

**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT B TANILI HASTALARDA KEMİK METABOLİZMA
PARAMETRELERİNİN BAZILARININ SAĞLIKLI BİREYLERLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

**HAZIRLAYAN
Uz. Dr. Oğuz DİKBAŞ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mustafa Sait GÖNEN**

KONYA-2006

İÇİNDEKİLER:

1-TEŞEKKÜR	ii
2-GİRİŞ	1
3-GENEL BİLGİLER	2
4-MATERYAL VE METOD	16
5-BULGULAR	19
6-TARTIŞMA	28
7-ÖZET	44
8-ABSTRACT	48
9-KAYNAKLAR	51

TEŞEKKÜR

Bana endokrinoloji ve metabolizma yandal eğitimi alma olanağı sağlayan ve bu eğitimim süresince bilgi ve desteğini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan sayın hocam Doç. Dr. Mustafa Sait Gonen'e sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Eğitimim sırasında değerli bilgilerinden yararlandığım Doç. Dr. Gürcan Kısakol, Yrd. Doç. Mehtap Çakır ve Prof. Dr. Ahmet Kaya'ya da destek ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

OĞUZ DİKBAŞ

GİRİŞ:

Osteoporoz, fraktür riskinde artmaya yol açan, kemik kuvvetinde azalma ile karakterize bir iskelet sistemi hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Osteoporoz dünya çapında yaygın, yüksek morbidite ile seyreden bir patolojidir. Osteoporoz postmenopozal osteoporoz ve herhangi bir nedene bağlı olarak gelişen osteoporoz olarak iki kısma ayrılır. Sekonder osteoporoz nedenleri arasında, endokrin nedenler, maligniteye bağlı nedenler, ilaç kullanımına bağlı gelişen nedenler, kollajen doku hastalıklarına bağlı gelişen nedenler, kronik karaciğer ve böbrek hastalığına bağlı gelişen nedenler yer alır.

Kronik karaciğer hastalığı, özellikle siroz gelişmiş hastalarda osteoporoz geliştiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Karaciğer sirozunda izlenen osteoporozun etyolojiden bağımsız olarak ortaya çıktığı, farklı etyolojiye bağlı gelişen siroz hastalarında izlenmiş olması ile gösterilmiştir.

Kronik hepatit B enfeksiyonu, hepadnaviridae ailesinden olan hepatit B virüsü (HBV) tarafından oluşturulmaktadır. Kronik viral B hepatiti, HBV'nin neden olduğu, tüm karaciğerde iltihabi hücre infiltrasyonu, hepatosit ölümü, atrofisi, regenerasyonu ve fibrozis gelişmesi ile karakterize bir hastalıktır. Kronik hepatit B tanılı hastalarda yapılan az sayıda çalışmada, bu grupta da, sağlıklı popülasyona göre kemik mineral dansitesinde azalma izlenmektedir. Biz yapmış olduğumuz çalışmada kemik mineral dansite, kemik metabolik işaretleyicilerini ve osteoklastik aktivite üzerine birçok sitokinlerin etkisini gösterdiği son ve en önemli yollardan biri olan reseptör aktivatör nükleer faktör kapp B ligand/osteoprotegerin (RANKL/OPG) sistemini yeni tanı almış kronik hepatit B hastalarında sağlıklı bireylerle kıyaslamayı amaçladık. Kronik hepatit B hastalarında osteoporoz izlenmiş olmasına rağmen sebebi tam olarak bilinmemektedir.

Kronik hepatit B tanılı hastalarda osteoporoz etyolojisinin sitokinlerle ilişkisinin belirlenmesi, sitokinlere yönelik spesifik tedaviler için yol açacaktır.

GENEL BİLGİLER:

İlk defa 1940 yılında Amerikalı bir endokrinolog olan Fuller Albright postmenopozal osteoporozu tanımlamış ve sebebinin de östrojen yetersizliğine bağlı kemik yapım yetersizliği olduğunu ileri sürmüştür (1).

Daha sonraki yıllarda postmenopozal osteoporoz, kalsiyum yetersizliği ve yaşlanmaya bağlı osteoporoz olmak üzere farklı osteoporoz türleri tanımlanmıştır (2).

Günümüzde ise bu görüş osteoporozun, bir dizi patogenetik mekanizmanın nihai olarak kemik kitle kaybına ve iskelet yapının mikromimarisinde bozulmaya yol açtığı durum olarak değişmiştir. Bu faktörler düşme riskinde artma ile bir araya geldiğinde yüksek oranda patolojik fraktürü beraberinde getirmektedir. Osteoporoz karmaşık ve poligenik bir bozukluk olduğu için, spesifik tek bir gen polimorfizminin katkısı kısmen az olmakla beraber, klinik olarak anlamlı olabilir. İskelet frajilitesinin nedeni:

1-Büyüme sırasında ideal kuvvet ve kitleye sahip iskeletin oluşturulamaması (tepe kemik kitlesinin oluşturulamaması),

2-Aşırı kemik kaybı ve buna bağlı kemik kitlesinde azalma ve mikromimaride bozulma,

3-Kemik döngüsü sırasında kemik yıkımının kemik yapımı ile yeterli karşılanamamasıdır. Erişkinlerdeki en önemli kemik metabolizma aktivitesi olan kemik döngüsünün anlaşılması, kemik yapımındaki azalma ve/veya kemik yıkımındaki artmayı anlamak için gereklidir.

Osteoporoz aşırı kemik rezorpsiyonu ile karakterize, bir iskelet sistemi hastalığıdır. Osteoporozda düşük kemik kitlesi ve mikro mimaride bozulma ve mütakiben fraktür riskinde artış izlenir. Kemik mineral dansitesi birçok gen ve çevresel faktörden etkilenebilmektedir. Genler ikiz çalışma sonuçlarına göre % 80'e varan yüzdelerle etkilidirler (3). Bu genler arasında D vitamin reseptör, tip 1 kollajen, östrojen reseptör, interlökin 6 ve kalsitonin reseptör geni yer almaktadır (4-8).

Dünyada 200 milyondan fazla insanda osteoporoz olduğu tahmin edilmektedir (9). Kemik kuvvetinde azalma, iskelet sistemi ile ilgili kırık riskinde artmaya yol açar ve bu da ağrı ve fonksiyon kaybı ile yaşam kalitesini bozar. Halen osteoporoz tanısı, femur ve lumbal

kemik mineral dansitesinin (KMD) “Dual-energy X-ray absorptiometry” (DXA) ile ölçümüne dayanır. Kişinin ortalama KMD ölçümünün, sağlıklı erişkin bireylerle karşılaştırılarak elde edilen standard sapma değerine t-skoru denir. Dünya sağlık örgütü (WHO) t skoru -2,5’in altını osteoporoz olarak kabul etmektedir (10). Dünya sağlık örgütü 65 yaş üstü kadınların, postmenopoz olup patolojik kırık hikâyesi olanların ve bir veya daha fazla risk faktörü olanların taranmasını ve tedavi edilmesini önermektedir (10). Vertebra kırıkları boy kısalığı, ağrı, deformite, sakatlık ve mortalitede artışı beraberinde getirmektedir (11,12). Multiple torasik fraktürler restriktif tipte solunum yetmezliği ve lomber fraktür kabızlık, iştahsızlık, erken doyma gibi yakınmaları beraberinde getirir. Osteoporoz için WHO tarafından önerilen ve İnternasyonal Osteoporoz Fonu (IOF) tarafından gözden geçirilen DXA ile osteoporoz değerlendirilmesi;

a-Normal (-1’den büyük t skoru)

b-Osteopeni (-1 ile -2,5 arası t skoru)

c-Osteoporoz (-2,5’un altı t skoru)

d-Ciddi osteoporoz (osteoporoz ile beraber geçirilmiş 1 veya daha fazla patolojik kırık mevcudiyeti).

KMD ölçüm endikasyonları;

1-65 yaş üstü kadınlar.

2-65 yaş altında risk faktörü olan postmenapozal kadınlar

3-70 yaş ve üstü erkekler.

4-Patolojik fraktürü olan erişkinler.

5-Düşük kemik kitlesi veya kemik kaybına eşlik eden hastalık ve durumu olan erişkinler.

6-Düşük kemik kitle veya kemik kaybına neden olan ilaçları alan erişkinler.

7-İlaç tedavisi planlanan herkes.

8-Tedavi altında olan ve tedavi etkisi değerlendirilmesi planlanan hastalar.

9-Tedavi almadığı halde, kemik kaybı gelişmesi durumunda tedavi başlanacak olanlar (13).

Osteoporozda kemik niceliksel ve niteliksel olarak bozulmuştur. Osteoporoz için risk faktörleri:

- İleri yaş,
- Beyaz veya Asya ırkı kökenli olmak,
- Endokrin bozukluk varlığı,

- Ailede osteoporoz öyküsünün varlığı,
- Aşırı alkol alımı,
- Sigara içme,
- Aşırı dozda bazı vitamin ve minerallerin alımı,
- Daha önceden kırık öyküsü olması,
- D vitamin ve/veya kalsiyum alım bozukluğunun olması,
- Ağırığa karşı yapılan egzersiz yokluğu, güneşe yeterli maruz kalmama,
- Yeterli kalsiyum ve D vitamini alamama,
- Bazı ilaçların uzun süreli kullanımı,
- Renal hastalık varlığı,
- Düşük beden ağırlığı ve sedanter yaşam olarak sıralanabilir.

Kemik kazanımı kızlarda 17 ve erkeklerde 20 yaşında hemen hemen tamamlanır **(14)**. Bu duruma en önemli katkı adolesan dönemde sağlanır.

Kemik kaybı her iki sekste 35 veya 45 yaşlarında yavaş yavaş başlar ve yaklaşık 50 yaşına kadar hemen hemen stabildir **(15)**. Kadınlarda menapozu takip eden dekatta hızlı artış izlenir. Kemik kaybı her iki cinste de yaşam sonuna kadar devam eden bir süreçtir. Yaşa bağlı kemik kaybını etkileyen faktörler:

- Sigara ve alkol kullanımı,
- Fiziksel inaktivite,
- D vitamin alım veya metabolizmasında bozukluk,
- Düşük beden kütle endeksidir **(16)**.

Kemik mineral dansitesi kemik kuvveti ile doğrudan ilişkilidir ve santimetrekare'ye düşen gram cinsinden mineral olarak ölçülür **(17)**. KMD ölçümü tedavi öncesinde osteoporoz tanısını koymak için standard test olarak kullanılsa da, devam eden çalışmalar KMD ölçümünün tek başına tedavi başarısını ve fraktür riskini belirlemede yeterli olmadığını göstermiştir. Daha kullanışlı olan kemik kalite görüşü geliştirilmiştir. Bu da KMD ve kemik kuvvetinin bileşkesinden oluşmaktadır. Kemik kuvveti, kemik kalitesi üzerine etki eden kemiğin yapısal ve materyal içeriği ile belirlenir **(18)**. Kemiğin yapısal özellikleri geometrisi, mikromimarisini içerir. Materyal özellikleri ise, mineralizasyonu, kollajen içeriği ve hasar birikimidir (örneğin mikrofraktürler). Kemiğin bu komponenti kemik döngüsünden (yani eski kemik yıkımı ve yeni kemik yapımı) etkilenir.

Sekonder osteoporoz bir grup medikal hastalığa eşlik edebilir. Bunlar gastrointestinal (malabsorbsiyon sendromları ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları), hematolojik (talasemi, pernisiyoz anemi), endokrin nedenler (Cushing hastalığı, hiperparatiroidi, hipertiroidi, prolaktinoma, feokromositoma) ve bazı ilaçlardır (glukokortikoidler). Yine bazı hayat tarzı şekilleri osteoporozu eğilimi artırır. Bunlar sigara içmek, düşük fizik aktivite, aşırı alkol tüketimi ve kafein alımıdır. Diyetle ilgili faktörler ise düşük kalsiyum alımı ve düşük D vitamini düzeyidir. Genetik faktörler zirve kemik mineral dansitesinin belirlenmesinde en önemli etmenlerden biridir. Kemik mineral dansite ve fraktür riski etnik kökene bağlı olarak değişim gösterir. Kemik mineral dansite ölçümü için geliştirilen yöntemler arasında DXA ve kantitatif komputere tomografi (QCT) bulunmaktadır. DXA, iki ayrı enerjide ışının vücudun aynı bölgesinden geçirilerek yapılan ölçüme dayanır. DXA ile yapılan ölçümün birimi gr/cm²'dir. Fakat KMD bu ölçüme dayanarak t-skoru olarak ifade edilir. QCT'nin KMD ölçümü DXA kadar başarılıdır. QCT'nin avantajı 3 boyutlu volumetrik ölçü verebilmesidir **(19)**. QCT trabeküler kemiği kortikal kemikten ayırabilir ve yeniden yapılanmanın daha fazla olduğu trabeküler kemikteki KMD değişimini daha iyi değerlendirebilir. Zaman içindeki iskelet değişikliklerini değerlendirebilecek kadar hassas olduğu için, hastalık durumunun ve osteoporoz tedavisine olan yanıtın izlenmesinde kullanılmaktadır **(20)**. Her ne kadar KMD ölçümü fraktür riskini tanımlamada başarılı ise de, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde o kadar güvenilir değildir. Bifosfonatlarla yapılan tedavi takiplerinde KMD ölçümlerindeki düzelme kemik fraktür riskinde azalma ile tam olarak uyumlu değildir.

Kemik döngüsü veya kemik multisellüler üniteleri (KMÜ) yıllar önce Frost ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır **(21)**. KMÜ trabeküler kemikte howship laküneleri veya kortikal kemikte harvesian sistemi olarak izlenmektedir. Faaliyet, hematopoetik öncü hücrelerin aktive olup osteoklasta dönüşmesi ile başlar. Bu aktifleşme osteoblastik serideki hücrelerle etkileşim ile gerçekleşir. Kemik döngüsünün rezorbsiyon süreci yeniden yapılanmadan kısa sürdüğünden, yani kemiğin osteoblastik replasmanı yavaş giden bir süreç olduğundan, kemik döngüsünde herhangi bir nedenden kaynaklanan artış kemik kitle kaybına yol açar. Bunlara ilave olarak çok sayıda dolmamış howship lakuna ve haversian kanal varlığı kemiği daha da zayıf kılar. Aşırı rezorbsiyon trabeküler yapının tamamen kaybolmasına ve kemiğin yeniden yapılanması için gerekli iskeletin ortadan kalkmasına yol açar. Artmış osteoklastik aktivitenin iskelet kırılabilirliğinde artışa sebep olduğu bilinmektedir. Pubertal zirve

büyüme hızında olduğu gibi, her zaman artmış osteoklastik aktivite osteoporoz anlamına gelmez. Genel kural olarak, kemik döngüsü sırasında yetersiz yapılanma yanıtı osteoporozun patogenezinde temel taşı oluşturur.

