



# Türk postmenopozal kadınlarda osteoporoz ve kırık riskinin öngörülmesinde kollajen tip 1 alfa 1 gen polimorfizminin rolü

## The role of the collagen type 1 alpha 1 gene polymorphism in the prediction of osteoporosis and fracture risk in Turkish postmenopausal women

İlknur Saban,<sup>1</sup> Haydar Gök,<sup>2</sup> Sena Aydos,<sup>3</sup> Aynur Karadağ,<sup>3</sup> Tülin Özkan,<sup>3</sup> Peyman Yalçın,<sup>2</sup> Asuman Sunguroğlu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Geliş tarihi / Received: Ocak 2014 Kabul tarihi / Accepted: Nisan 2015

### Öz

**Amaç:** Bu pilot çalışmada, kollajen tip 1 alfa 1 (COL1A1) gen polimorfizminin Türk postmenopozal osteoporozlu kadınlarda kemik mineral yoğunluğu ve vertebra kırıkları için öngördürücü bir faktör olup olmadığı araştırıldı.

**Hastalar ve yöntemler:** Ekim 2007-Şubat 2010 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon polikliniğine ardışık başvuran 170 postmenopozal kadın (ort. yaş: 59 yıl; dağılım, 40-75 yıl) çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalarda Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) yöntemi ile lomber vertebra (L1-4) ve femur boynunda kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçümü ve vertebral kırık değerlendirimi yapıldı. 170 kadının 113'ünde (hasta grubu) DSÖ sınıflamasına göre primer osteoporoz tanısı konuldu. Kalan 57 kadın kontrol grubu olarak belirlendi. Tüm hastaların genetik analizi yapılarak periferik kandan elden edilen DNA örneklerinde PCR yöntemi ile COL1A1 gen polimorfizmi araştırıldı. İncelenen faktörlerin (polimorfizm, yaş, menopoz süresi, vücut kitle indeksi (VKİ), sigara içme, düşük kalsiyum alımı, hafif ila orta günlük aktivite düzeyi) kırık riski ve KMY'nu belirlemedeki rolünü ortaya koymak amacıyla ikili lojistik ve doğrusal regresyon analizleri yapıldı. Hasta ve kontrol grubundaki alel oranlarının Hardy Weinberg eşitliğine uygun olup olmadığı değerlendirildi. Allelere göre ayrılan gruplar arasında (GG, GT, TT) klinik parametreler açısından fark olup olmadığı incelendi.

**Bulgular:** Alel oranları Hardy-Weinberg eşitliğine uyumlu idi: GG %62.9 (n=107), GT %35.3 (n=60), TT %1.8 (n=3). Hastaların 49'unda (%43) radyolojik olarak vertebral kırık tespit edildi.

**Sonuç:** Çalışma sonuçlarımız, COL1A1 gen polimorfizmi ile kemik mineral yoğunluğu ve vertebral kırıklar arasında ilişki olmadığını göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Kemik mineral yoğunluğu; COL1A1 geni; polimorfizm; postmenopozal osteoporoz; vertebral kırık.

### ABSTRACT

**Objectives:** In this pilot study, we investigated whether the collagen type 1 alpha 1 (COL1A1) gene polymorphism is a predictor factor for bone mineral density and vertebral fractures in Turkish women with postmenopausal osteoporosis.

**Patients and methods:** October 2007 and February 2010, a total of 170 consecutive postmenopausal women (mean age 59 years; range, 40 to 75 years) referring to the Physical Therapy and Rehabilitation outpatient clinic, School of Medicine, Ankara University were included in the study. All patients had bone mineral density (BMD) measurement by Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) at the lomber vertebra (L1-4) and femoral neck as well as vertebral fracture assessment. Of 170 women, 113 were diagnosed as postmenopausal osteoporosis based on the World Health Organization criteria. Remaining 57 women were assigned as the control group. All patients had genetic analysis of DNA samples from peripheral blood with respect to COL1A1 gene polymorphism by PCR method. Binary and linear regression analyses were done to reveal the role of evaluated factors (polymorphism, age, menopause duration, body mass index (BMI), smoking, low calcium intake, daily mild to moderate physical activity) in predicting fracture risk and BMD. Allele ratios found in the patient and control groups were searched for compatibility with the Hardy Weinberg equality. The allele groups (GG, GT, TT) were examined whether there is any difference with respect to clinical parameters.

**Results:** The rate of allele was consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium: GG 62.9% (n=107), GT 35.3% (n=60), and TT 1.8% (n=3). Of the patients, 49 (43%) had radiographically vertebral fractures.

**Conclusion:** Our study results suggest that there is no relationship between the COL1A1 gene polymorphism and bone mineral density and vertebral fractures.

