c45761ee193811a040fe5fc3183dc362d
49. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. The use of biochemical markets of bone turnover in osteoporosis. Osteoporos Int [Internet]. 2000 [cited 2025 May 8];11(SUPPL. 6). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11193237/
50. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine Regulation of Energy Metabolism by the Skeleton. Cell [Internet]. 2007 Aug 10 [cited 2025 May 5];130(3):456–69. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17693256/
51. Chow J, Tobias JH, Colston KW, Chambers TJ. Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation. J Clin Invest [Internet]. 1992 [cited 2025 May 5];89(1):74–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1729283/
52. Lumachi F, Santeufemia DA, Del Conte A, Mazza F, Tozzoli R, Chiara GB, et al. Carboxy-terminal telopeptide (CTX) and amino-terminal propeptide (PINP) of type I collagen as markers of bone metastases in patients with non-small cell lung cancer. Anticancer Res [Internet]. 2013 Jun 1 [cited 2025 May 8];33(6):2593–6. Available from: https://europepmc.org/article/MED/23749913
53. Ligand R, Biyokimya Dergisi T, Kurban S, Mehmetoğlu İ, Üniversitesi S, Tıp Fakültesi M, et al. Osteoprotegerin, Rank ve Rank Ligandı [Internet]. Vol. 32, Turkish Journal of Biochemistry-Turk J Biochem). 2007 [cited 2025 May 8]. p. 178–84. Available from: http://www.trdizin.gov.tr/publication/paper/detail/T0RFMk1USXk=
54. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyonda Yeni Ufuklar Osteoporoz – Yeşim Gökçe

[Internet]. [cited 2025 May 8]. Available from: https://www.hipokratkitabevi.com/fiziksel-tip-ve-rehabilitasyonda-yeni-ufuklar-osteoporoz-yesim-gokce-kutsal

55. Tekin Y, Erkin Bozdemir A, Barutçuo B, Üniversitesi Tp Fakültesi E, Anabilim Dal B, Biyokimya Bilim Dal ÖZET K. Osteoporoz Tan›s›nda Kullan›lan Biyokimyasal Göstergeler Biochemical Markers and Their Affecting Factors in Assessing Osteoporosis. [cited 2025 May 8]; Available from: https://www.researchgate.net/publication/337561495_Osteoporoz_Tanisinda_Kullanilan_Biyokimyasal_Gostergeler_Biochemical_Markers_and_Their_Affecting_Factors_in_Assessing_Osteoporosis

56. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. J Bone Miner Res [Internet]. 1996 [cited 2025 May 8];11(3):337–49. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8852944/

57. Eyre DR. Acta Orthopaedica Scandinavica The specificity of collagen cross-links as markers of bone and connective tissue degradation. 2009 [cited 2025 May 8]; Available from: https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iort20

58. Janckila AJ, Slone SP, Lear SC, Martin A, Yam LT. Tartrate-resistant acid phosphatase as an immunohistochemical marker for inflammatory macrophages. Am J Clin Pathol [Internet]. 2007 Apr [cited 2025 Oct 20];127(4):556–66. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17369130/

59. Hammett-Stabler CA. The use of biochemical markers in osteoporosis. Clin Lab Med [Internet]. 2004 Mar [cited 2025 May 9];24(1):175–97. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15157562/

60. van der Sluis I. Children’s bone health [Internet]. 2002 [cited 2025 May 9]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/254806486_Children’s_bone_health

61. Herrmann M, Seibel M. The amino- and carboxyterminal cross-linked telopeptides of collagen type I, NTX-I and CTX-I: A comparative review. Clin Chim Acta [Internet]. 2008 Jul 17 [cited 2025 May 9];393(2):57–75. Available

from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18423400/

62. Patrick G, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: The OFELY study. J Bone Miner Res [Internet]. 2000 [cited 2025 May 9];15(8):1526–36. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10934651/

63. Costa AG, Cremers S, Dworakowski E, Lazaretti-Castro M, Bilezikian JP. Comparison of two commercially available ELISAs for circulating sclerostin. Osteoporos Int [Internet]. 2014 May 1 [cited 2025 May 9];25(5):1547–54. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24562839/

64. Li X, Zhang Y, Kang H, Liu W, Liu P, Zhang J, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. J Biol Chem [Internet]. 2005 May 20 [cited 2025 May 9];280(20):19883–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15778503/

65. Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Ishimitsu T, Eto T, Kangawa K, et al. Increased plasma levels of adrenomedullin in patients with heart failure. J Am Coll Cardiol [Internet]. 1995 Nov 15 [cited 2025 May 5];26(6):1424–31. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7594065/