Memeli iskeletinin gelişimi ve idamesi onu oluşturan hücrelerin aralarındaki etkileşim ve düzenlemeye bağlıdır (22). İskelet yapının asıl mimarları kıkırdak yapan kondrositler, kemik yapan osteoblastlar ve kemiği rezorbe eden osteoklastlardır. Kondrositler mezenkimal kemik yapıdan köken alırlar ve endokondral kemik oluşumu için taslak kıkırdak çatıyı meydana getirmede görevlidirler. Osteoblastlar, kemik yüzeyinde yerleşmiş olan ve mezenkimal osteoprogenitör hücrelerden oluşan matriks proteinlerinin oluşumu, taşınması ve düzenlenmesinden sorumlu hücrelerdir. Osteoklastlar hematopoietik kemik iliğindeki granulositik-monositik hücrelerden ortaya çıkarlar (23). Osteoklastlar kemik yüzeyine sıkıca yapıştıktan sonra tırtıklı yüz adı verilen özel bir oluşum sayesinde asidifiye edilmiş rezorbsiyon zonunu oluştururlar. Osteoklastlar salgıladıkları hidrojen iyonu ve proteazlar sayesinde kemiği rezorbe ederler. Bu rezorbsiyon sırasında ortaya çıkan yıkım ürünü bazı proteinler osteoblastın kemik yapımı için sinyal fonksiyonu görürler. Bunun sonucu olarak da osteoblastlar osteoklast fonksiyonunu düzenlemek için çözünür halde veya bağlı bir takım mediatörler ile osteoklast fonksiyonunu etkiler (24). Bu koordinasyon içindeki fonksiyon iskelet yapılanması, yeniden yapılanması ve tamiri için kritik önemdedir (25). IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-11 ve makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) gibi birçok koloni uyarıcı faktör'lerin (CSFs) osteoklast gelişiminin kontrolünde rol oynadıklarına işaret edilmektedir (26-28). Parathormon, aktif D vitamini, tümör nekrozis faktör gibi sistemik hormon ve diğer mediatörler, osteoblastlardan veya öncülerinden IL-6 ve IL-11 gibi sitokinler salgılatarak osteoklast gelişimini uyarırlar (29-31).

Yapılan çalışmalar, yaş ilerledikçe kemiğin östrojene yanıtının uterus ile kıyaslandığında arttığını göstermektedir (32). İleri yaştaki kadınlarda normal kemik yapılanması için gerekli östrojen miktarı meme ve uterusu uyarmak için gerekli olan miktarın ¼'ü kadardır (32-33). Östrojen kadınlarda olduğu kadar erkeklerde de osteoporozla ilişkilidir. Östrojen kemik yapımını androjenden daha fazla uyarmaktadır. İleri yaştaki erkeklerde osteoporoz varlığının düşük östrojen düzeyi ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (34). Östrojen iki reseptör üzerinden etkisini gösterir. Bunlar ER α ve ER β 'dir. ER α östrojenin iskelet sistemi üzerine etkili primer reseptörüdür. ER β reseptörünün etkisi tam

anlaşılammıştır. Her iki reseptörün sinerjik veya antagonist etki gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur (35,36). Östrojen osteoblastik seriye olan etkisi dışında osteoklastik seriye de etki eder. Bu etkiyi TGF- β üretiminin osteoklasik apoptozu hızlandırması şeklinde gösterir (37).

Erişkin osteoklastların oluşumu için, osteoblastların veya stromal hücrelerin osteoklast öncüleri ile adezyonu gereklidir (38). İntersellüler adezyon molekülü (ICAM) ve vasküler adezyon molekülü (VCAM) osteoblastlar üzerinde eksprese edilir ve monositler üzerinde eksprese edilen integrin, leukocyte function associated antigen-1 (LFA)-1 ve very late antijen 4 (VLA)-4 ile etkileşime girerek osteoklastogenezde önemli rol oynarlar (39). Yapılan çalışmalarda anti-RANKL antikoru monositin osteoblasta bağlanmasını engellemezken, anti-LFA-1 antikorusunun monosit bağlanmasını engellediği görülmüştür (40). Buradan, reseptör aktivatör nükleer kappa B ligandın (RANKL) kendi reseptörü olan reseptör aktivatör nükleer kappa B'ye (RANK) etki etmesi için yüksek affiniteli adezyon gerekli görünmektedir şeklinde sonuç çıkarılmıştır. ICAM-1 (+) osteoblastlar monositlere kuvvetli bir şekilde yapışır ve çok hücreli osteoklast benzeri hücrelerin oluşumunu uyarırken ICAM-1 (-) osteoblastlarda bu özellik izlenmemiştir. Bu verilerden yola çıkarak LFA-1/ICAM-1 aracılıklı osteoblast adezif yolağı, osteoklastların justakrin uyarılması ve osteoklast membranına bağlı RANKL aracılıklı osteoklast maturasyonu için gereklidir. Murin sisteminde, RANKL bağımlı osteoklast maturasyonu osteoblast ve osteoklast öncü hücreleri arasında ICAM-1 bağımlı hücre adezyonu ile gerçekleşmektedir. Bununla beraber ICAM-1 yetersiz farelerde herhangi bir patoloji tespit edilmemiştir. ICAM-1'in major reseptörü olan LFA-1'de yetersizlik ise osteoklast maturasyonunda duraklamaya yol açmaktadır. ICAM-1 yetersiz farede osteoblast ve osteoklast öncüleri arasındaki bağlantı, osteoblast yüzeyinde bulunan VCAM-1 ve osteoklast yüzeyinde bulunan VLA-4 aracılığı ile temin edilmektedir.

KMD ile ilgili genler;

- vitamin D reseptör geni,
- kollajen-1 α 1 geni,
- östrojen reseptör geni,
- IGF-1 ve IGF-1 bağlayıcı protein genidir (41).

Yakın zamanda saptanan ve osteoblast fonksiyonunun düzenlenmesinde kritik öneme sahip olan wingless-type mouse mamary virus tumor (MMTV) integration site family (Wnt) sinyal yolağı kemik kuvveti ve kitlesinin belirlenmesinde oldukça önemli bir role sahiptir.

Wnt ailesi, embriyonik gelişim ve doku uyarılmasında rol oynayan çok sayıda salgısal glikoproteinlerden oluşan bir ailedir. Lokal ve sistemik büyüme faktörlerinin üretim ve aktivitesindeki bazı defektler bozulmuş kemik yapımına katkıda bulunurlar. Bu faktörler;

- transforming growth factor beta (TGF- β),
- insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1),
- kemik matriks protein (BMP)'lerdir.

Osteoporoz oluşumundaki diğer faktörler;

- Prostaglandin E2 (PGE2),
- tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α),
- interlökin 1 (IL-1),
- interlökin 6 (IL-6) gibi sitokinlerdir.

Kemik mineral döngüsüne etki eden diğer maddeler lökotrien ve nitrik oksitir (NO)'dir.

Kemiğin yapı ve fonksiyonu devam eden kemik döngü sürecine bağlıdır. Kemik yapım ve yıkımı iki farklı hücre grubu olan osteoblast ve osteoklast tarafından gerçekleştirilir. Osteoblastlar, osteoid yapan mezenkimal hücrelerdir. Osteoklastlar ise kemik iliğinden köken alan çok çekirdekli, kemik demineralizasyonu ve rezorpsiyonu yapabilen hücrelerdir. Normal şartlar altında kemik resorpsiyonu ve mineralizasyonu denge içinde devam eden bir süreçtir. Patolojik hallerde bu denge bozulur. Eğer aşırı kemik kaybı ön plana çıkar ise osteoporoz, kemik yapımı ön plana çıkar ise osteopetroz söz konusu olur. Sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonlar, hepsi bu homeostazi etkiler görünmektedir. Osteoklast farklılaşmasını düzenleyen anahtar moleküller osteoprotegerin (OPG) ve RANKL kemik yapım ve yıkımı arasındaki hassas dengeyi ve altta yatan kemik metabolizmasının moleküler yapısını açıklamaktadır.

Osteoporoz, yaşlanmaya ve/veya gonadal yetersizliğe bağlı primer osteoporoz veya kronik bir hastalık nedeniyle gelişen hızlanmış kemik kaybına bağlı sekonder osteoporoz şeklinde iki gruba ayrılabilir. Bu kronik hastalıkların bazıları bağ doku hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği, gastrointestinal hastalıklar, tirotoksikoz, hiperparatiroidi gibi hastalıklardır.

Sekonder osteoporoz etyolojisinin nedenleri, endokrin nedenler (hipertiroidizm, Cushing sendromu, primer ve sekonder hiperparatiroidizm, hipogonadizm, hiperprolaktinemi, gebelik, anoreksia nervoza), inflamatuvar nedenler (romatoid artrit, ankilozan spondilit), hematolojik nedenler (mastositoz, lösemi, lenfoma, multiple myelom), konjenital nedenler

(Menkes sendromu, Marfan sendromu, homosistinüri, Ehlers-Danlos sendromu, osteogenezis imperfekta), fonksiyonel nedenler (organ transplantasyonu sonrası, post gastrektomi, karaciğer hastalıkları, immobilizasyon, kronik obstruktif akciğer hastalıkları), ilaçlar (L-tiroksin, kortikosteroidler, barbituratlar, fenitoin, heparin, warfarin, metotreksat, siklosporin) olarak sıralanabilir.

D vitamin yetersizliği, özellikle aktif D vitamini olan kalsitriolün eksikliği, bağırsaktan kalsiyum ve fosfor emilimini bozar ve böylece paratiroid hormon üzerine olan tonik baskı kalktığı için sekonder hiperparatiroidi gelişir. Bu durum kemik fragilitesinde artışa ve kemik kitlesinde azalmaya yol açtığı gibi nöromüsküler bozulma da düşme riskini artırır. Bu durumu önlemek için verilen D vitamin replasmanı kemik kitlesindeki azalma, kemik rezorbsiyonundaki artma, fraktür oranını ve hatta düşme olasılığını azaltır (42).

İnflamatuar bağırsak hastalıkları osteopeniye ve müteakiben artmış kırık riski ve osteoporoza yol açar (43,44). Crohn hastalığında osteoporoz ülseratif kolite göre 2 kat daha sık izlenir. İnflamatuar bağırsak hastalığı olanlarda fraktür riski normal popülasyona göre artmıştır (45). İnflamatuar bağırsak hastalığında enflamasyon ve buna bağlı salınan sitokinler kemik yapımını baskılamaktadır (46). Crohn hastalarında malabsorbsiyon, malnutrisyon ve immobilizasyon nedeniyle kemik yapımı baskılanmıştır. Crohn hastalığında düşük kemik mineral dansitesi için major belirleyiciler birikmiş kortikosteroid kullanımı, jejunal tutulum, bağırsak rezeksiyonu ve düşük vücut ağırlığıdır. Crohn hastalığı tanısı almış erkekler kadınlara kıyasla osteoporoz açısından daha risklidirler (47).

Romatoid artrit tanısı ile izlenen hastalarda osteoporoz ve kalça kırığı riski normal popülasyona göre iki kat fazladır (48). Osteoporoz'a sinovial makrofajlar, fibroblastlar ve T hücrelerinden salınan IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler ve glukokortikoid kullanımının yol açtığı düşünülmektedir. Sistemik lupus eritematozusta osteoporoz sıklıkla izlenmektedir. Romatoid artritte olduğu gibi sitokinler osteoporoz gelişiminde rol oynarlar.

Kronik obstruktif akciğer hastalığında osteoporoz izlenmesinin en önemli nedenleri, uzun süreli steroid kullanımı, solunum yetmezliğine bağlı hareket kısıtlılığı, sigara kullanımı şeklinde sıralanabilir.

Organ nakli sonrasında izlenen düşük kemik kitlesinde glukokortikoid kullanımı önemli bir risk faktörüdür (49). Bunun dışında siklosporin ve immobilizasyon osteoporoza yol açan diğer nedenler arasında yer almaktadır (50). Yine organ nakli sonrasında izlenen düşük

kemik kitlesi gelişiminde, hiperparatiroidi, hipogonadizm ve kötü beslenmenin yeri vardır (51).

Osteoporoz ve osteopeni kronik karaciğer hastalığının bilinen bir komplikasyonudur (52). Kronik karaciğer hastalığında osteoporoz riski, sağlıklı populasyona göre iki kat daha fazladır ve fraktür riski artmıştır (53). Kronik karaciğer hastalarının çoğu yaşlılık dönemlerine kadar yaşayamadıkları için, bu hasta grubunda izlenen osteoporotik kırık tipi kalça kırığından ziyade vertebra kırığıdır. Primer bilier sirozun osteoporoz yaptığı iyi bilinmekle beraber, diğer kronik karaciğer hastalıkları da (primer sklerozan kolanjit, kronik otoimmün ve viral hepatit, hemokromatoz, alkol nedenli karaciğer hastalığı) osteoporoza yol açabilir (52,54-56). Bu hastalarda azalmış kemik yapımı ve artmış kemik yıkımı gibi birçok mekanizma kemik kaybına yol açmaktadır. Karaciğer hastalığında kolestaz ve bazı ilaçlar D vitamin emilimini bozar. Ayrıca hipogonadizm ve azalmış kalsiyum emilimi bu hastalarda kemik kaybına yol açar.

Osteoblastların ve mezenkimal stromal hücrelerin yerel olarak ürettikleri bir faktörün osteoklastların aktivite ve oluşmasını uyardığı ilk olarak 26 yıl önce saptanmıştır (57,58). Bu keşiften 10 yıl sonra osteoklast uyarısının osteoblast yüzeyi ile alakalı olduğu anlaşılmıştır (59). 5 yıl sonra da kemik iliği hücreleri ile osteoblastların hücreler arası temasının osteoklastogenez için gerekli olduğu kokültür sistemlerinde gösterilmiştir (60). Daha sonra osteoklastogenez uyarıcı bu osteoblast kaynaklı uyarıcının RANKL olduğu anlaşılmıştır (61,62). RANKL; TNF ligand aile üyesidir. RANKL T hücreleri tarafından ekspres edilir ve dentritik hücrelerin naiv T hücrelerini uyarmasını sağlar. İnsan RANKL geni, 317 aminoasit kodlayan bir gendir. RANKL mRNA'nın periferal lenf nodları, kemik, timus, dalak, peyer plakları ve bağırsakta yüksek oranda ekspres edildiği saptanmıştır (63). Erişkin kemikte en yüksek düzeyde RANKL mRNA spongioza, metafiz ve hipertrofik kondrositlerde bulunur. Diafizel yakanın periosteal tarafında yüksek RANKL mRNA ekspresyonu kemik uzaması sırasında bu bölgedeki yapılanmadan sorumlu, artmış osteoklastik aktivite ile uyumludur. RANKL tip 2 transmembran bir proteindir. In vitro M-CSF yokluğunda RANKL erişkin osteoklastların kemik resorpsiyonunu uyarabilir.

Bütün bu RANKL etkileri OPG tarafından tamamen bloke edilir (63). OPG'nin keşfi sıçan fetal bağırsak cDNA'nın incelendiği çalışmada olmuştur (64). Transjenik farelerde yapılan aşırı ekspresyon çalışmalarında OPG'nin osteopetroz gelişimine yol açtığı izlenmiştir.