**Keywords:** Bone mineral density; COL1A1 gene; polymorphism; postmenopausal osteoporosis; vertebral fracture.

**İletişim adresi / Corresponding author:** Dr. İlknur Saban. Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, 06200 Yenimahalle, Ankara, Türkiye.

e-posta / e-mail: ilknur\_saban@mynet.com

Cite this article as:

Saban İ, Gök H, Aydos S, Karadağ A, Özkan T, Yalçın P, Sunguroğlu A. The role of the collagen type 1 alpha 1 gene polymorphism in the prediction of osteoporosis and fracture risk in Turkish postmenopausal women. [Article in Turkish] Turk J Phys Med Rehab 2016;62:1-8.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tanımına göre osteoporoz "Düşük kemik kütlesi, kemik dokunun mikromimari yapısı ve kalitesinde bozulma ve kırık riskinde artışa yol açan azalmış kemik gücü ile karakterize, sistemik bir iskelet hastalığıdır".<sup>[1]</sup> Osteoporoz en sık görülen metabolik kemik hastalığıdır. Mevcut sağlık koşullarındaki iyileşme ve buna bağlı olarak insanın yaşam beklentisindeki artış günümüzde osteoporozla bağlı kırıkları önemli bir sağlık sorunu haline getirmiştir. Osteoporotik kırıklar sonrası oluşan kronik ağrı, uzun süreli özürüllüğe ve yaşam kalitesinde bozulmaya neden olmakta, mortalite ve morbiditeyi artırmaktadır.<sup>[2]</sup> Çift enerji X-ışın absorpsiyometrisi (DXA) kırık riskini belirlemede altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir ancak kırık tahmini yapmakta tek başına yetersiz kalmaktadır.<sup>[3]</sup> Osteoporotik kırıkların tedavi maliyeti, yaşam kalitesi üzerine olan olumsuz etkileri ve mortalite oranları göz önüne alındığında risk altındaki bireylerin belirlenmesi ve koruyucu önlemlerin alınması giderek önem kazanmaktadır.

Osteoporozun genetik bir hastalık olduğuna ilişkin pek çok veri bulunmaktadır. Çeşitli ikiz ve aile çalışmaları kemik oluşumunda genetik faktörlerin önemli etkisinin olduğunu göstermiştir.<sup>[4,5]</sup> Genetik faktörler çevresel faktörlerin de etkisi ile birlikte kemik kütlesi ve bileşimini %50-80 oranında etkilemektedir.<sup>[6]</sup> Genetik epidemiyolojik çalışmalarda aile öyküsünde maternal kırık olan kadınlarda kırık riskinin arttığı gösterilmiştir.<sup>[7-9]</sup> Gen-çevre etkileşimi, genetik faktörlerin yanında diyet, egzersiz, güneş ışığına maruz kalma gibi etmenleri de içermektedir.<sup>[10]</sup> Son yıllarda değişik toplumlarda yapılan çalışmalarda kollajen tip 1 alfa 1 (COL1A1) gen polimorfizmi ile osteoporotik kırık ve kemik mineral yoğunluğu (KMY) arasındaki ilişki araştırılmış ve birçok çalışmada anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.<sup>[7-9]</sup> COL1A1 Sp1 polimorfizmi sonucu DNA bağlanma afinitesi, kollajen transkripsiyonu ve kollajen protein üretimi etkilenmektedir ve sonuçta kollajen tip 1 alfa 1 ve alfa 2 zincirlerinin 2:1 oranının bozulmasına neden olmaktadır.<sup>[7]</sup> COL1A1 geni osteoporoz ve gen ilişkisi en fazla araştırılan genlerden biridir.<sup>[11]</sup>

Türk toplumunda COL1A1 gen polimorfizmi ve osteoporoz arasındaki ilişkiye dair çalışmalar sınırlı sayıdadır.<sup>[12-15]</sup> Bu çalışmada postmenopozal kadınlarda KMY ve vertebral kırık riskinin belirlenmesinde COL1A1 gen polimorfizminin rolü araştırılmıştır.

## HASTALAR VE YÖNTEMLER

Ekim 2007 - Şubat 2010 tarihleri arasında yapılan ve pilot niteliğinde olan bu çalışmada, Ankara

Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon polikliniğine başvuran ardışık 200 postmenopozal kadın (ort. yaş 59 yıl; dağılım 40-75 yıl) değerlendirildi. Postmenopozal dönemde olup kemik metabolizmasını etkileyebilecek ilaç alan hastalar [örn. oral kontraseptif, parathormon (PTH), kortikosteroid, sitostatik ilaçlar, 6 aydan daha uzun süre bisfosfonat kullanımı gibi], kemik metabolizmasını etkileyebilecek hastalığı olanlar [hipofiz bezi hastalığı, hiperparatiroidizm, tiroid hormonu bozuklukları, neoplazi, immobilizasyon, anoreksi, diabetes mellitus (DM)], kronik enflamatuvar hastalığı olan hastalar ve sigara ve alkol kullananlar çalışmaya dahil edilmedi. Genetik analiz yapılan 170 postmenozal kadının 113'ünde (hasta grubu) DXA yöntemi ile KMY ölçümü yapılarak, DSÖ sınıflamasına göre primer osteoporoz tanısı konuldu. Kalan 57 postmenopozal kadın kontrol grubu olarak ele alındı. Yaş ortalaması hasta grubunda 61.5±7.7, kontrol grubunda 55.5±7.3 idi.