66. (PDF) Adrenomedullin - What do we know 10 years since its discovery? [Internet].[cited2025May5].Availablefrom:https://www.researchgate.net/publication/8652837_Adrenomedullin__What_do_we_know_10_years_since_its_discovery

67. Zimmermann U, Fischer JA, Muff R. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide interact with the same receptor in cultured human neuroblastoma SK-N-MC cells. Peptides [Internet]. 1995 [cited 2025 Apr 30];16(3):421–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7651894/

68. Li C, Renz N, Trampuz A. Management of Periprosthetic Joint Infection. Hip pelvis [Internet]. 2018 Sep [cited 2025 Apr 30];30(3):138–46. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30202747/

69. McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, et al. RAMPS regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin- receptor-like receptor. Nature [Internet]. 1998 May 28 [cited 2025 Apr

30];393(6683):333–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9620797/

70. Kiriyama Y, Nochi H. Role and cytotoxicity of amylin and protection of pancreatic islet β-cells from amylin cytotoxicity. Cells [Internet]. 2018 Aug 6 [cited 2025 Apr 30];7(8). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30082607/

71. Liu Y, Zuo G, Meng X, Gao X, Zhang L, Tang P. Adrenomedullin inhibits osteoclast differentiation through the suppression of receptor activator of nuclear factor-κB ligand-induced nuclear factor-κB activation in glucocorticoid-induced osteoporosis. Exp Ther Med [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2025 Apr 30];14(5):4009–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29067096/

72. Iesato Y, Yuda K, Chong KTY, Tan X, Murata T, Shindo T, et al. Adrenomedullin: A potential therapeutic target for retinochoroidal disease. Prog Retin Eye Res [Internet]. 2016 May 1 [cited 2025 May 2];52:112–29. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26791747/

73. Cornish J, Callon KE, Coy DH, Jiang NY, Xiao L, Cooper GJS, et al. Adrenomedullin is a potent stimulator of osteoblastic activity in vitro and in vivo. Am J Physiol - Endocrinol Metab [Internet]. 1997 [cited 2025 May 2];273(6 36-6). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9435526/

74. Ah Kioon MD, Asensio C, Ea HK, Velard F, Uzan B, Rullé S, et al. Adrenomedullin(22-52) combats inflammation and prevents systemic bone loss in murine collagen-induced arthritis. Arthritis Rheum [Internet]. 2012 [cited 2025May2];64(4):106981.Availablefrom:https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22006509/

75. Cornish J, Naot D. Amylin and Adrenomedullin: Novel Regulators of Bone Growth. Curr Pharm Des [Internet]. 2005 Mar 25 [cited 2025 Oct 8];8(23):2009–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12171515/

76. Ishimitsu T, Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Eto T, Kangawa K, et al. Plasma levels of adrenomedullin, a newly identified hypotensive peptide, in patients with hypertension and renal failure. J Clin Invest [Internet]. 1994 [cited 2025 Oct 20];94(5):2158–61. Available from:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7962564/

77. Witz K, Hinkle DE, Wiersma W, Jurs SG. Applied Statistics for the Behavioral Sciences. J Educ Stat [Internet]. 1990 [cited 2025 Oct 9];15(1):84. Available from: https://www.jstor.org/stable/1164825

78. Klibanski A, Adams-Campbell L, Bassford T, Blair SN, Boden SD, Dickersin K, et al. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA [Internet]. 2001 Feb 14 [cited 2025 Oct 20];285(6):785–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11176917/

79. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. Osteoporos Int [Internet]. 2019 Jan 18 [cited 2025 Oct 8];30(1):3–44. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30324412/

80. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: Now and the future. Lancet [Internet]. 2011 [cited 2025 Oct 8];377(9773):1276–87. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21450337/

81. Lewiecki EM. New targets for intervention in the treatment of postmenopausal osteoporosis. Nat Rev Rheumatol [Internet]. 2011 Nov [cited 2025 Oct 8];7(11):631–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21931340/

82. Reginster JY, Burlet N. Osteoporosis: A still increasing prevalence. Bone [Internet]. 2006 [cited 2025 Oct 8];38(2 SUPPL. 1):4–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16455317/

83. Halupczok-Żyła J, Jawiarczyk-Przybyłowska A, Bolanowski M. Sclerostin and OPG/RANK-L system take part in bone remodeling in patients with acromegaly. Front Endocrinol (Lausanne) [Internet]. 2024 [cited 2025 Oct 8];15. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39741885/