OPG hayvan çalışmalarında vucudun değişik yerlerinde saptanmıştır. Her ne kadar OPG osteoblastlardan ve immun kompetan hucrelerden (T hucreler, B hucreler ve monositler) salınıyor gorunse de, fibroblastlarda, endotel hucresinde ve duz kas hucresinde yuksek mRNA duzeyleri izlenmiştir (65). OPG mRNA ekspresyonu kemik, beyin, mide, karaciğer, kalp, bobrek, ince bağırsak, tiroid bezi, spinal kord gibi diğer organlarda da goşterilmiştir . İnsan OPG geni tek kopya gendir, 5 egzondan oluşur, 29 kilobazlık yer işgal eder ve kromozom 8 uzerinde yer alır. OPG promoter sekansı core binding factor a-1 (cbfa-1) için bağlayıcı elementler içerir. Cbfa-1 OPG sentezini hızlandırır (66). Cbfa-1 mezenkimal hucrelerden osteoblastların gelişimi için gerekli bir proteindir. OPG transmembran parçası olmayan bir glikoproteindir. OPG hucre membranını geçen parçasının olmaması nedeniyle tuzak reseptor olarak kabul edilmiştir. Yani RANKL yokluğunda etki goşteremez. Bununla birlikte membrana eşlik eden formu da tanımlanmıştır. OPG bazik glikozile proteindir ve 4 adet glikozilasyon bolgesi vardır. OPG diğer tumör nekrozis faktör reseptör (TNFR) süper aile üyelerinden farklı olarak hidrofobik transmembran geçiş goşteren hidrofobik sekans içermez. N terminali, osteoklast farklılaşma ve fonksiyonu için gereklidir. OPG 7 alandan oluşur. Alan 1-4 TNFR ailesinde yuksek oranda korunmuş sistinden zengin bir bolgedir ve RANKL bağlanma ve inhibisyon aktivitesi bu bolgede gerçekleşir. Alan 5 ve 6 ölü alan homolog bolgedir. Alan 7 heparin bağlayıcı aktivite goşteren bolgedir ve dimerizasyon buradan gerçekleşmektedir. OPG 55 kd glikoproteindir ve intrasellüler olarak 110 kd disulfid bağlı dimerik forma donuşturülür (64). OPG'nin her nekadar bir miktar monomerik formu salgılansa da, ön plandaki ekstrasellüler formu dimerdir (64). OPG'nin monomerik formu plazmadaki proteoliz aracılığı ile az bir miktarda üretilmektedir. Transjenik fare deneylerine dayanarak OPG'nin trimerik formda da olabileceği öngörölmüştür. OPG ön planda salgısal bir proteindir. Her iki formda pozisyon 22'deki glutamik asidin hemen öncesinden kesilerek 380 aminoasitten oluşan erişkin OPG'nin ortaya çıkmasını sağlar. Osteoklastların farklılaşması, aktivasyonu ve surveyi RANKL ve OPG arasındaki denge ile düzenlenmektedir. Birçok büyüme faktörü, hormon ve sitokin OPG uzerine olan etkisini, OPG mRNA sentezi uzerinden goştermektedir. Bu faktörlerin etkileri, OPG ve RANKL uzerinde zit olmakta ve böylece resorbtif veya antiresorbtif olsun etki amplifiye olmaktadır. TNF- α , IL-18, IL-1, α steroid hormonlar, östrojen, 1,25 dihidroksi vitamin D3, TGF- β , kemik morfogenetik protein (BMP) OPG mRNA'yi artırdığı bilinen sitokin ve hormonlardır. Bunun tam tersine glukokortikoidler,

paratiroid hormon, siklosporin A, prostoglandin E2, bazik fibroblast büyüme faktörü OPG ekspresyonunu baskılar. Kemik yüzeyine uygulanan gerilim kuvveti OPG mRNA ekspresyonunu artırır (67). OPG serum konsantrasyonunun yaşla beraber arttığı saptanmıştır. OPG düzeyleri, düşük östrojen düzeylerine rağmen postmenopozal kadınlarda genç erişkinlerden daha yüksek izlenmiştir. Yine anoreksia nervoza tanılı erişkin kadınlarda OPG düzeyleri beslenme durumu ve lomber z skorları ile ters orantılı izlenmiştir (68). OPG ekspresyonu sadece kemiğe özgü değildir. OPG'nin iskelet sistemi dışında da bazı etkileri vardır. OPG'nin diyabet ve kardiyovasküler mortalite ile ilişkisi, eksikliğinin vasküler kalsifikasyona yol açması ile ilişkili olabileceğini gündeme getirmiştir (69). Yapılan fare çalışmalarında, OPG yokluğunda büyük arterlerin media tabakasında kalsifikasyon geliştiği gözlenmiştir. Kemik, devam eden bir süreç içinde kemik yapan osteoblastların ve kemik rezorbe eden osteoklastların koordine ettiği bir denge içinde yapılır ve resorbe edilir. Bu yapısal bütünlük ve bozulmadan devam eden döngü birçok iç ve dış etmenden etkilenir. OPG, RANK ve RANKL osteoklast oluşumu, gelişimi, füzyonu, aktivasyonu ve apoptozu için üç önemli düzenleyici birimi oluşturur. OPG'nin biyolojik etkisi, osteoklastogenezin son basamağının yani osteoklast öncülerinden osteoklasta dönüşümün engellenmesi ve erişkin osteoklastların aktivitesinin baskılanmasıdır. OPG B hücre olgunlaşmasında ve etkin antikor yanıtı oluşumunun sağlanmasında da kritik rol oynar.

RANKL, OPG'ye göre daha geç keşfedilmiştir. RANKL 317 aminoasitten oluşan 38 kd moleküler ağırlığa sahip tip 2 transmembran bir protein formunda olduğu gibi, soluble formda da olan bir proteindir. İnsan RANKL geni 13q14'de lokalize edilmiştir. RANKL TNF aile üyesi olup etkisini diğer bir membran bağlı TNF reseptör aile üyesi olan RANK üzerinden gösterir. RANKL gen ekspresyonu kemik iliği stromal hücrelerde ve osteoblastlarda en fazla lenfoid doku ve kemik dokusunda izlenir. RANKL, kemik ve lenf dokusu başta olmak üzere kemik iliği stroma hücreleri, sinovyal hücrelerde bulunur. RANKL, osteoklast üzerindeki yüksek affinite reseptörü olan RANK'a bağlanarak farklılaşma ve aktifleşmesini sağlar. RANKL, kemik rezorbsiyonuna ve hiperkalsemiye yol açan hemen hemen tüm faktörler tarafından indüklenir. Bu etki, RANKL'a bağlanarak, RANKL'ın etkisini bloke eden OPG tarafından antagonize edilir. Primer olarak aktif T hücreleri ve bazı kanser hücrelerinden salınan serbest formu dışında RANKL'ın, ya hücreye bağlı olarak yada hücreSEL formun TNF α konverting enzyime like proteaz (TACE) tarafından kesilerek oluşan budanmış ektodomain

formu mevcuttur. T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) (-/-) faredeki aktive olmuş T hücreleri RANKL üretir ve ciddi osteoporoza neden olur. Bu durumdaki farelere OPG tedavisi verildiğinde kemik mineral dansitelerinde anlamlı düzelme izlenir. Artritte izlenen kemik rezorpsiyonu IL-6 ve TNF α gibi resorbtif mediatörler tarafından daima RANKL üzerinden gerçekleşmektedir (70).

RANKL reseptörü olan RANK, membrana bağlı TNF süper ailesinin bir üyesidir. Osteoklastlar, dentritik hücreler, T ve B hücre grupları ve fibroblastlarda bulunmaktadır. (71). RANKL tarafından uyarılan RANK, intrasellüler yolakları harekete geçirir. Bunlar n-jun, NF- κ B, serin/threonin kinaz, Akt/PKB yolaklarıdır. TNF reseptör süper ailesinin tipik özelliği olan 4 adet sistinden zengin yalancı tekrar bölgesi içeren RANK, 616 aminoasitten oluşan tip 1 transmembran bir proteindir (72). RANK insan kromozom haritasında 18q22.1'de saptanmıştır. OPG'de olduğu gibi RANK'ın ekstrasellüler parçası 4 adet sistinden zengin yalancı tekrar ve 2 adet N-glikozilasyon bölgesi içerir. RANK aktivasyonundan sonra intrasellüler ileti TNF reseptör associated factor (TRAF) aracılığı ile protein kinaz JNK ve NF- κ B'ye iletilir. TRAF; 6 adet sitoplazmik adaptör proteinden oluşan bir ailedir. TRAF, NF- κ B ve diğer transkripsiyonel faktörleri aktive ederek apoptoz, survey ve çoğalma üzerine olan etkilerini gösterir (73).

Yeni bulgular OPG ve RANKL'ın immune sistemin düzgün gelişimi ve fonksiyonunda anahtar rol üstlendiğini göstermektedir. RANKL, aktive T lenfositler tarafından bol miktarda üretilmektedir. T lenfositler tarafından üretilen RANKL ise dentritik hücrelerin apoptozunun önlenmesi ve yaşam süresinin uzatılmasını sağlamaktadır. Bu dentritik hücreler bol miktarda RANKL reseptörü bulundurmaktadırlar (74). In vivo olarak aktive T lenfositlerin RANKL üreterek osteoklastların uyarılmasını ve böylece romatoid artritli hayvan modellerinde osteoporoz gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Osteoporozun uzun zamandır, son dönem karaciğer yetmezliğinin potansiyel bir komplikasyonu olduğu bilinmektedir (75). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada sirozlu hastalarda karaciğer hasarının şiddeti ile osteoporoz arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (75). Hemakromatoz, Wilson hastalığı, alkole bağlı karaciğer hastalığı, steroid tedavisi gören otoimmün hepatit, kolestatik karaciğer hastalığı gibi farklı etyolojik sebeblere bağlı karaciğer hastalarında yapılan çalışmalarda kemik yapımında azalma gösterilmiştir. Alkolik karaciğer hasarında izlenen azalmış kemik mineral dansitesinin patogenezi tam aydınlatılmamış olsa da,

düşük D vitamini düzeyi, hipogonadizm, kötü beslenme, hareketsizlik, azalmış kas kitlesi, erken menapoz ve sıklıkla eşlik eden sigara tüketimi, azalmış bağırsak kalsiyum emilimi gibi faktörler rol oynuyor olabilir (77). Osteoporoz, siroz hastalarında sık rastlanan bir bozukluktur. Primer bilier siroz hastalarında osteoporoz çevresel, genetik ve hastalıkla ilişkili nedenlerden kaynaklanabilir. Kronik kolestatik karaciğer hastalarında osteoporoz ve kırık iyi bilinen komplikasyonlar arasındadır. Karaciğer transplantasyonu bekleyen siroz tanılı hastaların % 34.6'sında osteopeni ve % 11.5'inde osteoporoz izlenmiştir (75).

Kronik karaciğer hastalıklarının, karaciğer dışı bulguları arasında kemik metabolizma bozukluğu iyi bilinmektedir (78). Kronik karaciğer hastalığındaki artmış kemik kaybının muhtemel sebepleri arasında azalmış kemik döngüsü ve yapımı gelir (79). Kronik karaciğer hastalıklarındaki osteoporoz sıklığı % 10 ile % 60 arasında değişir (55). Gallego Jojo FJ ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bir çalışmada kronik hepatit B ve C'ye bağlı karaciğer sirozlu hastalarda osteoporoz sıklığını yaklaşık % 50 olarak saptamışlardır (80). Her ne kadar osteoporozda bir çok risk faktörü belirlenmiş ise de, karaciğer hastalıklarındaki spesifik gastrointestinal diğer risk faktörleri tam olarak aydınlatılmamıştır. Kronik karaciğer hastalıklarında osteoporozu daha da şiddetlendiren diğer muhtemel risk faktörleri ise kolestatik, kortikosteroid kullanımı, fizik aktivite yetersizliği, alkol alımı, D vitamini yetersizliği ve malnütrisyonudur. Fakat bu parametrelerin kıyaslamalı etkilerini irdeleyen çalışmaların sonuçları uyumlu değildir. Alkolik karaciğer hastalığına bağlı gelişen sirozda da osteoporoz geliştiği yakın zamandaki çalışmalar ile gösterilmiştir (81). Alkolik karaciğer hastalığı olanlarda osteoblast fonksiyonlarının baskılandığı ve OPG daha çok osteoblastlardan salgılandığından ötürü alkolik karaciğer sirozu olan hastalarda OPG düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun tam tersine yapılan bazı çalışmalarda ise, OPG düzeyleri alkolik sirozlu hastalarda daha yüksek bulunmuştur. Alkolik siroz, kronik immün aktivasyonun iyi bilinen bir nedenidir. Birçok çalışma, dekompanse alkolik sirozda IL-1, IL-6 ve TNF α 'nın serum düzeylerinin yükseldiğini göstermiştir (82). Proinflamatuvar sitokinler OPG üretimini kuvvetlendirir ve artmış RANKL düzeyi sayesinde osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu gerçekleştirir. Alkol hem osteoblast inhibisyonu hem de osteoklast aktivasyonu sayesinde kemik kaybını indükler. Bazı çalışmalarda ise RANKL artışına OPG artışının eşlik ettiği izlenmiştir. Bu da OPG'nin kompensatuar

olarak arttığı şeklinde izah edilmiştir (83). Szalay ve arkadaşları tarafından yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada primer bilier sirozlu hastalarda RANKL düzeyi düşük iken, OPG düzeyi yüksek saptanmıştır (84). Bu da alkolik karaciğer hastalarında osteoporoza yol açan mekanizmanın primer bilier sirozdaki mekanizmadan farklı olduğunu düşündürmektedir. Kronik hepatit B, C ve D virus enfeksiyonunun kemik döngüsü üzerine etkisini irdeleyen çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bazı çalışmalarda kronik hepatite bağlı sirozlu hastalarda osteoporoz sıklığı % 53 olarak bildirilmiştir. Schiefke ve arkadaşları siroz olmayan kronik B ve C hepatit tanılı hastalarda kemik mineral dansitesinde azalma izlemiştir (85).

Sirozlu hastalarda osteoporoz, kemik metabolizması ve sitokinlerle ilişkisini irdeleyen çok sayıda çalışma olmasına karşın, siroz olmayan kronik hepatit B ve C tanılı hastalarda yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Biz bu nedenle siroz olmayan kronik hepatit B tanılı hastalarda kemik mineral dansite, kemik yapım ve yıkım parametreleri ve serum RANKL ve OPG düzeyleri arasındaki ilişkiyi irdeledik.

MATERYAL VE METOD:

Fakülte etik kurulundan onay alınarak, Gastroenteroloji Bilim Dalı ve Enfeksiyon hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğine başvuran 16 adet kronik hepatit B tanılı hasta ve 31 adet sağlıklı kontrol vakası üzerinde çalışılmıştır. Hastalarla yapılan yüz yüze görüşme ve fizik muayene sonucunda;

- beden kitle indeksi,
- sigara kullanımı,
- fiziksel aktivite durumu,
- menstruasyon durumu,
- gebelik sayısı,
- kahve alımı tespit edilmiştir.

Osteoporoz üzerine etki eden kortikosteroid, kalsiyum ve D vitamini gibi ilaçları daha önce almış veya almakta olanlar çalışma dışı tutulmuştur. Çalışmaya dahil edilen kadın hastaların hiçbiri hormon replasman tedavisi almamıştır. Kronik hepatit B tanılı hastalarda hepatit B enfeksiyonu için pozitif serolojik belirteçler ve pozitif polimeraz zincir reaksiyonu sonucu laboratuvar olarak gösterilmiştir.