Hasta ve kontrol grubundaki kadınların yaş, boy, kilo, vücut kütle indeksi (VKİ), menopoz süresi, günlük kalsiyum alımı, fiziksel aktivite skoru ve sigara kullanımı miktarı kaydedildi. Çift enerji X-ışın absorpsiyometrisi ölçümleri aynı merkezde (Ankara Üniversitesi Hastanesi Nükleer Tıp Merkezi) yapılmış olan hastalar çalışmaya alındı. Hasta grubundaki tüm kadınların lateral torakal ve lomber grafileri çekilerek vertebral kırık varlığı araştırıldı. Şüpheye düşüldüğünde bilgisayarlı tomografi çekildi. Ayrıca vertebra dışı kırıklar (kalça, kol, diğer) sorgulandı. Araştırma için Ankara Üniversitesi Etik Kurulundan onay alındı. Hastalar yapılacak işlemler hakkında bilgilendirildi ve bilgilendirilmiş onam formları imzalatıldı. Çalışma Helsinki Deklarasyonu ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi.

### Klinik ölçümler

**Menopoz tanımı:** En az bir yıl süreyle menstrüasyon görmeyen kadınlar menopozda kabul edildi.

**Kemik mineral yoğunluğu ölçümü:** DXA (Hologic, Discovery A (s/n 81461) yöntemi ile ön arka lomber vertebra (L1-4) ve femur boynu ölçümü yapıldı. Değerler gram/cm<sup>2</sup> olarak hesaplandı.

**Kırık değerlendirimi:** Kırık değerlendirimi için semikantitatif bir yöntem olan Genant radyolojik osteoporoz skorlama sistemi kullanıldı.<sup>[16]</sup> Hastaların torakal ve lomber lateral grafileri incelendi. Kama vertebra saptandığında, vertebra ön yüksekliğinde %20 veya daha fazla azalma, bikonkav vertebra saptandığında orta yükseklikte %20 veya daha fazla azalma, kompresyon saptandığında ise vertebra ön,

orta ve arka yüksekliğinde %20 veya daha fazla azalma olması durumunda vertebral kırık olarak değerlendirildi. Akut vertebra kırığı olan bir hastada kırık tanısını doğrulamak için direkt grafiye ek olarak manyetik rezonans (MR) görüntüleme yapıldı.

**Fiziksel aktivite düzeyi:** Düzenli egzersiz alışkanlığı olmayıp ev temizliği, işe yürüme ve alışveriş gibi günlük aktivitelere katılanlar, günlük aktivitelere katılım şiddetine göre hafif ve orta, düzenli egzersiz alışkanlığı olanlar ise yüksek aktivite düzeyi gösteren bireyler olarak değerlendirildi.

**Günlük kalsiyum alımı:** Günlük tüketilen süt ve yoğurda göre <500 mg/gün kalsiyum alanlar *çok düşük*; 500-1000 mg/gün kalsiyum alanlar *düşük*; >1000 mg/gün kalsiyum alanlar normal, olarak sınıflandırıldı.

**Genetik analiz:** Çalışmanın genetik analizi Ankara Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Bu çalışma kapsamında aydınlatılmış onam formları alınarak, isimleri saklı kalmak koşulu ile birbiri ile akraba olmayan primer osteoporoz olan 113 postmenopozal kadın hasta ve 57 sağlıklı postmenopozal kadına ait periferik kandan elde edilen DNA örnekleri incelendi. DNA izolasyonu hastalardan ve kontrol grubundan alınan kanlar tuz ve DNA izolasyon kiti (Invitrogen, K182002, California, USA) kullanılarak yapıldı.

### Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

İlk olarak Col1A1 tek nükleotid polimorfizmi için uygun primer çiftleri kullanılarak PCR gerçekleştirildi (Tablo 1). Her bir PCR işleminde final konsantrasyonları 100 ng DNA, 0.1 µM primer çifti, 1X PCR tamponu, 200 µM her bir dNTP ve 1 U Taq polimeraz (Solis Biodyne 010101000 Tartu, Estonya) olacak şekilde karışım hazırlanarak ve aşağıda belirtilen koşullarda

reaksiyon gerçekleştirildi. 5' CTG GAC TAT TTG CGG ACT TTT TGG-3' forward ve 5' GTC CAG CCC TCA TCC TGG CC-3' reverse primerleri kullanılarak ve 94 derecede 12 dakika sonra 94 derecede 1 dakika ve 64 derecede 1 dakika 40 siklus ve 64 derecede 1 dakika başlangıç denatürasyonu yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu işlemi bittikten sonra ürünün varlığını kontrol etmek amacıyla %2'lik agaroz jelde 120 Volt'da 20 dakika elektroforez yapıldı. Jel, 1XTBE [0.089M Trizma base (Sigma, T8524), 0.089M borik asit (Sigma, B6768), 0.002M EDTA] içinde 0.1 µg/µl etidyum bromide (Sigma, E8751) içerecek şekilde hazırlandı.

### Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP)

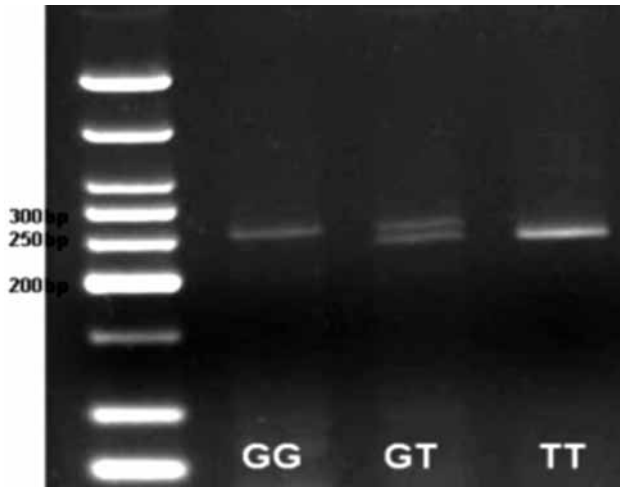
Her bir PCR ürünü MscI (Fermantas #ER1211) restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 16 saat inkübe edildi. 65 °C'de 20 dakika inkübasyon ile enzim inaktivasyonu sağlandı. Polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri aşağıda belirtilen koşullarda kesimlendi.