84. Wanby P, Nobin R, Von SP, Brudin L, Carlsson M. Serum levels of the bone turnover markers dickkopf-1, sclerostin, osteoprotegerin, osteopontin, osteocalcin and 25-hydroxyvitamin D in Swedish geriatric patients aged 75 years or older with a fresh hip fracture and in healthy controls. J Endocrinol Invest [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2025 Oct 8];39(8):855–63. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26850415/

85. Szulc P, Naylor K, Hoyle NR, Eastell R, Leary ET. Use of CTX-I and PINP as

bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability. Osteoporos Int [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2025 Oct 8];28(9):2541–56. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28631236/

86. Dalemo S, Eggertsen R, Hjerpe P, Almqvist EG, Boström KB. Bone mineral density in primary care patients related to serum calcium concentrations: a longitudinal cohort study from Sweden. Scand J Prim Health Care [Internet]. 2018 Apr 3 [cited 2025 Oct 9];36(2):198–206. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29623754/

87. Voulgaridou G, Papadopoulou SK, Detopoulou P, Tsoumana D, Giaginis C, Kondyli FS, et al. Vitamin D and Calcium in Osteoporosis, and the Role of Bone Turnover Markers: A Narrative Review of Recent Data from RCTs. Dis 2023, Vol 11, Page 29 [Internet]. 2023 Feb 8 [cited 2025 Oct 9];11(1):29. Available from: https://www.mdpi.com/2079-9721/11/1/29/htm

88. Voulgaridou G, Papadopoulou SK, Detopoulou P, Tsoumana D, Giaginis C, Kondyli FS, et al. Vitamin D and Calcium in Osteoporosis, and the Role of Bone Turnover Markers: A Narrative Review of Recent Data from RCTs. Dis (Basel, Switzerland) [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2025 Oct 9];11(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36810543/

89. Duncan Bassett JH, Williams GR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. Endocr Rev [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2025 Oct 8];37(2):135–87. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26862888/

90. Abe E, Marians RC, Yu W, Wu X Bin, Ando T, Li Y, et al. TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. Cell [Internet]. 2003 Oct 17 [cited 2025 Oct 8];115(2):151–62. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14567913/

91. Zhang L, Ma C, Yin X, Zhang F, Fang X, Zhang C, et al. Association between thyroid function and osteopenia or osteoporosis: a cross-sectional study in China. Sci Rep [Internet]. 2025 Dec 1 [cited 2025 Oct 8];15(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40335568/

92. [Role of cortisol hypersecretion in the pathogenesis of osteoporosis] - PubMed [Internet]. [cited 2025 Oct 8]. Available from:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18710063/

93. Heshmati HM, Riggs BL, Burritt MF, Mcalister CA, Wollan PC, Khosla S. Effects of the circadian variation in serum cortisol on markers of bone turnover and calcium homeostasis in normal postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1998 Mar 1 [cited 2025 Oct 8];83(3):751–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9506720/

94. Hardy R, Cooper MS. Adrenal gland and bone. Arch Biochem Biophys [Internet]. 2010 Nov [cited 2025 Oct 8];503(1):137–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20542010/

95. Raff H, Raff JL, Duthie EH, Wilson CR, Sasse EA, Rudman I, et al. Elevated salivary cortisol in the evening in healthy elderly men and women: correlation with bone mineral density. J Gerontol A Biol Sci Med Sci [Internet]. 1999 [cited 2025 Oct 8];54(9). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10536652/

96. Genetic influence of vitamin D receptor gene polymorphisms on osteoporosis risk - PubMed [Internet]. [cited 2025 Oct 8]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32694969/

97. Hsu CY, Chen LR, Chen KH. Osteoporosis in Patients with Chronic Kidney Diseases: A Systemic Review. Int J Mol Sci [Internet]. 2020 Sep 2 [cited 2025 Oct 8];21(18):1–24. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32961953/

98. Cornish J, Callon KE, Coy DH, Jiang NY, Xiao L, Cooper GJS, et al. Adrenomedullin is a potent stimulator of osteoblastic activity in vitro and in vivo. Am J Physiol [Internet]. 1997 [cited 2025 Oct 8];273(6). Available from: https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpendo.1997.273.6.E1113

99. Cornish J, Naot D, Reid IR. Adrenomedullin - A regulator of bone formation. Regul Pept [Internet]. 2003 Apr 15 [cited 2025 Oct 8];112(1–3):79–86. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12667628/