Dışlanma kriterleri:

- Serolojik olarak hepatit D ve C virüsüne karşı pozitif testi olanlar,
- HIV pozitif olanlar,
- 1/160 üzeri anti nükleer antikor (ANA) pozitif veya otoimmün hepatit hikayesi olanlar,
- dekompanse karaciğer hastalığı olanlar,
- metabolik karaciğer hastalığı olanlar,
- kötü klinik durumu olanlar,
- diabetes mellitus, malnutrisyon, kardiyomyopati, nörolojik, metabolik, otoimmün,

neoplastik hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca postmenopoz kadınlar da çalışma dışı tutuldu.

Kemik dansitometri ölçümleri:

DXA, kemik dansite ölçümleri, Hologic QDR 4500W Elite serisi cihazla gerçekleştirilmiştir. Kullanılan dual enerji 100/140 Kv, 40 mA düzeylerindedir. Çekim süresi ortalama 45 saniye olmakla beraber hastanın yatırılması, lomber vertebra ve femur incelemeleri için pozisyon değiştirilmesi ve verilerin bilgisayara girilmesi ve yazıcıdan çıktı alınması her olgu için ortalama 15 dakika almaktadır. Cihazın günlük kalibrasyonu dört lomber vertebra kemik mineral içeriğini yansıtacak miktarda kalsiyum hidroksiapatit kristalleri içeren fantom (lomber vertebra QC Phantom) kullanarak yapılmıştır. Kemik mineral dansite ölçümleri görüntü alanına girebilecek her türlü metalik eşya dışlanarak, AP (anterior-posterior) pozisyonda L1, L2, L3, L4, L1-L4 lomber vertebra, femur seviyesinde; femur boynu, büyük trokanter, intertrokanterik alan, ward's üçgeni gerçekleştirilmiştir. Görüntüleme ve değerlerin ölçümü sırasında hastanın ideal pozisyonda olmasına dikkat edilmiştir.

Biyokimyasal parametreler:

Gece açlığından sonra hasta ve kontrol grubundan alınan sabah açlık kanları santrifüj edildikten sonra serumlarından aspartat ve alanin aminotransferaz, direk ve indirek bilirubin, gamma glutamyl transpeptidaz ve alkalen fosfataz, üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor, osteokalsin, TSH, LH, FSH, östradiol, kortizol, prolaktin değerleri ölçüldü. İdrarda kalsiyum, fosfor 24 saatlik idrar toplanarak, deoksipiridinolin anlık bakılan idrarda ölçüldü. Aspartat ve alanin aminotransferaz, direk ve indirek bilirubin, gamma glutamyl transpeptidaz ve alkalen fosfataz üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor, idrar kalsiyumu ve fosfor düzeyleri Beckman Coulter LX20 cihazında rutin yöntemlerle, TSH, LH, FSH, östradiol, kortizol, prolaktin seviyeleri Beckman Coulter UniCel DxI 800 cihazında ve osteokalsin B.R.A.H.M.S Kryptor cihazında kemiluminesans yöntemle, deoksipiridinolin değerleri ise Chrosystems 1100 cihazında ve HPLC yöntemi ile ölçüldü. RANKL ve OPG sandwich ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Hepatit işaretleyicileri:

- Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antijenine karşı antikor (anti-HBs), hepatit B kor antijenine karşı antikor (anti-HBc), hepatit B early antijenine karşı antikor (BIOKIT, s.a. Barcelona-Spain);
- Hepatit B early antijeni (HBeAg) (Dia. Pro Diagnostic Bioprobes, Milano-Italy);
- İnsan immün yetmezlik virüsüne karşı antikor (Anti-HIV) (Biomerieux, Marcy

I'Etoile-France) enzim immuno assay (ELISA) yöntemi ile ölçüldü.

Anti-nükleer antikor (ANA) (Euroimmun, Luebeck-Germany) Immunofloresan test ile ölçüldü.

İstatistik analiz:

Veriler devamlı değişkenler için ortalama ve standard sapma olarak verilmiştir. Sürekli olmayan değişkenler için ise sıklık aralıkları belirtilmiştir.

Gruplar arasında verilerin dağılımının homojen olup olmadığı One-Sample Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Gruplar arası fark parametrik değişkenler için independent sample t test ile ve nonparametrik değişkenler için ise Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası osteoporoz risk faktörlerinin karşılaştırılması için ki-kare testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arasındaki korrelasyon değerlendirilmesi, Spearman korrelasyon testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR:

Çalışmaya alınan 16 kronik hepatit B hastasının yaş ortalaması (37.56 ± 10.26) ve 31 sağlıklı kontrol olgusunun yaş ortalaması (36.87 ± 9.89) şeklindedir.

Kronik hepatit B tanılı vakaların 13'ü erkek, 3'ü kadın ve kontrol grubunun ise 18'i erkek, 13'ü kadın olarak dağılım göstermiştir. Her iki grubun demografik ve hastalıkla ilgili verileri **tablo-1**'de gösterilmiştir.

Her iki grubun cinsiyet dağılımı ($p=0.112$) ve yaş dağılımı ($p=0.824$) arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Gruplar arasında sigara ($p=0.769$), fizik aktivite ($p=0.846$), kahve tüketimi ($p=0.89$), ailede osteoporoz öyküsü ($p=0.06$) ve vücut kitle indeksi ($p=0.686$) bakımından anlamlı fark izlenmemiştir.

Kronik hepatit B hastalarının HBV DNA ortalama ve standart sapma değerleri **tablo-2**'de verilmiştir. Kronik hepatit B hastalarının karaciğer biyopsi evrelendirme skorları ve yüzde dağılımı **tablo-3**'de belirtilmiştir.

Her iki grupta osteoporoz risk faktörleri bakımından homojen dağılım göstermektedir.

One sample kolmogorov Smirnov testine göre gruplar arası dağılımı homojen olan parametreler independent-t test ile, gruplar arası dağılımı homojen olmayan parametreler ise Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Buna göre her iki grubun, indirekt bilirubin, globulin, internasyonal normalizasyon oranı (inr), glukoz, üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor, osteokalsin, tiroid stimulan hormon, kortizol, lutenizan hormon, folikül stimulan hormon, östradiol, 24 saatlik idrar kalsiyum atılımı, 24 saatlik idrar fosfor atılımı, idrar deoksipridinolin değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmez iken; alanin transaminaz, aspartat transaminaz, albumin, direkt bilirubin değerleri arasında anlamlı fark izlenmiştir.

P değerleri, ortalama ve standart sapma **tablo-4**'de sunulmuştur. Hepatit B grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında ortalama lomber ve femur boyun KMD değerleri, t ve z skorları arasında anlamlı fark izlenmemiştir (**grafik-1**). Bulgular **tablo-5**'de sunulmuştur.

Her iki grup OPG ve RANKL değerleri arasında anlamlı fark izlenmiştir. OPG serum düzeyi hepatit grubunda kontrol grubuna göre yüksek izlenmiş iken ($p=0.029$) (**grafik-2**), RANKL serum düzeyi hepatit grubunda kontrol grubuna göre düşük izlenmiştir ($p=0.004$) (**grafik-3**). Spearman's korrelasyon testi ile lomber ve femur boyun t ve z-skorları, KMD değerleri, idrar deoksipridinolin ve serum osteokalsin değerleri ile RANKL ve OPG arasında korrelasyon izlenmemiştir. Korrelasyon p ve r değerleri **tablo-6**'de sunulmuştur.

Olguların cinsiyet dağılımı ve kronik hepatit B hastalarının histolojik evre dağılımı grafik-5 ve grafik-6'da sunulmuştur.

Tablo-1: Hepatit B ve kontrol gruplarının klinik bulgularının ve osteoporoz risk faktörlerinin karşılaştırılması (AD=anlamli değil)

	Hepatit B grubu (n=16)	Kontrol grubu (n=31)	P
Cinsiyet (kadın/erkek)	3/13	13/18	AD
Yaş	37.56±10.26	36.87±9.89	AD
Vücut kitle indeksi	27.19±4.66	26.60±5.30	AD
Sistolik tansiyon	117.50±13.41	114.19±13.85	AD
Diastolik tansiyon	73.12±10.62	74.51±12.40	AD
Sigara (içiyor/içmiyor)	6/10	13/18	AD
Fizik aktivite (az/orta/iyi)	3/10/3	6/17/8	AD
Kahve alımı (alıyor/alıyor)	16/0	26/5	AD
Ailede osteoporoz (var/yok)	0/16	6/25	AD

Tablo-2: Kronik hepatit B olgularının HBV DNA düzeyleri ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.

*HBV DNA: hepatit B virüs DNA

	Toplam sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama
*HBV DNA	16	707	10000000	3128636.69±4410069.23

Tablo-3: Kronik hepatit B olgularının karaciğer biyopsi evrelendirme skor dağılımı yüzde değerleri.

Kronik hepatit histolojik evre	Sıklık	Yüzde
1.00	3	18.8
2.00	8	50.0
3.00	3	18.8
4.00	1	6.3
5.00	1	6.3
Total	16	100.0

Tablo-4: Hepatit B ve kontrol grubunun OPG, RANKL, kemik metabolizma parametreleri ve karaciğer fonksiyon parametrelerinin karşılaştırılması ve p değerleri. (Not = Değerler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir) (AD= Anlamlı değil) (INR= İnternasyonal normalizasyon oranı)

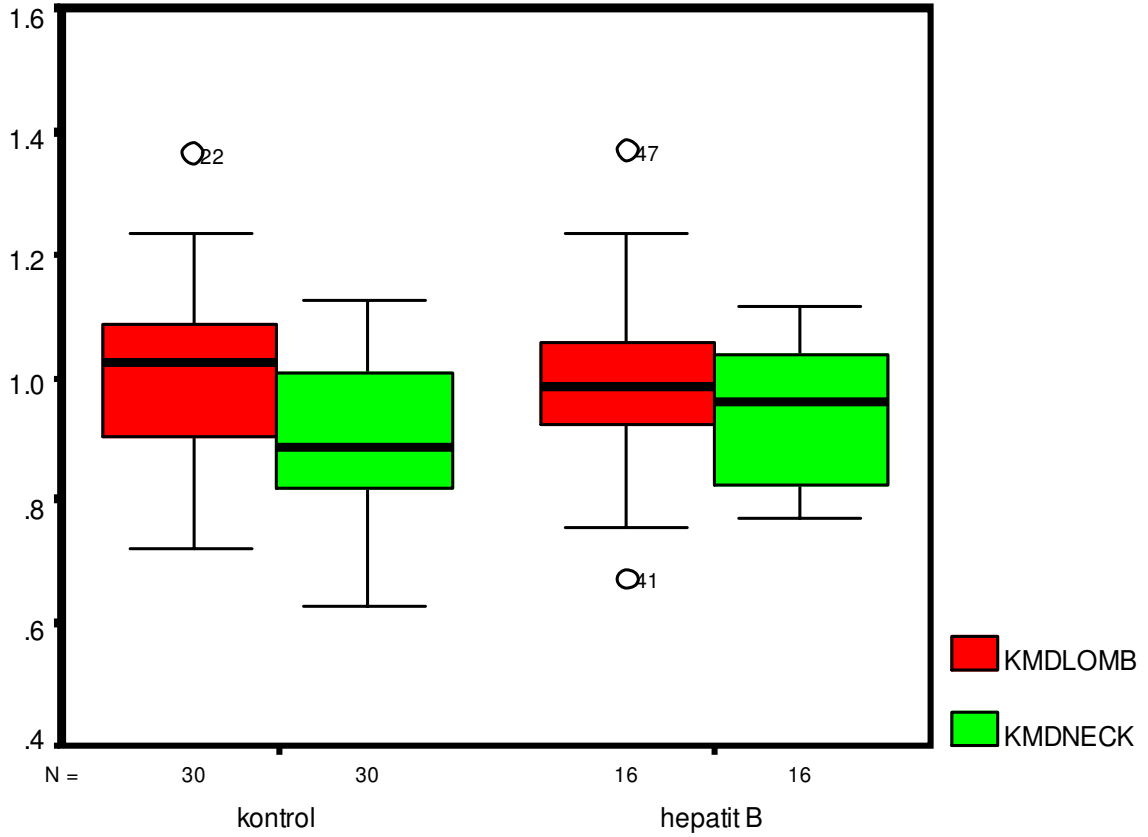
	Hepatit B grubu (n=16)	Kontrol grubu (n=31)	P
Alanin transaminaz	87.81±74.92	22.87±9.71	0.03
Aspartat transaminaz	67.12±60.28	21.76±5.59	0.009
Direkt bilirubin	0.20±0.08	0.13±0.05	0.008
İndirekt bilirubin	1.07±0.58	0.81±0.34	AD
Alkale fosfataz	73.56±24.26	60.03±14.84	AD
Gamma glutamil transpeptidaz	32.18±13.47	21.70±8.77	AD
Albumin	3.96±0.43	4.26±0.27	0.02
Globulin	3.04±0.47	2.99±0.38	AD
INR*	1.01±0.07	1.00±0.08	AD
Kalsiyum	9.46±0.47	9.52±0.43	AD
Fosfor	3.61±0.74	3.58±0.57	AD
Osteokalsin	22.72±7.17	23.04±9.87	AD
Deoksihidroksikortizol	8.67±3.67	10.43±3.82	AD
İdrar kalsiyumu	140.15±125.30	127.92±116.62	AD
İdrar fosforu	673.12±345.31	618.17±223.66	AD
RANKL	0.16±0.00	0.17±0.01	0.004
OPG	569.24±173.40	441.13±189.08	0.029

Tablo-5: Hepatit grubu ile kontrol grubunun kemik dansitometri parametrelerinin karşılaştırılması. (değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir)

dansitometri parametreleri	Hepatit B grubu	Kontrol grubu	P değeri
LOMBER (L1-4)			
KMD	0.99±0.16	1.00±0.15	0.91
t-skoru	-0.78±1.51	-0.61±1.38	0.70
z-skoru	-0.63±1.46	-0.45±1.37	0.64
FEMUR BOYUN			
KMD	0.94±0.11	0.89±0.12	0.24
t-skoru	-0.18±1.05	-0.42±1.16	0.50
z-skoru	0.44±0.91	0.14±1.22	0.13