Fragman boylarının belirlenmesi için kesim ürünleri %4'lük agaroz jelde 90 Voltta 40 dakika olacak şekilde, uzunlukları bilinen kontrol belirteç (Amresco, J130) eşliğinde yürütüldü. Jel, 1XTBE [0.089M Trizma base (Sigma, T8524), 0.089M borik asit (Sigma, B6768), 0.002M EDTA] içinde 0.1 µg/µL etidyum bromide (Sigma, E8751) içerecek şekilde hazırlandı. Kesim ürünleri jel görüntüleme cihazında görünür hale getirildi. Kesim ürünleri homozigot yaban tip (GG) 280 baz çifti (bç), heterozigot (GT) 280 ve 260 bç, homozigot mutant (TT) 260 bç olarak değerlendirildi. COL1A1 polimorfizmi araştırılan üç örneğe ait kesim ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 1'de görülmektedir. Tek nükleotid polimorfizminin alel ve genotip sıklıkları Arlequin 3.5 yazılım programı, Bern kullanılarak hesaplandı.

**Tablo 1.** Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması

	Kontrol grubu (n=57)				Hasta grubu (n=113)				p	
	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Medyan Min.-Maks.	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Medyan Min.-Maks.		
Yaş (yıl)			55.5±7.3				61.5±7.7		0.001	
Menopoz süresi (yıl)				6				14	1-35	0.001
Boy (cm)			157.9±6.0				156.2±6.1			0.080
Kilo (kg)			75.8±10.3				70.1±11.5			0.002
Vücut kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )			30.4±3.7				28.8±4.9			0.029
Düşük kalsiyum alımı	53	93			109	96.5				0.312
Hafif-orta günlük aktivite düzeyi	55	96.5			107	94.7				0.601
Sigara içme	8	14			7	6.2				0.089
Vertebral kırık	-	-			49	43				
Genotip-GG	34	59.6			73	64.6				0.319
Genotip-GT	23	40.4			37	32.7				
Genotip-TT	0	0			3	2.7				

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum.



**Şekil 1.** COL1A1 polimorfizmi için üç örneğe ait agaroz jel görüntüsü ve tespit edilen genotipler. Fragman uzunlukları baz çifti (bç) olarak verilmiştir.

### İstatistiksel analiz

İncelenen parametrelerde tanımlayıcı istatistik yapılarak kategorik değişkenler için yüzde oranları, sürekli değişkenler için ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. Kemik mineral yoğunluğunu değiştirebilecek klinik değişkenlerin (yaş, VKİ ve menopoş süresi) etkisinden arındırmak için kovaryans analizi (ANCOVA) yapılarak düzeltilmiş KMY değerleri hesaplandı. Hasta ve kontrol grubunda alel oranları arasındaki fark için (Hardy Weinberg denklemine uygunluk) popgene software testi kullanıldı. Bağımsız değişkenlerle birlikte genotiplerin kırık riskine ve KMY'ye etkisi için binary lojistik ve doğrusal regresyon analizleri yapıldı. Alellere göre ayrılan gruplar arasında (GG, GT, TT) klinik parametreler açısından fark olup olmadığı Ki-kare, Student t ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testleri ile incelendi.

### BULGULAR

Postmenopozal osteoporozlu kadınlarda yaş ortalaması ve menopoş süresi kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek bulundu (Tablo 1). Kilo ve VKİ değerleri ise kontrol grubunda anlamlı oranda daha yüksek bulundu. Diğer faktörler ve genotip dağılımı benzerdi.

Kalsiyum alımı ve günlük egzersiz düzeyi analiz yapılabilmesi için iki gruba indirildi. Postmenopozal kadınların %28.8'inde (n=49) vertebral kırık tespit edildi. TT aleli taşıyan üç hastanın ikisinde (%67) ileri derecede osteoporoz, ikisinde (%67) vertebral kırık tespit edildi. Katılımcılarda kalça kırığı saptanmadı. Çalışmaya alınan örnekleme COL1A1 gen polimorfizmi için yapılan analiz sonucunda, genotip frekansları GG %62.9 (n=107), GT %35.3 (n=60) ve TT %1.8 (n=3) olarak bulundu (Tablo 1). Bulunan alel oranları Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu idi ( $p < 0.05$ ). TT aleli taşıyan katılımcı sayısı üç olduğundan, istatistiksel analizlerin yapılabilmesi için tüm katılımcılar, GG ve T alelini taşıyanlar (GT+TT) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubunda yer alan hiçbir hastada TT aleli saptanmadı.

Postmenopozal osteoporozu olup vertebral kırığı olan kadınlarda, sadece yaş ve menopoş süresi kırık olmayanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Tablo 2). Diğer demografik, klinik faktörler ve genotip (GG ve GT+TT alellerini taşıyanlar) açısından iki grup benzerdi.