100. Nagaya N, Nishikimi T, Horio T, Yoshihara F, Kanazawa A, Matsuo H, et al. Cardiovascular and renal effects of adrenomedullin in rats with heart failure. Am J Physiol [Internet]. 1999 [cited 2025 Oct 8];276(1). Available from: https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpregu.1999.276.1.R213

101. Ebara T, Miura K, Okumura M, Matsuura T, Kim S, Yukimura T, et al. Effect of

adrenomedullin on renal hemodynamics and functions in dogs. Eur J Pharmacol [Internet]. 1994 Sep 22 [cited 2025 Oct 8];263(1–2):69–73. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7821363/

102. Dai HB, Wang FZ, Kang Y, Sun J, Zhou H, Gao Q, et al. Adrenomedullin Attenuates Inflammation in White Adipose Tissue of Obese Rats Through Receptor-Mediated PKA Pathway. Obesity (Silver Spring) [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 Oct 8];29(1):86–97. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32985779/
103. Liu Y, Zuo G, Meng X, Gao X, Zhang L, Tang P. Adrenomedullin inhibits osteoclast differentiation through the suppression of receptor activator of nuclear factor-κB ligand-induced nuclear factor-κB activation in glucocorticoid-induced osteoporosis. Exp Ther Med [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2025 Oct 8];14(5):4009–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29067096/
104. Naot D, Cornish J. The role of peptides and receptors of the calcitonin family in the regulation of bone metabolism. Bone [Internet]. 2008 Nov [cited 2025 Oct 8];43(5):813–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18687416/
105. Nuki C, Kawasaki H, Kitamura K, Takenaga M, Kangawa K, Eto T, et al. Vasodilator effect of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in rat mesenteric vascular beds. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 1993 Oct 15 [cited 2025 Oct 8];196(1):245–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8216298/
106. Cornish J, Callon KE, King AR, Cooper GJS, Reid IR. Systemic administration of amylin increases bone mass, linear growth, and adiposity in adult male mice. Am J Physiol [Internet]. 1998 [cited 2025 Oct 8];275(4). Available from: https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpendo.1998.275.4.E694
107. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnero P, Griesmacher A, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: A need for international reference standards. Osteoporos Int [Internet]. 2011 Feb [cited 2025 Oct 8];22(2):391–420. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21184054/

108. Giustina A, Angeli A, Canalis E, editors. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. 2002 Jan 24 [cited 2025 Oct 8];30. Available from: https://karger.com/books/book/2398/Glucocorticoid-Induced-Osteoporosis
109. Lane NE, Lukert B. The science and therapy of glucocorticoid-induced bone loss. Endocrinol Metab Clin North Am [Internet]. 1998 [cited 2025 Oct 8];27(2):465–83. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9669150/
110. Stewart AF. Clinical practice. Hypercalcemia associated with cancer. N Engl J Med [Internet]. 2005 Jan 27 [cited 2025 Oct 8];352(4):373–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15673803/
111. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. J Clin Invest [Internet]. 2005 Dec [cited 2025 Oct 8];115(12):3318–25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16322775/
112. Price PA, Baukol SA. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases serum levels of the vitamin K-dependent bone protein. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 1981 Apr 15 [cited 2025 Oct 8];99(3):928–35. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6972763/
113. Christensen GL, Halgreen JR, Milenkovski M, Köse A, Quardon N, Jørgensen NR. Bone turnover markers are differentially affected by pre-analytical handling. Osteoporos Int [Internet]. 2019 May 1 [cited 2025 Oct 20];30(5):1137–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30680430/
114. Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and Paradoxical Effects of TNF-α on Bone Homeostasis. Front Immunol [Internet]. 2014 [cited 2025 Oct 9];5(FEB). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24592264/
115. Sözen T, Özışık L, Çalık Başaran N. An overview and management of osteoporosis. Eur J Rheumatol [Internet]. 2017 Sep 3 [cited 2025 Oct 9];4(1):46–56. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28293453/
116. Freeman C, Merlyn MD, A. S P. Unraveling the Intricacies of OPG/RANKL/RANK Biology and Its Implications in Neurological Disorders-A Comprehensive Literature Review. Mol Neurobiol [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2025 Oct 9];61(12):10656–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38777981/

117. Liu Y, Zuo G, Meng X, Gao X, Zhang L, Tang P. Adrenomedullin inhibits osteoclast differentiation through the suppression of receptor activator of nuclear factor-κB ligand-induced nuclear factor-κB activation in glucocorticoid-induced osteoporosis. Exp Ther Med [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2025 Oct 9];14(5):4009–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29067096/