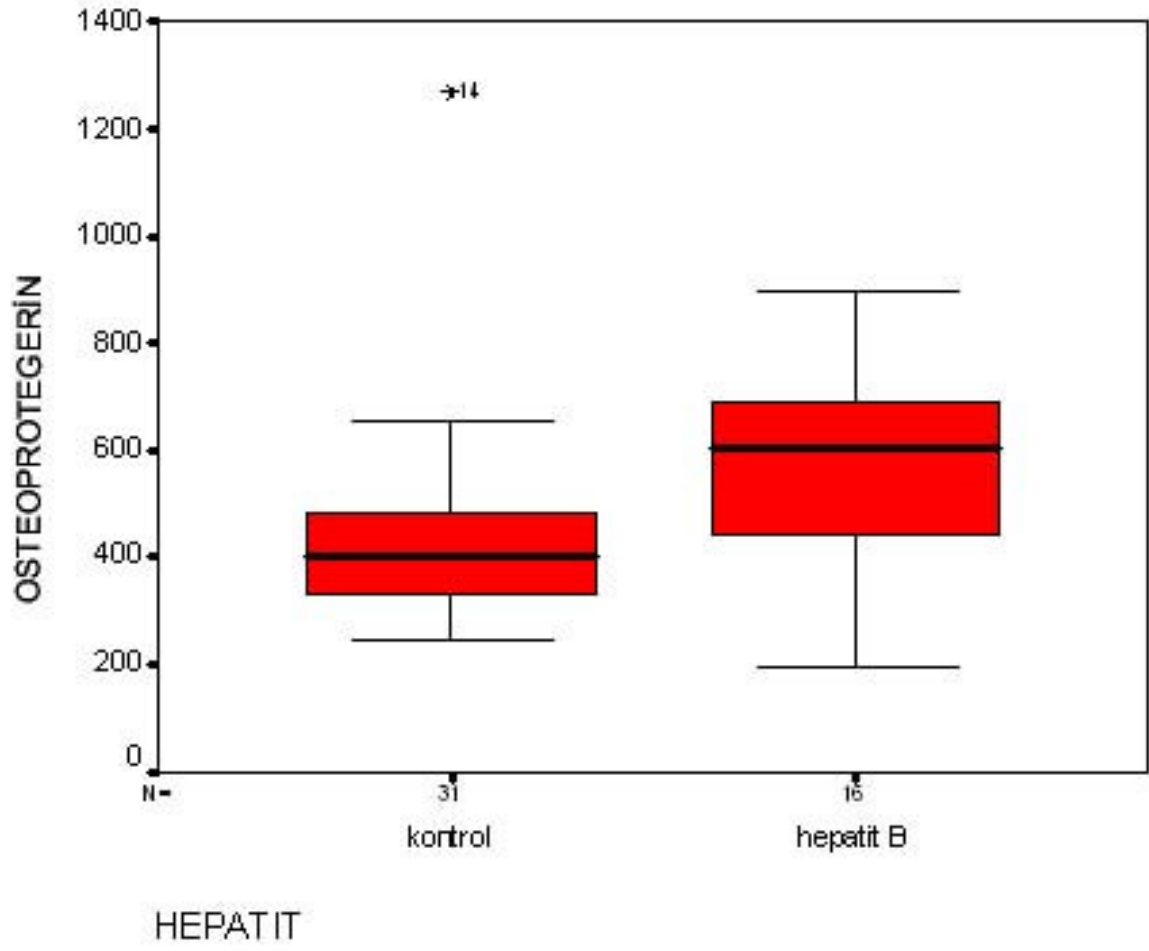
Tablo-6: RANKL ve OPG serum düzeyleri ile osteokalsin, deoksiipridinolin, lomber KMD (kemik mineral dansitesi) , femur boyun KMD, lomber t-skoru, femur boyun t-skoru, lomber z-skoru, femur boyun z-skoru değerlerinin korelasyon sonuçları. (p<0.05 anlamlı kabul edildi)

		OPG	RANKL
Osteokalsin	Korelasyon katsayısı	—0.232	0.111
	p-değeri	0.117	0.460
	N	47	47
Deoksiipridinolin	Korelasyon katsayısı	—0.185	—0.061
	p-değeri	0.212	0.681
	N	47	47
KMDlomber	Korelasyon katsayısı	0.117	0.087
	p-değeri	0.440	0.565
	N	46	46
KMDboyun	Korelasyon katsayısı	0.123	0.012
	p-değeri	0.416	0.936
	N	46	46
t-lomber	Korelasyon katsayısı	0.057	0.063
	p-değeri	0.703	0.676
	N	47	47
z-lomber	Korelasyon katsayısı	0.070	0.134
	p-değeri	0.640	0.369
	N	47	47
t-femur	Korelasyon katsayısı	0.049	—0.052
	p-değeri	0.748	0.731
	N	46	46
z-femur	Korelasyon katsayısı	0.112	0.080
	p-değeri	0.457	0.080
	N	46	46

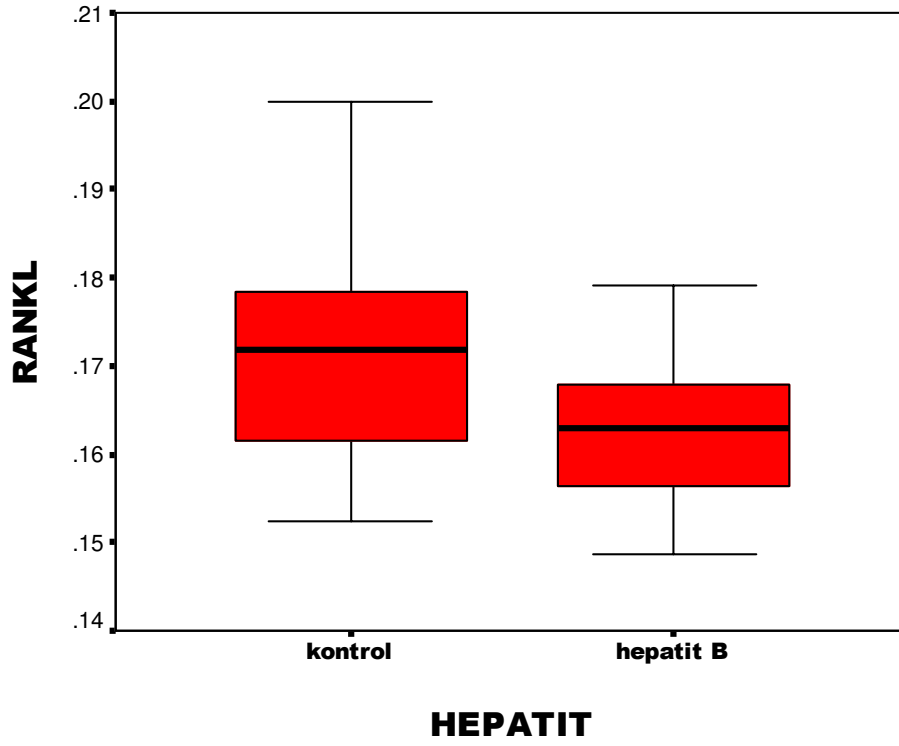


HEPATIT

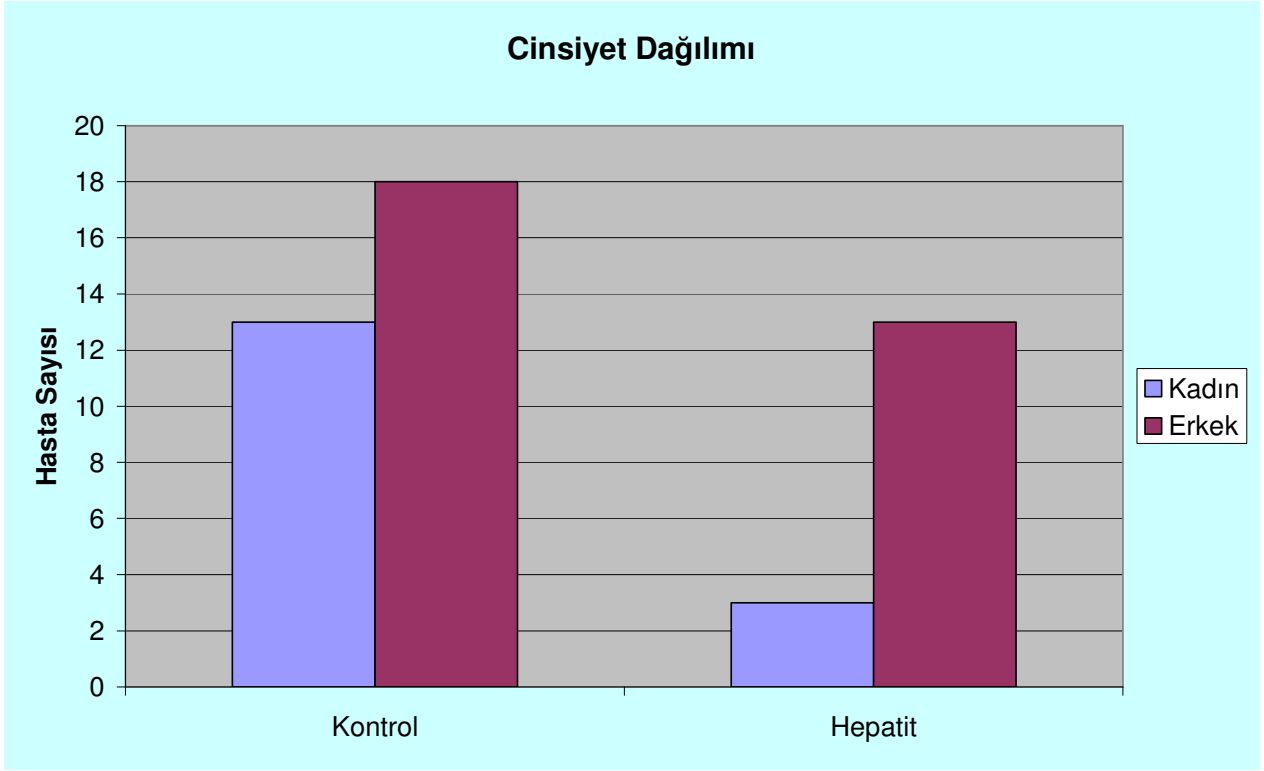
Grafik-1: Hepatit B ve kontrol grubunun lomber kemik mineral dansitesi (KMDLOMB) ve femur boyun kemik mineral dansitesi (KMDNECK) değerlerinin karşılaştırılması.



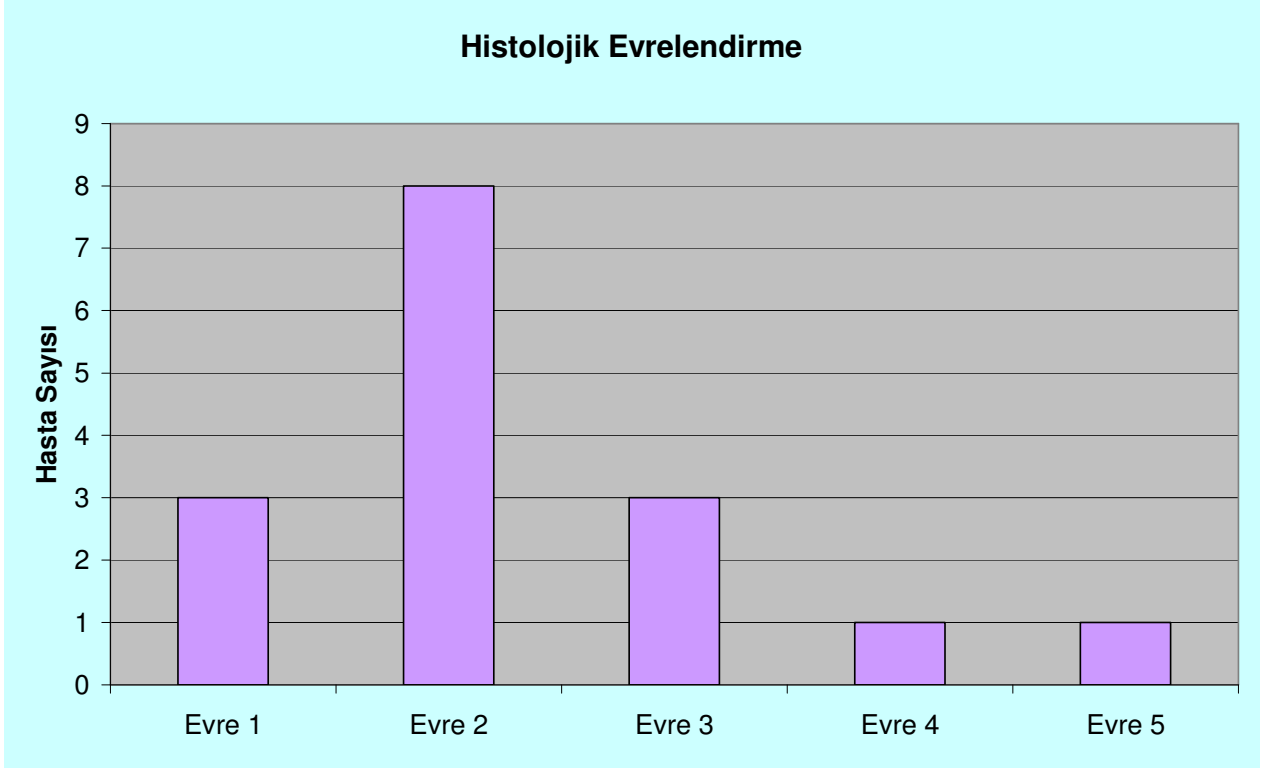
Grafik-2: Hepatit B ve Kontrol grubundaki osteoprotegerin düzeyi.



Grafik-3: Hepatit B ve Kontrol grubundaki RANKL düzeyi.



Grafik-4: Kronik hepatit B ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımı



Grafik-5: Kronik hepatit B grubunun histolojik evre dağılımı

TARTIŞMA:

Osteoporoz düşük kemik kitlesi, mikromimaride bozulma ve artmış kırığa eğilim ile seyreden bir iskelet hastalığıdır. Osteoporoz artmış fraktür insidansı, azalmış yaşam kalitesi nedeniyle ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Osteoporotik fraktür, kemik kuvvetindeki azalma ve artmış düşme sıklığından kaynaklanmaktadır. Eskiden bilindiğinin aksine; kalça, ön kol ve vertebrada izlenen osteoporotik fraktür artışından ziyade; osteoporozda her bölgedeki fraktür insidansında artış gözlenir. Rutin klinik osteoporozun değerlendirilmesi ve kırık olasılığının tayini için pratikte kemik mineral dansite (KMD) ölçümü en uygun noninvaziv metodudur.

Her ne kadar KMD kırık olasılığı yönünden bize yardımcı olsa da kırık olasılığını etkileyen başka önemli parametreler de vardır. Bunlar kemik makromimari (yapı ve şekli), mikromimari (hem kortikal hem trabekular), matriks ve mineral içeriği, mineralizasyon miktarı, mikrohasar birikimi, kemik döngüsü kemik yapı ve materyal içeriğine etki ederek kemik kuvvetine katkıda bulunan etmenlerdir (86).

Genetik faktörler zirve kemik kitlesinin ana belirleyicisi olsa da, intrauterin, çocukluk ve adolesan dönemdeki çevresel faktörlerin etkisi azımsanmamalıdır (87).

Düşük kemik mineral dansitesi her zaman kırık olacağı anlamına gelmemelidir. Her ne kadar t skoru -2,5'un altı klinik çalışmalarda ve pratik uygulamada fraktür riskini yansıtmakta kullanışlı ise de; kemik mineral dansitesi her zaman

kırık riskini yansıtmamaktadır. Bu nedenle birçok çalışma verilerine dayanarak WHO tarafından kemik mineral dansitesinden bağımsız olarak risk faktörleri saptanmıştır.