GG ve GT+TT alellerini taşıyan kadınlar karşılaştırıldığında, tüm demografik ve klinik faktörler yanında lomber ve femur boynu KMY düzeyleri açısından da fark bulunamadı (Tablo 3).

İncelenen faktörlerin osteoporotik kırığı belirlemedeki rolünü ortaya koymak amacıyla yapılan ikili lojistik regresyon analizinde, modele polimorfizm,

**Tablo 2.** Vertebral kırığı olan postmenopozal osteoporozlu kadınların demografik, klinik ve genotip özellikleri

	Kırık yok (n=64)				Kırık var (n=49)				p
	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Medyan Min.-Maks.	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Medyan Min.-Maks.	
Yaş (yıl)			59.8±7.6				63.7±7.6	0.009	
Menopoş süresi (yıl)				12.5 1-35				18 1-34	0.013
Boy (cm)			156.9±5.5				155.2±6.6		0.140
Kilo (kg)			69.7±11.0				70.7±12.3		0.657
Vücut kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )			28.4±4.8				29.3±5.0		0.295
Düşük kalsiyum alımı	61	95.3			48	98			0.632
Hafif-orta günlük aktivite düzeyi	59	92.2			48	98			0.231
Sigara içme	4	6.2			3	6.1			1.000
Genotip-GG	45	70.3			28	57.1			0.147
Genotip-GT+TT	19	29.7			21	42.9			

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum.

**Tablo 3.** Postmenopozal kadınlarda genotipe göre demografik ve klinik özellikler

	Genotip (GG) (n=107)					Genotip (GT+TT) (n=63)					p
	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Medyan	Min.-Maks.	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Medyan	Min.-Maks.	
Yaş (yıl)			59.3±8.0					59.7±8.3			0.731
Boy (cm)			157.2±5.9					156.0±6.3			0.200
Kilo (kg)			72.8±11.3					70.6±11.6			0.226
Vücut kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )			29.5±4.5					29.1±4.8			0.568
Menopoz süresi (yıl)				11	1-34				12	1-35	0.734
Düşük kalsiyum alımı	103	96.3				59	93.7				0.438
Hafif-orta günlük aktivite düzeyi	101	94.4				61	96.8				0.712
Sigara içme	6	5.6				9	14.3				0.054
Lomber KMY (g/cm <sup>2</sup> )			0.9±0.2					0.9±0.2			0.974
Femur boynu KMY (g/cm <sup>2</sup> )			0.8±0.1					0.8±0.1			0.900

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum; KMY: Kemik mineral yoğunluğu.

yaş, menopoz süresi, VKİ, sigara içme, düşük kalsiyum alımı, hafif ila orta günlük aktivite düzeyi dahil edildi. Yaş ve menopoz süresi birbirini etkileyen faktörler olduğundan ayrı modellerde incelendi (Tablo 4). Buna göre polimorfizm ne tek başına [Olasılık oranı: 0.709 (%95 güven aralığı (GA): 0.360-1.397)] ne de diğer faktörlerle birlikte vertebral kırık için belirleyici bir faktördü. Yaş [Olasılık oranı: 1.103 (%95 GA: 1.051-1.158)] ve menopoz süresi [Olasılık oranı: 1.093 (%95 GA: 0.320-1.420)] güçlü olmamakla birlikte anlamlı oranda belirleyiciydi (Tablo 4).

İncelenen faktörlerin KMY'yi belirlemedeki rolünü ortaya koymak amacıyla yapılan doğrusal regresyon analizinde, modele polimorfizm, yaş, menopoz süresi, VKİ, sigara içme, düşük kalsiyum alımı, hafif-orta günlük aktivite düzeyi dahil edildi. Buna göre polimorfizm ne tek başına [Beta katsayısı (B): -0.072 standart hata (SE) 0.072 (%95 GA: -0.214-0.071)] ne de diğer faktörlerle birlikte KMY'yi belirleyici bir faktördü (Tablo 5, 6). Yaş, menopoz süresi ve VKİ güçlü olmamakla birlikte KMY için belirleyiciydi.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, sağlıklı ve postmenopozal osteoporozu olan Türk kadınlarda COL1A1 gen polimorfizminin sıklığı araştırılmış, sonuçta genotipler ile vertebral kırık ve kemik mineral yoğunluğu arasında

ilişki tespit edilememiştir. Katılımcıların alel dağılım oranları Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumluluk içinde bulunmuştur.

Mann ve ark.,<sup>[7]</sup> COL1A1 geninde Sp1 bağlayıcı bölgesinde oluşan polimorfizm ile osteoporoz arasındaki ilişkiyi polimorfik "s" alelinin Sp1 transkripsiyon faktöründe kollajen 1 alfa zincirindeki artışla sonuçlanan bir değişime neden olduğu şeklinde yorumlamışlardır. Ss heterozigot olanlarda alfa 1/2 oranı 2.3; SS olanlarda 2 olarak bulunmuştur. Bu anormal kollajen oranı osteoporoz patogeneziyle ilişkilendirilmiştir. COL1A1 geninde Sp1 transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesini etkileyen polimorfizm bugüne kadar üzerinde en çok çalışılan polimorfizmdir. COL1A1 gen polimorfizmi ile KMY ve osteoporotik kırık arasındaki ilişki ilk defa 1996 yılında Grant ve ark.<sup>[17]</sup> tarafından bildirilmiştir. Sp1 bağlayıcı bölgesinde oluşan polimorfizm hastalıkla ilişkili polimorfizm olmaktan öte kırığa yatkınlığı artırmaktadır.<sup>[8]</sup>