118. Cornish J, Naot D, Reid IR. Adrenomedullin - A regulator of bone formation. Regul Pept [Internet]. 2003 Apr 15 [cited 2025 Oct 9];112(1–3):79–86. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12667628/

119. Kukita T, Hiura H, Gu JY, Zhang JQ, Kyumoto-Nakamura Y, Uehara N, et al. Modulation of osteoclastogenesis through adrenomedullin receptors on osteoclast precursors: initiation of differentiation by asymmetric cell division. Lab Investig [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2025 Oct 9];101(11):1449–57. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34611305/

120. Tuchendler D, Bolanowski M. The influence of thyroid dysfunction on bone metabolism. Thyroid Res [Internet]. 2014 Dec 20 [cited 2025 Oct 9];7(1):1–5. Available from: https://thyroidresearchjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13044-014-0012-0

121. Guo W, Li F, Zhu C, Wang B, Wang K, Dai C, et al. Effect of hypercortisolism on bone mineral density and bone metabolism: A potential protective effect of adrenocorticotropic hormone in patients with Cushing's disease. J Int Med Res [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2025 Oct 9];46(1):492–503. Available from: https://scholar.google.com/scholar_url?url=https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300060517725660&hl=tr&sa=T&oi=ucasa&ct=ufr&ei=4XLnaIjwCNvTieoP7KvO-Q8&scisig=AAZF9b-MtS0xOXDKYzCidy3NKBym

122. Tsourdi E, Lademann F, Siggelkow H. [Impact of thyroid diseases on bone]. Internist (Berl) [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2025 Oct 9];59(7):661–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29744522/

123. MarcocciC,CianferottiL,CetaniF. Bone disease in primary hyperparathyrodism. TherAdvMusculoskeletDis[Internet].2012[cited2025Oct9];4(5):357.Availablefrom:https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3458615/

124. Seckinger A, Meißner T, Bertsch U, Salwender H, Dürig J, Hänel M, et al. Bone Turnover In Multiple Myeloma: Impact Of Bortezomib-Based Induction Therapy, High-Dose Melphalan, and Lenalidomide Consolidation On Osteoblast and Osteoclast Function Within The GMMG-MM5 Trial. Blood [Internet]. 2013 Nov 15 [cited 2025 Oct 9];122(21):1863–1863. Available from: https://dx.doi.org/10.1182/blood.V122.21.1863.1863

125. Sobh MM, Abdalbary M, Elnagar S, Nagy E, Elshabrawy N, Abdelsalam M, et al. Secondary Osteoporosis and Metabolic Bone Diseases. J Clin Med [Internet]. 2022 May 1 [cited 2025 Oct 9];11(9):2382. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9102221/

126. Wians FH. Clinical Laboratory Tests: Which, Why, and What Do The Results Mean? Lab Med [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2025 Oct 9];40(2):105–13. Available from: https://dx.doi.org/10.1309/LM4O4L0HHUTWWUDD

127. Obuchowski NA, Lieber ML, Wians FH. ROC curves in clinical chemistry: uses, misuses, and possible solutions. Clin Chem [Internet]. 2004 Jul [cited 2025 Oct 9];50(7):1118–25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15142978/

EK 3. Tez Çalışma Tasarımının STROBE Kılavuzuna Göre Uygunluğu

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of ***cohort studies***

	Item No	Recommendation	Page No
Title and abstract	1	(*a*) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract (*b*) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	i-xv
Introduction			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	1-2
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	2
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	17-18
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	18
Participants	6	(*a*) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up (*b*) For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed	18-21
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	21-24
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	24-27
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	21/26-27/79
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	28
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	21-23
Statistical methods	12	(*a*) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding (*b*) Describe any methods used to examine subgroups and interactions (*c*) Explain how missing data were addressed	27-28

1

		(*d*) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed (*e*) Describe any sensitivity analyses	
Results			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed (b) Give reasons for non-participation at each stage (c) Consider use of a flow diagram	21/23/
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest (c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	28-29 23-24
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures over time	28-73

Main results	16	(*a*) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included (*b*) Report category boundaries when continuous variables were categorized (*c*) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	47-68
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	24-26
Discussion			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	79-80
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	78-79
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	73-79
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	73/77
Other information			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	18

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at http://www.plosmedicine.org/, Annals of Internal Medicine at http://www.annals.org/, and Epidemiology at http://www.epidem.com/). Information on the STROBE Initiative is available at http://www.strobe-statement.org.