Bunlar: Kırık hikâyesi, glukokortikoid kullanımı, ailede osteoporoz hikâyesi, aşırı alkol kullanımı, sigara kullanımı ve düşük vücut ağırlığıdır. Postmenopozal kadınlarda, premenapozal kadınlardan farklı olarak kemik yapım ve yıkım markerları artmıştır. Bu da östrojen eksikliğine bağlı olarak osteoklastik aktivite artışına ve kompensatuar osteoblastik aktivite artışına bağlıdır. Kemik döngüsünü en iyi gösteren yapım markerlar kemiğe özgü alkalin fosfat ve osteokalsindir. Kemik yıkımı osteoklastik aktivite ile gerçekleşmektedir ve yıkımı en iyi gösteren belirteçler; pridinolin, deoksipridinolin ve çapraz bağlı C- ve N-telopeptidlerdir. Tartarat rezistan asid fosfat-5b (TRACP-5b) TRACP'in osteoklasta özgü izoformu olup, vertebral fraktürü tahminde gelecek vadeden bir belirteçtir. Bu belirteçler KMD gibi diğer risk faktörü ölçümleri ile kombine edildiğinde fraktür riskini saptamada

oldukça yararlıdır (88). Kemik döngü markerlerinin kullanıldığı diğer alanlar arasında tedavi seçiminin belirlenmesi, tedaviye yanıtın değerlendirilmesi yer alır. Yaşam boyunca kemik sürekli olarak eski kemiğin yerine yenisinin konması şeklinde yeniden yapılanmaya uğramaktadır. Bu olaylar osteoblast ve osteoklastlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Kemik kitlesinin idamesi iskelet sisteminin bütünlüğü için gereklidir. İskelet sistemi yumuşak dokular için koruma, hareket için destek, kas bağlantısı için destek ve mineral iyonlar için depo görevi görür.

Hücresele düzeyde kemik yıkımı osteoblastik ve osteoklastik aktivite arasındaki dengesizliğe bağlı olarak ortaya çıkar. Erişkin hayatta kemik yapım ve yıkım döngüsü içinde tekrar tekrar yapılır. Östrojen, normal kemik yeniden yapılanma fizyolojisinde merkezi rol oynar. Menapozda östrojen yetersizliği, yeniden yapılanmada dengesizliğe ve kemik döngüsünde artmaya sebep olur. Bu da daha çok trabeküler kemik kaybı ile neticelenir. Osteoklastogenezdeki artış, proinflatuvar sitokinlerin östrojen baskısı ortadan kalktıktan sonra osteoklastogenezi uyarmasının artması ve östrojenin osteoklastlar üzerine olan apoptotik etkisinin azalması sonucu gözlenir (89). Kemik döngüsünde rol oynayan faktörlerin arasında en önemlileri, OPG/RANKL/RANK sistemi ve LRP5 (LDL reseptör related protein 5)/Wnt sistemidir. LRP5 Wnt'ye bağlanarak kemik yapımını uyarır. LRP5 ve Wnt'deki yapısal bozukluklar derecesine bağlı olarak değişen şiddette osteoporoza yol açar (90).

Yıllar boyunca kemik yapım ve yıkımı hücreler arası iletişim ile dengede tutulan bir süreç olarak bilinmekte ve yeniden yapılanma olarak isimlendirilmekte idi. Bu iletişimi sağlayan hücreler arası sinyal yollarının ve protein aracılarının yakın zamana kadar saptanması mümkün olmadı. 1997 tarihinde osteoprotegerin (OPG) adlı proteinin keşfi ile bu bilmeceğin önemli bir kısmı deşifre edilmiş oldu. OPG; daha önce bilinmeyen bu proteini aşırı eksprese eden, osteopetroz fenotipi olan transjenik bir farede tespit edildi (64).

OPG osteoklastik kemik rezorpsiyonunun anahtar inhibitör proteindir. OPG'nin keşfi, arkasından diğer kemik rezorpsiyonunu kontrol eden iki anahtar hayati proteinin keşfini kolaylaştırdı. Bunlardan biri reseptör aktivatör NF-κB ligand (RANKL) ve diğeri de reseptörü olan reseptör aktivatör NF-κB (RANK) olarak adlandırıldı. RANK osteoklast reseptörüdür ve RANKL tarafından aktive edildikten sonra kemik resorpsiyonunu uyarır. OPG; RANKL'ın RANK'a bağlanmasını engelleyen tuzak reseptör (RANK yerine RANKL'a bağlanarak) olarak işlev görür. Osteoklastlar kemik iliğindeki mezenkimal stroma hücrelerinden köken alır.

Osteoblastlar kemik matriksini sentezlerler. Bu matriks tip 1 kollajen ve içinde iyonize mineralleri kristalize forma sokan non-kollajen proteinlerden oluşur. Osteoblastlar daha sonra kemik mineral matriks içinde sıkışmış osteositlere dönerler veya uykuda kemik çevresini saran hücreler olarak kalırlar. İlginç olan durum, kemikte hormon, sitokin ve büyüme faktörlerinin etkisi yapım veya yıkım olsun, reseptörlerinin osteoklast değilde osteoblast üzerinde yerleşmiş olmasıdır. Bu paradoksal durum çok net bir şekilde OPG/RANKL/RANK sisteminin koordineli çalışması ile açıklanabilmektedir. Osteoklastlar monositer/fagositer hematopoietik seriden kaynaklanan tek veya çok çekirdekli hücrelerdir. Osteoklastlar kemikle birleştikleri yüzde asidik, mühürlü kompartman oluştururlar. Osteoklast kaynaklı hidrojen iyonları ve enzimler; mineral ve kollajen matriksi eritirler. Osteoklastların oluşabilmesi için, osteoklast öncülleri büyüme ve yaşama faktörlerine, makrofaj koloni stimulan faktöre (M-CSF/CSF-1), aynı zamanda osteoblastlarla veya kemik iliği stroma hücreleri ile kondağa ihtiyaç duyarlar.

Aktif D vitamini, OPG mRNA ve protein düzeylerini organ ve doku kültür çalışmalarında artırmıştır. Bu artış resorpsiyonu baskılayan negatif bir sinyal olarak karşımıza çıkmaktadır (90). OPG'ye etki eden diğer önemli bir hormonda parathormondur. Parathormon etkisini PTH-1 reseptörü üzerinden gerçekleştirmektedir. Bu reseptör osteoblastlar üzerinde yerleşmiştir. Osteoblastların, osteoklastlar üzerine parathormonun etkisini aktarması OPG/RANKL aracılığı ile olmaktadır. Paratiroid hormon osteoblast ve stroma hücre kültürlerinde OPG mRNA düzeyini azaltırken, RANKL mRNA düzeylerini artırır. OPG mRNA düzeyi; basic fibroblast growth factor (bFGF), prostoglandin E2 (PGE2), interlökin 1 alfa (IL-1alfa), hidrokortizon ve deksametazon ile azalırken; interlökin 1beta (IL-1beta), TNF- α , TNF- β , TGF- β , 1,25(OH)2D3, Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2), östrojen ve kalsiyum ile artar. Otokrin motilite faktörü, BMP-7, kalsiyum, siklosporin A, dekzametazon, 1 α 25 dihidroksivitamin D3, fibroblast growth factor-2, indian hedgehog, IL-6, IL-11, IL-1 β , onkostatin, PGE2, PTH, rapamisin, takrolimus, TNF- α , RANKL düzeyini artırırken, vazoaktif intestinal peptit, inhibin, TGF- β azaltır. BMP-2, BMP-7, kalsiyum, 1 α 25 dihidroksivitamin D3, 17 β östradiol, IL-1 β ve IL-1 α , TGF- β , vazoaktif intestinal peptit, TNF- α ve TNF- β OPG düzeylerini artırıyor iken, siklosporin A, dekzametazon, PGE2, PTH, rapamisin, takrolimus, ICI 182,780 (saf östrojen reseptör antagonisti) ve 1 α 25 dihidroksivitamin D3 azaltır (92).

Osteoklastlar ve osteoblastlar kemik yeniden yapılanmasını, osteoklastlar kemiği yıkarken, osteoblastlar yeni kemik döşeyerek gerçekleştirirler. İskelet sisteminin büyümesi ve

diş çıkarma için kemik rezorpsiyonu gereklidir. Fakat kontrolsüz rezorpsiyon aktivitesinde ise OPG (-/-) farelerde olduğu gibi aşırı RANKL aktivitesi patolojik kırık ve vertebra deformitelerine yol açmıştır (93). OPG geni bulunmayan farelerde osteoporoz, OPG geni nakledilmiş farelerde ise osteopetroz izlenirken, RANKL (-/-) ve RANK (-/-) farelerde iskelet büyümesinde yetersizlik izlenmiştir (94,95). RANKL yokluğunda diş çıkarma gerçekleşmemiştir. RANKL çok düşük düzeyde de olsa; mevcudiyetinde diş çıkarma mümkün olabilmektedir. RANKL ile osteoklast uyarılması ve aktivasyonu histolojik olarak gösterilmiştir. RANKL bu şekilde hiperkalsemiye yol açmıştır. Kemik resorpsiyonunun ve hiperkalseminin bilinen indükleyicileri olan IL-1, iPTH, PTHrp, vitamin D3, TNF α OPG ile test edilmiş ve her durumda OPG ile hiperkalseminin oluşumu engellenmiştir. Bu durumda sitokinler etkilerini indirekt olarak RANKL'ı uyararak göstermektedirler (96). RANK (-/-) farelerde RANKL dâhil yukarıda bahsedilen faktörlerin tümünün hiperkalsemiyi uyaramaması da RANKL'ın osteoklastlar üzerine tek başına etkili olduğunu göstermektedir (97). RANKL/RANK/OPG sisteminin keşfi ile metabolik kemik hastalıkları ile ilgili birçok moleküler ve hücrel mekanizmalar aydınlatılmıştır. RANKL osteoblastik hücreler, T hücreleri ve tümör hücrelerinden salınır ve reseptörü olan ve osteoklastlar üzerinde bulunan RANK'ı uyarır. RANKL, RANK etkileşimi osteoklast aktivasyonu, farklılaşması için kritiktir ve osteoklast ve osteoblast iletişimde önemli role sahiptir. Osteoprotegerin (OPG), RANK üzerine bağlanan RANKL için antagonist fonksiyon görmektedir. OPG ve RANKL kemik metabolizmasının önemli düzenleyicileri olarak kabul edilmektedir.

OPG ve RANKL sistemi vasküler yatakta ateroskleroz üzerine de etki göstererek önemli rol üstlenir. Damar yatağında in vitro çalışmalar sonucunda endotel ve düz kas hücrelerinin RANKL ve OPG ekspresyonunda hücrel kaynak olduğu gösterilmiştir (98). OPG yokluğunun büyük damarlarda kalsifikasyona yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Postmenopozal kadınlarda artmış ateroskleroz ile beraber osteoporoz sıklığında artmanın bu sistem ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Ancak, artmış aterosklerozun osteoporozla ilişkisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan çalışmalar serum OPG düzeylerinin yaş ile arttığını, kadınlarda daha yüksek olduğunu ve osteotrofik hormonlar tarafından regüle edildiğini göstermiştir (99,100).

Transjenik farelerde aşırı OPG salınımı ile yapılan çalışmalarda osteopetroz izlenmiştir. Yine overleri alınmış farelere OPG uygulandığında osteoporoz gelişmemiştir.

OPG osteoblastların da içinde olduğu birçok hücre tarafından salınmaktadır. OPG osteoklastlar üzerindeki RANKL ile RANK etkileşimini bloke eder. OPG geni yoksun farelerde osteoporoz izlenir. Osteoporoz o kadar şiddetlidir ki; bu fareler yaşamlarının ilk ayında patolojik fraktür geçirirler (93). Endojen OPG'nin yokluğunu diğer büyüme faktörleri, proteinler, sitokinler yeterli derecede kompanse edemezler. Hatta OPG'nin bir allelinin bile yokluğu farede osteopeniye yol açar. OPG geni çıkarılmış farelerin osteoporotik fenotipi yaş ilerledikçe artar (93).

Kortikal kemiğin kuvveti hem KMD hem de geometrik parametrelerden etkilenmektedir. Periosteal genişliğin artması yaşa bağımlı kemik mineral dansitesinde azalma ve endosteal yüzdeki genişlemeye bağlı kemik kuvvetini idame ettirmeye yönelik kompensatuar bir mekanizmadır. Kemik fraktürünü engellemek için en uygun şekil, artmış periosteal çap ve azalmış endosteal çap ve kemik mineral dansitesinde artıştır. Primatlarda yapılan bir çalışmada 3 ay OPG tedavisi kortikal ve trabekular alanda ciddi artmaya yol açtığı gibi, mineral dansite ve içeriğinde de artmaya sebebiyet vermiştir (101). 6 ay boyunca OPG tedavisi alan primatlarda tibia ve radius periosteal çap artıyor iken, endokortikal çap azalmış ve kortikal volumetrik KMD değerlerinde artış izlenmiştir.

Birçok sitokin, hormon ve ilaç RANKL ve OPG sistemi üzerine etki eder. Birçok tümör tipi kemiğe metastaz yapmaktadır. Bu etkilerini PTHrP ve IL-6 ve diğer kemik rezorbsiyon indükleyicileri aracılığı ile gerçekleştirmektedirler. Tümör metastazı aynı zamanda hiperkalsemiye yol açmaktadır. Hayvan çalışmalarında OPG verildiğinde tümör metastazına bağlı hiperkalseminin gerilediği izlenmiştir (102). OPG aynı zamanda metastazın yarattığı osteolizin gerilemesini ve metastazdaki ilerlemenin engellenmesini de sağlamıştır (103). Bu veriler doğrultusunda tümör hücresinden salgılanan PTHrP, TNF α , IL-6 gibi kemik rezorbsiyon indükleyicileri etkilerini RANKL üzerinden göstermektedir. Yapılan çalışmalarda; hodgking lenfoma, metastatik prostat karsinomu ve solid tümörlerde OPG'nin arttığı, multiple myelomda ise azaldığı izlenmiştir (104). Osteosklerotik metastazlarda OPG artışı olurken; litik metastazlarda OPG'de azalma izlenmektedir. Bu durum osteosklerotik metastaz yapan tümörlerin aksine osteolitik metastaz yapan multiple myelomda, kemik yıkımının ön planda olması ile açıklanabilir.

Kemik iliğinde RANKL; osteoblastlar, osteoblastik ve fibroblastik stroma hücrelerinden sentezlenir. Yapılan çalışmalarda, kemik iliğindeki öncü hücrelerin koloni

stimulan faktör-1 (CSF-1) ve RANKL varlığında bir hafta içinde osteoklasta dönüştükleri izlenmiş ve CSF-1 yokluğunda RANKL sadece erişkin osteoklastların kemik rezorpsiyonunu sağlayabilmiştir. Bu ortama OPG eklenmesi geçici olarak osteoklastogenezini inhibe etmiştir (105). Bu geri dönüşümlü durum, ortama daha fazla RANKL ilavesi veya birkaç gün sonra OPG'nin ortamdaki uzaklaştırılması ile osteoklastlardaki artış şeklinde gözlenmiştir. Her ne kadar IL-2 gibi sitokinler osteoklast yaşam süresini uzatsa da; erişkin osteoklastların yaşamı RANKL'a bağımlıdır (106). RANKL ve CSF-1 erişkin osteoklast öncülerinin erişkin osteoklastlara gelişmesi için gereklidir (106). Osteoklast hayatta kalımı eğer yeterince desteklenmez ise apoptoza gidiş kaçınılmazdır. Eğer tüm uyarıcılar ortadan kaldırılırsa, hızla osteoklastlarda apoptoz izlenir. İzole osteoklastlara eklenen RANKL dakikalar içinde aktivite artışına yol açmaktadır. Schett ve arkadaşlarının ileriye dönük toplum bazlı çalışmalarından elde edilen sonuç RANKL'ın, KMD'den bağımsız olarak patolojik kırık için bir risk faktörü olduğu şeklindedir (107). RANKL serum düzeyi, ileriye dönük fraktür riskini değerlendirmede bir parametre olarak gelecekte kullanılabilir.