2003 yılında Mann ve Ralston<sup>[9]</sup> tarafından yayımlanan ilk metaanalizde, 7849 hastanın katıldığı 26 çalışma incelenmiş ve T aleli varlığında KMY'de orta derecede azalma ancak kırık riskinde anlamlı artış tespit edilmiştir. TT alelini taşıyanlarda G alelini taşıyanlara göre herhangi bir kırığın olma riski 1.78 kat artmış olarak bulunmuştur. 2006 yılında birkaç Avrupa ülkesinde 20786 kişi üzerinde yapılan

**Tablo 4.** Polimorfizm ve klinik özelliklerin osteoporotik kırığı belirlemedeki rolü

Parametre	Exp (B)	p	%95 Güven aralığı	Exp (B)	p	%95 Güven aralığı
Polimorfizm	0.674	0.300	0.320-1.420	0.669	0.293	0.316-1.416
Yaş (yıl)	1.103	0.000	1.051-1.158	-	-	-
Menopoz süresi (yıl)	-	-	-	1.093	0.000	1.047-1.141
Vücut kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	1.015	0.712	0.939-1.097	1.026	0.518	0.948-1.111
Sigara içme	0.864	0.837	0.214-3.486	0.708	0.628	0.174-2.870
Düşük kalsiyum alımı	0.264	0.253	0.027-2.594	0.280	0.269	0.029-2.668
Hafif-orta günlük aktivite düzeyi	0.591	0.654	0.059-5.892	0.492	0.558	0.046-5.289

**Tablo 5.** Polimorfizm ve klinik özelliklerin kemik mineral yoğunluğunu belirlemedeki rolü (yaşla birlikte)

Parametre	Lomber KMY			Femur boynu KMY		
	B	SE	p	B	SE	p
Polimorfizm	-0.003	0.026	0.914	0.002	0.020	0.918
Yaş (yıl)	-0.007	0.002	0.000	-0.005	0.001	0.000
Vücut kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	0.008	0.003	0.007	0.007	0.002	0.001
Sigara içme	0.013	0.046	0.774	0.039	0.035	0.268
Düşük kalsiyum alımı	0.057	0.061	0.350	0.006	0.047	0.896
Hafif-orta günlük aktivite düzeyi	-0.065	0.062	0.297	-0.037	0.048	0.438

KMY: Kemik mineral yoğunluğu; B: Beta katsayısı; SE: Standart hata.

çalışmaların metaanalizinde ise sadece T aleli için homozigot olan kişilerde, KMY ve vertebral kırık ile ilişkili bulunmuştur.<sup>[11]</sup> Buna göre, TT alelini taşıyan bireylerde vertebral kırık riskinin KMY'den bağımsız olarak %33 arttığı gösterilmiştir. Otuz iki çalışmanın metaanalizinin değerlendirildiği bir çalışmada ise COL1A1 Sp1 gen polimorfizminin VKİ'de azalma ve kırık riskinde artma ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir.<sup>[18]</sup>

Çalışmamızda birçok toplumla benzer oranlarda alel dağılımı olmasına rağmen genotip frekansları, vertebral kırık ve KMY değerleri arasında ilişki saptanamadı. KMY'yi etkileyebilecek yaş, menopoz süresi ve VKİ gibi faktörlerin etkisi arındırıldığında dahi, genotip frekansları lomber ve femur boynu KMY değerlerini belirlemede etkisiz bulundu. Diğer yandan TT genotipini taşıyan birey sayısı üç ile sınırlı olduğundan homozigot genotipin vertebral kırık ve KMY üzerine etkisi gösterilemedi. Elde edilen sonuçlar çalışmamızda örneklem büyüklüğünün sınırlı olması, T alelinin normalden daha seyrek görülmesi ve homozigot T alellerini taşıyan katılımcı sayısının az olması ile açıklanabilir. Hasta ve kontrol grubunda yaş, menopoz süresi, VKİ ve kilo açısından fark bulunması sonuçları etkileyebilecek diğer bir faktördür.

Diğer yandan, COL1A1 gen polimorfizminin KMY ve kırık riskini belirlemedeki rolü her toplumda ortaya konulamamıştır. Hollanda'da 6280 hastada yapılan bir

çalışmada, 1997G/T polimorfizminin KMY ve kırık üzerine etkisi tespit edilmemiştir.<sup>[19]</sup> Danimarka'da 462 osteoporotik hasta ve 336 sağlıklı kişide yapılan 1663delT ve +1245T alelleri düşük KMY ile ilişkili bulunurken, aynı ilişki Amerikalı premenopozal kadınlarda, İrlandalı genç kadın ve erkeklerde, Norveçli genç erişkinlerde, Fransız genç kadınlarda ve İsveçli kadınlarda gösterilememiştir.<sup>[20-26]</sup> Bu nedenle bu çalışmada elde edilen sonuçların kendi toplumu-muzun genetik yapısından kaynaklanabilecek bir özellik olabileceği ihtimali gözden uzak tutulmamalıdır.