Bunların dışında RANKL'ın dentritik hücre membranındaki RANK'a bağlanmasının dentritik hücrelerin bağışıklığı artırıcı yeteneğinde artışa ve yaşam sürelerinde uzamaya yol açtığı ve T hücrelerin aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (108). RANKL yoksun fareler, lenf nodu ve lenf nodu öncülerinden yoksundur. Dalak ve peyer plakları ise normal izlenir. RANKL'nin lenf nodu oluşumunda gerekli olduğu düşünülmektedir. Yine bu farelerde timus hacim ve sellüleritesi de azalmıştır (74). OPG, dentritik hücre ve makrofaj gelişimi üzerine etki göstermez. Ama T hücrelerinin sitokin üretimini optimize eder.

RANKL geni mutant farelerde diş çıkarma yetersiz olduğu için beslenme yetersizliği ve buna bağlı büyüme geriliği izlenir. Yine bu farelerde vertebra, kaburga ve uzun kemiklerde radyolojik olarak ciddi osteopetroz izlenir. İntramembranöz ossifikasyon ile oluşan kemiklerde ise encondral kemik yapımı olmadığı için patoloji izlenmez (74). Bu farelerde kemik dansitesi arttığı halde, serum kalsiyum, fosfor ve alkalin fosfat düzeylerinde değişiklik izlenmez. Büyüme plağının ve hipertrofik kondrositlerin kolumnar yapısı bozulmuştur.

OPG RANKL'a bağlanır ve RANKL'ın RANK'a bağlanmasını ve aktive olmasını engeller. RANK diğer bir TNF α reseptör aile üyesidir ve osteoklastlar ve osteoklast öncülleri üzerinde bulunur. RANKL'ın bağlanmasını takiben RANK osteoklast farklılaşmasında, fonksiyonunda ve yaşamasında kritik öneme sahip 6 sinyal yolağını aktif hale getirir. Bunlar;

aktif T-hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) c1, nükleer faktör kappa B (NF-kB), Akt/protein kinaz B (PKB), Jun N-terminal kinaz (JNK), ekstrasellüler sinyal ile regüle edilen kinaz (ERK) ve p38'dır. RANK yetersiz farelerde ciddi osteopetroz izlenir. Histolojik olarak osteoklastlar izlenmez. RANKL yoksun farelerde olduğu gibi lenf nodları izlenmez ama peyer plaklar izlenir (109). Dalaktaki B hücreleri yetersizdir. Kıkırdak büyüme plağı daha geniş olmasına rağmen iyi korunmuştur. RANK geni olmayan farelere retroviral RANK geni nakli ile osteoklastların kendi öncü hücrelerinden gelişmesi, RANK'ın osteoklast gelişmesi için önemli bir reseptör olduğunu göstermiştir (97). Farelerde yapılan bir çalışmada genetik olarak TNF reseptor-associated faktor 6 (TRAF6) yoksun farelerin dış çıkaramadığı ve osteopetroz izlendiği saptanmış ve TRAF6'nın önemi vurgulanmıştır (110). Bu OPG/RANKL/RANK protein triadından oluşan üçlünün kemik resorpsiyonu ve osteoklast aktivitesi üzerinde kritik etkiye sahip olduğu farmakolojik ve genetik çalışmalarla gösterilmiştir. Her ne kadar diğer hormonlar ve sitokinler bir şekilde osteoklast aktivitesini etkiliyor olsa da osteoklast aktivite ve varlığı için OPG/RANKL/RANK yolağı vazgeçilmezdir.

RANKL/OPG oranı kemik rezorpsiyonunun nihai belirleyicisidir. Birçok durumda artmış RANKL ve azalmış OPG oranı kemik resorpsiyonunu uyarır. Bu düzenlemenin en bilinen aktörlerinden biri de parathormondur. RANKL/OPG oranı primer hiperparatiroidi tanılı hastaların kemik dokularında artmış olarak bulunmuştur. Paratiroidektomi sonrası ise bu oran belirgin olarak azalır. Birçok kemik ve kemik dışı hastalık durumunda RANKL ve OPG protein ve mRNA düzeylerinde değişiklikler izlenmektedir. Çözünür haldeki RANKL enjeksiyon sonrası farede 60 dakika içinde kemik resorpsiyonunu başlatır. Çözünür RANKL'ın etkisi oldukça güçlüdür. Örneğin 10 gün boyunca günlük RANKL enjekte edilen farenin süngerimsi ve kortikal kemiğinde ciddi güç ve hacim kaybı izlenir. Transjenik farede RANKL aşırı ekspresyonu azalmış kemik mineral dansitesi, kortikal kemik kaybı, artmış kırık sıklığı ve artmış kemik resorpsiyonu gibi postmenopozal kadınlardaki osteoporoza benzer fenotipe yol açar (111). OPG gen yoksun farelerde RANKL'ın karşılanmayan kuvvetli katabolik etkisi, bifosfonat tedavisi ile kısmen geriletilebilmektedir. Romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, kemik metastazları ve ooferektomi gibi birçok farklı hastalık modelinde RANKL inhibitörleri ile yapılan prelinik çalışmalar iskelet üzerine olan olumlu etkiler göstermiştir. Farelerde yapılan çalışmalarda RANKL'ın süngerimsi kemik üzerine

etkili olmasına karşın, kortikal kemik üzerine süngerimsi kemik kadar çok etkili olmadığı görülmüştür.

Erişkin OPG yetersiz farelerde artmış vertebral fraktür nedeni ile mortalite artar (93). Histolojik olarak OPG yetersiz farelerde kemik vaskülaritesinde artış, kortikal kemikte hatta kranial kemiklerde incelme, trabekula kaybı ve yüksek kemik döngüsü izlenir. Subkondral kemiğin resorbsiyonunda artışa bağlı olarak eklem yüzeyinde çökme izlenir. Yine bu farelerde total kemik kitlesinde genel bir azalma ve fraktür olasılığında artış saptanır (92-93). Bu farelerde izlenen erken osteoporoz, artmış osteoklast aktivitesi ve sayısına bağlı gelişen artmış kemik resorbsiyonu sonucudur. Transjenik farelerde OPG aşırı ekspresyonu kemikte ciddi osteopetroza yol açar ve metafizel trabekular kemikte osteoklastlarda azalma izlenir (64). OPG transjenik farelerde periosteal osteoklastlar fonksiyon görüyor olabilir. Çünkü sadece endosteal zarftaki osteoklast grubu OPG'nin etkisi altındadır. Bu durumda OPG endosteal yüzdeki osteoklast aktivitesi üzerindeki düzenleyici yolakları kontrol ederken dış çıkarmadaki periosteal uyarıyı ve uzun kemiklerdeki periostal yeniden yapılanmayı bypass eder. Bununla beraber RANKL yetersiz farelerde klasik defektif dış çıkarma ve kısalmış ve çomak şeklinde uzun kemiklerle karakterize osteopetroz fenotipi izlenmiştir (74).

Osteoporoz nedenleri arasında kronik karaciğer hastalığı önemli bir yer tutmaktadır. Kronik karaciğer hastalığı artmış mortalite ve ciddi komplikasyonları nedeniyle yıkıcı bir hastalıktır. Osteoporoz karaciğer sirozunun bir komplikasyonu olarak bilinmektedir (112-114). Bakım ve şartların iyiye gitmesi nedeniyle siroz tanısı almış hastalar daha uzun süre yaşayabilmekte ve siroza bağlı kemik bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda kemik hastalığına birçok etmen yol açmaktadır. Özellikle kötü beslenme, hareketsizlik ve hormonal değişiklikler kronik karaciğer hastalığında kemik metabolizmasının bozulma sebepleri arasında yer almaktadır. Kronik karaciğer hastalığında izlenen bu osteoporozun sebebi hakkında yakın zamana kadar fazla bir bilgi mevcut değildi. Osteoporoza yol açan mekanizma hala tam olarak belli değildir. Kemik yapım ve yıkımı arasındaki denge bozulmuştur (115). Azalmış osteoblastik aktiviteden ayrı olarak, osteoklastik aktivite artışını gösteren çalışmalar mevcuttur (116). Bazı sitokinler gibi birtakım mediatörlerin kronik karaciğer parenkim hasarında kemik kaybına giden nihai yol olabileceği öne sürülmektedir (117). Bu yollardan en önemlisi, çalışmamızda da yer alan OPG/RANKL/RANK yolağıdır.

Önceleri primer bilier sirozun bir komplikasyonu olarak kabul edilen osteoporozun, etyolojiden bağımsız olarak sirozda artmış oranda izlendiği saptanmıştır. Kronik karaciğer hastalığında kemik metabolizmasının bozulmasına katkıda bulunduğu varsayılan faktörler arasında sigara kullanımı, alkol, fiziksel inaktivite, kortikosteroid kullanımı, D vitamin yetersizliği ve primer bilier sirozda kronik kolestaz yer alır. Diğer nedenler arasında hipogonadizm ve malnutrisyon önemli yer tutar. Karaciğer sirozunda osteoporoz sıklık dağılımı etyolojiye göre sıralanırsa alkolik sirozda % 30, primer bilier sirozda % 15-50, viral hepatite bağlı sirozda % 20-53, primer sklerozan kolanjitte % 50, şeklinde izlenmektedir (118). Kronik karaciğer hastalığında kemik kaybı ile ilgili iki teori mevcuttur. Bunlardan ilki kemik yıkımı artmamış iken kemik yapımının azalmasıdır. Diğerisi ise kemik yapımı değişmediği halde artmış yıkımdır (79,80,119). Sirotik hastalar azalmış osteoid kalınlığı, osteoblast yüzeyi ve kemik yapım hızı gösterirler

Başlangıçta karaciğer sirozunda kolestaza bağlı vitamin D malabsorbsiyonu ve hidroksilasyon yetersizliği kemik kaybının nedeni olarak düşünülmekte idi ise de, daha sonra osteoporoz ve vitamin D düzeyleri arasında korelasyon saptanmaması ve D vitamin tedavisi ile osteopeninin düzelmemesi bu teoriyi çürütmüştür. Hipotalamustan azalmış gonadotropin salgınımına veya primer gonadal yetmezliğe bağlı olarak gelişen hipogonadizm, siroz tanılı kadın ve erkek hastalarda sıklıkla izlenir. Hipogonadizm yüksek döngülü osteoporoz için bir risk faktörüdür (120). Osteoprotegerin düzeyinde düşüklük karaciğer hastalarında artmış kemik rezorbsiyonun sebepleri arasında gösterilmiştir (121).

Kemik döngüsünü bir grup büyüme faktörü ve hormonlar düzenlemektedir. Bunlara ilave olarak immün sistem proinflamatuvar sitokinler aracılığı ile kemik döngüsünde rol oynamaktadır (122). Sitokinler hem patolojik hem de fizyolojik durumlarda kemik yapım ve yıkımı üzerinde önemli görevler üstlenmektedirler (123). IL-6 osteoklastlar için potansiyel uyarıcı ve rezorbsiyon uyarıcıdır. IL-6 dışında, IL-1, IL-11 ve TNF'de osteoklast fonksiyonunu etkilemektedir.

Kronik karaciğer hastalığı, karaciğerde devam eden inflamatuvar yollardaki bozukluk ve doku hasarı ile seyreden bir grup hastalığa tekabül eder. Kronik karaciğer hastalığı viral enfeksiyonlar, kronik alkol alımı, ilaçlar, otoimmün hepatit, metabolik ve genetik nedenlere bağlı gelişen kronik enflamasyon; inflamatuvar hücrelerde birikme, nekroz ve dokularda apoptoz ile devam eder. Bu da sonunda rejeneratif fibroz ve nihai olarak sirozla

sonuçlanır. Moschen ve arkadaşları kronik karaciğer hastalığında RANKL/OPG sisteminin aktivitesini araştırmışlar, hastalığın ilerlemesi ile OPG/RANKL oran artışında anlamlı ilişki bulmuşlar ve OPG serum düzeylerinin hastalık aktivitesi ile arttığını izlemişlerdir. Serum RANKL seviyelerinin ise hastalık aktivitesindeki artma ile azaldığı ve sirozlu hastalarda normale gerilediğini izlemişler. Çalışmalarında % 37,8 osteopeni ve % 12,8 osteoporoz bulmuşlar. Bu bulgular bizim bulgularımızla benzerdir. OPG/RANKL sistem osteoklastogenezin anahtarıdır ve kemik metabolizması ve bağışıklık sistemi arasında önemli bir bağlantı noktasıdır. Moschen ve arkadaşları RANKL'ın osteoblastlardan sentezlendiğini ve bu nedenle düşük düzeyde olmasının beklendiği gibi osteoporozu engellemeyeceğini, aksine osteoblast fonksiyonunun azaldığını ve kemik yapım ve kalitesinin azalacağını, böylece kırık riskinin artacağını belirtmişler (124). Fakat bunun aksini söyleyen bir çalışmada Ziolkowska M ve arkadaşları, romatoid artrit tanısı almış hastalarda sinovial sıvı ve serumda RANKL düzeylerini yüksek bulmuşlar ve bu duruma, RANKL'ın serbest fraksiyonuna inflamatuvar hücrelerin önemli katkısının olduğu ve enflamasyon ile düzeyinin arttığı şeklinde yorum getirmişlerdir. (125). Moschen ve arkadaşları, tarafından gerçekleştirilen çalışmada, bizim gerçekleştirdiğimiz çalışmadan farklı olarak RANKL düzeyleri düşük bulunmamış, fakat OPG/RANKL oranını artmış olarak bulmuşlardır. OPG'nin RANKL'ı tam olarak baskılayamaması ile ilgili bir hipotez; tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) adlı sitokin artması ile OPG için alternatif bağlanma yeri oluşturularak, OPG'nin anti osteoklastojenik etkisini azaltması şeklinde açıklanmaktadır (126). OPG TRAIL'e bağlanarak osteoklastlar üzerine olan apoptotik etkisini kaybetmektedir. Yani OPG düzeyi yüksek ölçüldüğü halde, RANKL üzerine olan etkisi düşük olmaktadır. Kronik hepatit B hastalarında TRAIL düzeyinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (127).