Ülkemizde COL1A1 polimorfizmine yönelik araştırmalar sınırlı sayıdadır. Şimşek ve ark.<sup>[12]</sup> postmenopozal kadınlarda COL1A1 polimorfizminin düşük KMY'yi belirleyici bir faktör olduğunu öne sürmüşlerdir. Ancak bu çalışmaya sadece osteopenik hastalar alınmış, kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmamış ve T alelini taşıyan bireyler gruplanarak analiz yapılmamıştır. Bu nedenle elde edilen verilerin çalışmamız verileriyle karşılaştırılması uygun değildir. Dinçel ve ark.<sup>[13]</sup> yaptıkları çalışmada ise kalça kırığı olan 19 hasta ve 20 kontrol çalışmaya dahil edilmiş ve polimorfizm ile kırık arasında ilişki gösterilememiştir. Bu çalışmada da örneklemin küçük olması sonuçların Türk toplumuna genellenebilirliğini sınırlamaktadır. Postmenopozal Türk kadınları üzerinde yürütülen diğer bir araştırmada, vitamin D reseptörü (VDR) genindeki Bsm1 polimorfizmi ile COL1A1 genindeki

**Tablo 6.** Polimorfizm ve klinik özelliklerin kemik mineral yoğunluğunu belirlemedeki rolü (menopoz süresi ile birlikte)

Parametre	Lomber KMY			Femur boynu KMY		
	B	SE	p	B	SE	p
Polimorfizm	-0.003	0.026	0.914	0.002	0.020	0.918
Menopoz süresi (yıl)	-0.007	0.002	0.000	-0.005	0.001	0.000
Vücut kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	0.008	0.003	0.007	0.007	0.002	0.001
Sigara içme	0.013	0.046	0.774	0.039	0.035	0.268
Düşük kalsiyum alımı	0.057	0.061	0.350	0.006	0.047	0.896
Hafif-orta günlük aktivite düzeyi	-0.065	0.062	0.297	-0.037	0.048	0.438

KMY: Kemik mineral yoğunluğu; B: Beta katsayısı; SE: Standart hata.

Sp1 polimorfizmlerinin düşük KMY ya da vertebral kırıklar ile ilişkili olmadığı ortaya konulmuştur.<sup>[14]</sup> Bununla birlikte, bu çalışmada vertebral kırığı olan az sayıda bireyin dahil edildiği ve bazı örneklerde PCR, RFLP veya sekans analizlerinin yapılmadığı görülmektedir.<sup>[14]</sup> Erdoğan ve ark.<sup>[15]</sup> estrogen alfa reseptör ve COL1A1 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve sonuçta postmenopozal kadınlarda KMY ile COL1A1 geni arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır.

Çalışmamızda sonuçlara etkisi olabilecek bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Bunlardan birincisi ve en önemlisi araştırmanın pilot niteliğinde olması nedeniyle güç analizinin yapılamamış olmasıdır. COL1A1 polimorfizmi ile kırık ve KMY arasında ilişkinin bulunmayışı sonucu çalışmanın düşük gücü ve tip II hata olasılığı dikkate alınarak yorumlanmalıdır. Bulunan genotip frekansları Hardy Weinberg denkleğine uygun olmasına rağmen, toplam katılımcı sayısının az olması nedeniyle homozigot T aleli (TT) taşıyan hastaların istatistiksel analize dahil edilememiştir. İkinci kısıtlılık, hasta ve kontrol grubunun katılımcı sayısı, yaş, menopoz süresi ve VKİ açısından farklı olması nedeniyle istenilen homojenlikte olmamasıdır. Üçüncü kısıtlılık, COL1A1 gen polimorfizminin tek başına ele alınması, kırık ve KMY'yi belirleme potansiyeli olan diğer genlerle (VDR, ER1, ER2, IL-6 gibi) olan etkileşiminin incelenmemiş olmasıdır. İlişkili genlerin bir arada değerlendirilmesi ile daha anlamlı sonuçların elde edilebilirliği olasılık dahilindedir.

Son yıllarda osteoporozla yönelik araştırmaların hedeflerinden biri de kırığa yatkınlığı belirleyecek bir genetik tarama testinin geliştirilmesidir. Zira günümüzde genetik tedavi henüz söz konusu olmadığından, kırık açısından yüksek risk taşıyan bireylerin belirlenmesi tedaviye erken başlamada yardımcı olabilecektir. Sonuçta erken medikal tedavi ve yaşam değişiklikleri ile osteoporotik kırıkların gelişimi önlenebilecektir. Hatta bu testlerin henüz osteoporozun başlamadığı çok erken dönemlerde yapılması ile kişide daha yüksek doruk kemik kütlesi oluşturulması hedeflenebilecektir. Çalışmamızda, homozigot T alelini taşıyan katılımcı sayısının az olması istatistiksel analize olanak vermemiştir. Bununla birlikte, postmenopozal osteoporozu olup TT aleli taşıyan üç hastanın ikisinin ileri derecede osteoporotik olması, ikisinde (%67) vertebral kırık tespit edilmesi, bir hastanın iki vertebraında birden kırık olması klinik olarak dikkat çekici bir durumdur. Bu gözlemin doğrulanması için Türk toplumunu yansıtacak yeterlilikte bir örneklem üzerinde çalışılmasına ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen veriler, COL1A1 gen polimorfizminin postmenopozal osteoporozlu kadınlarda vertebral kırık riskini ve kalça ile lomber KMY düzeyini belirlemede bir rolü olmadığını göstermektedir. Bu sonuçların Türk toplumuna genellebilmesi için, yeterli katılımcı sayısını içeren daha geniş örneklem üzerinde kesitsel veya prospektif çalışmanın yapılmasına ve KMY'yi belirleme potansiyeli olan diğer genlerle (VDR, ER1, ER2, IL-6 gibi) olan etkileşiminin incelenmesine ihtiyaç vardır.

#### Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

#### Finansman

Yazarlar bu çalışmada Türk Romatizma Derneği'nden sınırlı bir mali destek aldığını beyan etmişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am J Med 1993;94:646-50.
2. Arasil T. Günümüzde osteoporoz. In: Kutsal YG, editör. Osteoporoz Cep Kitabı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2005. s. 1-8.
3. Dalle Carbonare L, Giannini S. Bone microarchitecture as an important determinant of bone strength. J Endocrinol Invest 2004;27:99-105.
4. Park JH, Song YM, Sung J, Lee K, Kim YS, Park YS. Genetic influence on bone mineral density in Korean twins and families: the healthy twin study. Osteoporos Int 2012;23:1343-9.
5. Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC Jr. Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. J Bone Miner Res 1991;6:561-7.
6. Peacock M, Turner CH, Econs MJ, Foroud T. Genetics of osteoporosis. Endocr Rev 2002;23:303-26.
7. Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, et al. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. J Clin Invest 2001;107:899-907.
8. McGuigan FE, Reid DM, Ralston SH. Susceptibility to osteoporotic fracture is determined by allelic variation at the Sp1 site, rather than other polymorphic sites at the COL1A1 locus. Osteoporos Int 2000;11:338-43.
9. Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. Bone 2003;32:711-7.
10. Deviren A. Osteoporoz genetiği. In: Tüzün F, editör. Osteoporoz ve Kemik Kalitesi. İstanbul: And Yayınevi; 2003. s. 35-51.
11. Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML, Balcells S, Langdahl BL, Lips P, et al. Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. PLoS Med 2006;3:90.

12. Simsek M, Cetin Z, Bilgen T, Taskin O, Luleci G, Keser I. Effects of hormone replacement therapy on bone mineral density in Turkish patients with or without COL1A1 Sp1 binding site polymorphism. *J Obstet Gynaecol Res* 2008;34:73-7.
13. Dinçel E, Sepici-Dinçel A, Sepici V, Ozsoy H, Sepici B. Hip fracture risk and different gene polymorphisms in the Turkish population. *Clinics (Sao Paulo)* 2008;63:645-50.
14. Efesoğlu A, Yılmaz O, Erden G, Güçtekin A, Bodur H, Yıldırımkaş M. Relationship of the vitamin D and collagen 1a1 polymorphisms with low Bone Mineral density and vertebral fractures in postmenopausal Turkish women. *Turk J Rheumatol* 2011;26:295-302.
15. Erdogan MO, Yıldız H, Artan S, Solak M, Taşcıoğlu F, Dünder U, et al. Association of estrogen receptor alpha and collagen type I alpha 1 gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2011;22:1219-25.
16. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res* 1993;8:1137-48.
17. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 1996;14:203-5.
18. Jin H, Evangelou E, Ioannidis JP, Ralston SH. Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies. *Osteoporos Int* 2011;22:911-21.
19. Yazdanpanah N, Rivadeneira F, van Meurs JB, Zillikens MC, Arp P, Hofman A, et al. The -1997 G/T and Sp1 polymorphisms in the collagen type I alpha1 (COL1A1) gene in relation to changes in femoral neck bone mineral density and the risk of fracture in the elderly: the Rotterdam study. *Calcif Tissue Int* 2007;81:18-25.
20. Husted LB, Harsløf T, Gonzalez-Bofill N, Schmitz A, Carstens M, Stenkjaer L, et al. Haplotypes of promoter and intron 1 polymorphisms in the COL1A1 gene are associated with increased risk of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2009;84:85-96.
21. Berg JP, Lehmann EH, Stakkestad JA, Haug E, Halse J. The Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I alpha 1 (COL1A1) gene is not associated with bone mineral density in healthy children, adolescents, and young adults. *Eur J Endocrinol* 2000;143:261-5.
22. McGuigan FE, Murray L, Gallagher A, Davey-Smith G, Neville CE, Van't Hof R, et al. Genetic and environmental determinants of peak bone mass in young men and women. *J Bone Miner Res* 2002;17:1273-9.
23. Lidén M, Wilén B, Ljunghall S, Melhus H. Polymorphism at the Sp 1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene does not predict bone mineral density in postmenopausal women in sweden. *Calcif Tissue Int* 1998;63:293-5.
24. Garnero P, Borel O, Grant SF, Ralston SH, Delmas PD. Collagen Ialpha1 Sp1 polymorphism, bone mass, and bone turnover in healthy French premenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1998;13:813-7.
25. Garnero P, Borel O, Grant SFA, Ralston SFH, Delmas PD. Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I alpha gene, peak bone mass, postmenopausal bone loss and bone turnover: The Ofely study. *J Bone Miner Res* 1997;12(Suppl):490.
26. Lidén M, Wilén B, Ljunghall S, Melhus H. Polymorphism at the Sp 1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene does not predict bone mineral density in postmenopausal women in sweden. *Calcif Tissue Int* 1998;63:293-5.