Erişkin yaş grubunda, henüz tedavi almamış kronik hepatit B tanılı hastalarda, kemik metabolizması ile ilgili bir çalışma literatürde izlenmiştir (128). Kronik aktif hepatitte kemik hastalığı genellikle asemptomatiktir ve azalmış KMD ile karakterizedir. Kronik aktif hepatit tanılı hastaların iliak sırttan alınan kemik biyopsilerinin histomorfometrik analizlerinde osteomalazi ve trabeküler kemik kaybı ile seyreden osteoporoz izlenmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada hepatit B ve C'ye bağlı siroz gelişen hastalarda osteoporoz sıklığı % 50 civarında bulunmuştur (80). Viral hepatite bağlı siroz tanılı hastalarda artmış kemik rezorpsiyonu ve yüksek kemik döngülü osteoporoz tanımlanmıştır (80). Kemik hastalığı ile

ilgili yapılan çalışmaların çoğu siroz tanısı almış hastalar üzerinde yapılmıştır. Bununla birlikte siroz olmayan kronik hepatit B ve C tanılı hastalardaki kemik hastalığı sıklığı ile ilgili çok az şey bilinmektedir (85).

Kemik yapımı üzerine, hepatit B, C ve D virüs enfeksiyonlu hastalar üzerinde çok az sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir (129). Schiefke I ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada siroz olmayan viral hepatit B ve C’de osteopeni ve osteoporoz sıklığını yüksek oranda saptamışlardır (85).

Kronik karaciğer hastalığı ve komplikasyonları bazı sitokinlerin aktive olmasından kaynaklanabilir (130,131). Bu sitokinlerin parenkimal karaciğer hastalığında osteoporozu açan son yolak olduğu iddia edilmektedir (132). Kronik karaciğer hastalığında IL-1, IL-6 ve TNF gibi birçok sitokin düzeyinde artma izlenmektedir. Diğer sitokinlerde olduğu gibi, TNF- α ’nın güçlü kemik rezorpsiyonu yaptığı ve osteoklastogenezi uyardığı gösterilmiştir (133). Kronik karaciğer hastalığı ve sitokinler devamlı kemik kaybını başlatan ve devam ettiren etmenlerdir. TNF α ’nın viral hepatit tanılı hastalarda yüksek saptanması ve osteoporoz ilişkisinin belirlenmesi, sitokin aracılıklı osteoporoz gelişim fikrini desteklemiştir.

Yaptığımız çalışmada kalsiyum ve fosfor düzeyleri ve idrar atılımı bakımından hepatit B ve kontrol arasında fark izlenmemiştir. Bu da osteoporozun kalsiyum, fosfor alımı ve emilimi ile ilgili olmadığını göstermektedir. Yine osteokalsin düzeyleri arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Bu durum osteoblastik aktivitenin her iki grup arasında farklı olmadığını göstermesi bakımından önemlidir. Her ne kadar bazı çalışmalarda kemik rezorpsiyonunun kronik karaciğer hastalığında arttığı gösterilmiş olsa da (134) biz kemik rezorpsiyon göstergesi olarak baktığımız idrar deoksiipridinolin düzeyleri arasında anlamlı fark izlemedik. Bu da çalışmamızda osteoporoz izlememiş olmamızın muhtemel bir nedenidir. Her iki grubun alkalin fosfataz, fosfor ve kalsiyum düzeyleri arasında anlamlı fark olmaması D vitamini eksikliğine bağlı osteomalazinin olmadığını gösterilmesi bakımından değerlidir.

Kronik hepatit B tanılı hastalar ile sağlıklı kontrol vakaların serum OPG ve RANKL düzeylerini karşılaştırdığımızda beklediğimizin tersine, OPG düzeyi hepatit B tanılı hastalarda yüksek iken, RANKL düzeyi düşük bulunmuştur. Kronik karaciğer hastalığında OPG ve RANKL seviyesindeki değişim ile ilgili literatürde Szalay ve arkadaşları gerçekleştirdikleri primer bilier siroz tanılı olgularda yürütülen çalışma bu konuda yapılan ilk yayındır (84). Szalay ve arkadaşları yaptıkları çalışmada primer bilier sirozda artmış OPG ve azalmış

RANKL düzeyleri saptamışlardır. Yazar bu durumu OPG düzeyinin primer bilier siroza spesifik olarak değil de, daha ziyade kronik karaciğer hastalığında artan bir mediatör olduğunu vurgulayarak açıklamıştır. OPG daha ziyade osteoblastlardan yapıldığı ve primer bilier sirozda osteoblast fonksiyonu baskılandığı için düşük bulunması beklenmektedir. Halbuki Szalay ve arkadaşları OPG düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Bu durumu OPG'yi sentezleyen diğer doku veya hücrelerden, örneğin T ve B hücreleri ve fibroblastlardan, enflamasyona bağlı olarak artmış yapımı veya disfonksiyone osteoblastların kendisinin bizzat sentezlemesine bağlı olabileceği şeklinde açıklamaktadırlar (135). Her ne kadar bulgularımız benzer olsa da, primer bilier siroz hem etyoloji, hem de karaciğerde meydana gelen enflamasyonun şiddeti bakımından kronik viral hepatit ile farklılıklar gösterir. Bununla beraber her iki klinik durumda da ortak bazı sitokinlerin serum OPG ve RANKL düzeyine benzer etki yaptığı düşünülebilir. Bununla beraber osteoporoz oluşumu için yeterli sürenin olmaması ve/veya inflamasyona bağlı ortaya çıkan sitokinlerin serum düzeyinin yeterli düzeye ulaşamaması yada osteoporoz gelişimi için başka bazı mediatörlere ihtiyaç duyulması viral hepatit B tanılı hastalarda osteoporoz gözlemememizin nedeni olabilir.

Ueland ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri çalışmada Cushing tanılı hastalarda artmış OPG düzeyini, artmış osteoklastik aktiviteyi kompanse etmek için, osteoblastik aktivite artışı veya negatif kemik döngü balansından kaynaklanabileceğini düşünmüşler, yani artmış kemik yıkımına bağlı olarak OPG düzeyinde yükselme olarak yorumlamışlardır (136). Bizim çalışma sonucumuzda da yine artmış OPG izlenmiş olmasına karşı, RANKL baskılanmış olarak izlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada kronik B hepatitli hastalarda OPG düzeyi artışını osteoporozu kompanse etmeye yönelik artış olarak açıklamamız ortalama KMD değerinin ve t skorunun normal sınırlarda olması nedeniyle mümkün değildir. Bizim çalışmamızda Uekland ve arkadaşlarından farklı olarak osteoporoz izlenmedi. Hepatit B grubunda OPG düzeyindeki artışa karaciğerdeki enflamasyona bağlı ortaya çıkan TGFβ1, IL-6, IL-13 ve TNF-α gibi sitokinlerin yol açtığını düşünmekteyiz. Bizim bulgularımızda osteoporoz izlenmemiş olmasına rağmen; yaptığımız çalışmanın yeni tanı kronik hepatit B hastalarında gerçekleştirilmiş olması sebebiyle osteoporoz gelişimi için zaman gerektiği, ama sitokin yanıtının ise daha erken geliştiği düşünülebilir. Bu durumda belli bir süre sonra vakalarda DXA ile KMD kontrolü yapmak gerekli görünmektedir. RANKL düzeyindeki azalma kronik

inflamatuvar süreç sonucu ortaya çıkan sitokinlerin osteoblast ve/veya T lenfositlerin RANKL üretimi üzerine etkisine bağlı olabilir.

Feuerherm ve arkadaşları romatoid artrit (RA) tanılı hastalarda OPG'nin romatoid artritte diğer artritlere göre sinoviyal sıvıda daha yüksek düzeyde bulmuşlardır. Transforming growth factor beta-1 (TGFβ1)'in OPG ekspresyonunu artırdığı bilinmektedir (92). RA'da kemik yıkımından ortaya çıkan TGFβ1'in salınımı ve aktivasyonu ile OPG düzeylerini artırıyor olabilir. OPG osteoporoz gelişimini baskılayan bir hormon olduğu için, RA'da osteoporotik aktiviteyi kompanse etmek için artmış olabilir şeklinde yorumlanmıştır. Bizim çalışmamızda da OPG artışı karaciğerde gelişen inflamasyona bağlı fibroblastlardan ve lenfositlerden salınan TGFβ1'in etkisi ile olabilir (92). Karaciğerde kronik hepatit hastalarında TGFβ1'in arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (137).

Kronik hepatitte, ortaya çıkan sitokinler (IL-1, IL-6 ve TNFα) doğrudan RANKL aracılığı ile osteoklastogenezi uyarır iken dolaylı yoldan osteoblastları ve stromal hücreleri üzerinden osteoklastogeneze etki ederler (138).

Yüksek serum OPG ve düşük RANKL düzeyi primer bilier siroz ve Wilson hastalığı tanılı hastalarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (84) (139). Hegedus ve arkadaşları, Wilson hastalarında OPG düzeyinin yüksek olmasını inflamatuvar olaya ve sürece bağlı olarak fibroblast ve immun kompetan hücrelerden artmış salınım şeklinde yorumlamışlardır (135). Diğer bir açıklama ise artmış kemik yıkımını kompanse etmek için osteoblastlardan OPG salımında artma şeklindedir. Bu fikir bizim bulgularımızla uyuşmamaktadır. Çünkü bizim çalışmamızda her iki grubun ortalama KMD değerlerini normal sınırlar içinde bulduk.

Gonzales ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada postmenopozal viral hepatite bağlı siroz tanılı kadınları, sağlıklı postmenopozal kadınlar ile karşılaştırmışlar ve serum OPG düzeylerini hepatitli kadınlarda yüksek bulmuşlardır (140).

Literatürde kronik hepatit B enfeksiyonunda transforming growth factor beta (TGFβ1) düzeyinin arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (137). TGF-β1 kronik hepatit B enfeksiyonunda fibrosizin artışından sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca hepatosellüler karsinom gelişiminden de sorumlu olan sitokinlerden biridir. TGF-β1'in RANKL düzeyini azaltırken, OPG düzeyini artırdığı bilinmektedir. TGF-β1 osteoklastogenezi baskılamakta ve kemik döngüsünü azaltmaktadır (141). Bu durumda bizim bulgularımız, tedavi almamış kronik hepatit B tanılı hastalarda muhtemelen bu sitokin artmasından kaynaklanabilir. Ama biz

çalışmamızda TGF- β 1 düzeyini ölçmediğimiz için bu durum hakkında kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Yine TGF- β 1'nin osteoklastogenezi baskılaması, çalışmamızda kronik hepatit B tanılı hastalarda osteoporoz izlenmemesinin nedeni olabilir.

Invariant NKT hücreleri, human cluster of differentiation-d (CD1d) tarafından sunulan endojen lipid ligandları tanıyan ve hızlı bir şekilde sitokin üretimi ile doku hasarı ve hücre stresine konak yanıtını düzenlediği düşünülen bir grup otoreaktif lenfositlerdir. Invariant NKT hücreleri kronik hepatit B enfekte karaciğerde belirgin olarak artarlar. Bu hücreler tip 2 profibrotik IL-4 ve IL-13 gibi sitokinlerin artışına yol açarlar (142). IL-13 RANKL serum düzeyini azaltan ve OPG düzeyini artıran ve osteoklastogenezi baskılayan sitokin olarak bilinmektedir (143). IL-13'ün signal transducers and activators of transcription 6 (STAT6) bağlı yolak ile osteoklast ve osteoblast üzerinde bulunan RANKL/RANK/OPG sistemini etkileyen reseptörleri aktif hale getirerek, osteoklast farklılaşmasını ve kemik rezorpsiyonunu baskıladığı gösterilmiştir (144). Bizim çalışmamızdaki bulgularımızla örtüşen bu durum hipotezimizi, yani: OPG ve RANKL düzeyindeki değişikliklerin karaciğerdeki inflamatuvar yanıtın sonucu olduğunu desteklemektedir.

T hücreleri romatoid artrit gibi sistemik inflamatuvar hastalıklarda kemik döngüsünün ayarlanmasında önemli görevler üstlenirler (145). Sylvester ve arkadaşlarının yeni tanı Crohn hastası çocuklarda gerçekleştirdikleri çalışmada OPG düzeylerini artmış ve RANKL düzeylerini azalmış saptamışlar. Her iki grubun kemik dansitometri değerleri arasında anlamlı fark izlememişler. Her iki grubun kemik mineral dansitelerini normal sınırlarda bulmuşlar. Crohn hastalarında bağırsak antijenlerine karşı periferik CD4+ Th1 hücreleri interferon gamma (IFN- γ) salgılayarak yanıt verirler. IFN- γ 'nın OPG'yi artırıp, RANKL'ı baskıladığı bilinmektedir. Hastalarda azalmış osteoblastik aktivite, osteoblastlardan salınan RANKL'ın azalmış olmasını açıklamaktadır. Azalmış osteoblastik aktivite OPG düzeyindeki artış ile tezat teşkil etmektedir. Bu durum OPG'nin osteoblast dışında başka hücrelerden, örneğin kolonik hücrelerden salınması ile izah edilmeye çalışılmıştır. Sylvester ve arkadaşları tarafından IFN- γ , kemik rezorpsiyonunu baskılayan, kemik yapımını inhibe eden anahtar sitokin olarak belirtilmiştir. T hücreleri belli bir miktarda RANKL salgıladıkları halde, diğer salgıladığı sitokin olan IFN- γ 'nın etkisi daha ön planda olduğundan RANKL düzeyi düşecektir. Yazar çalışma sonuçlarında Crohn hastalığında kemik döngüsünün ilk tanı anında baskılandığını

belirtmektedir. Aktif hale gelmiş T hücreler; kemik metabolizmasının düzenlenmesinde kritik öneme sahip olabilir.

Sonuç olarak; yapmış olduğumuz çalışma ile literatürlerdeki sonuçları, karşılaştırdığımızda elde ettiğimiz tesbitler aşağıda sıralanmıştır.

Moschen ve arkadaşları kronik karaciğer hastalığında, hastalığın ilerlemesi ile OPG serum düzeylerinin hastalık aktivitesi ile arttığını, serum RANKL seviyesinin ise hastalık aktivitesindeki artma ile azaldığını, sirozlu hastalarda normale gerilediğini izlemişlerdir (125). Bu bulgular bizim bulgularımıza benzemektedir.

Schiefke ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, siroz olmayan viral hepatit B ve C’de osteopeni ve osteoporoz sıklığını yüksek saptamışlardır (85). Biz ise yaptığımız çalışmada osteoporoz ve osteopeni izlemedik.

Szalay ve arkadaşlarının çalışmalarında primer bilier sirozda artmış OPG ve azalmış RANKL düzeyleri saptanmıştır (84). Bu durumu OPG’nin primer bilier siroza spesifik olarak değilde, daha ziyade kronik karaciğer hastalığında artan bir mediatör olduğu şeklinde açıklamışlardır. OPG daha ziyade osteoblastlardan yapıldığı ve primer bilier sirozda osteoblast fonksiyonu baskılandığı için düşük bulunması beklenirken Szalay ve arkadaşları OPG düzeyini yüksek bulmuşlardır. Her ne kadar bulgularımız benzer olsa da, primer bilier siroz gerek etyoloji ve gerekse karaciğerde meydana gelen enflamasyonun şiddeti bakımından kronik viral hepatit ile farklılıklar gösterir. Bununla birlikte her iki klinik durumda da ortak bazı sitokinlerin serum OPG ve RANKL düzeyine benzer etki yaptığı düşünülebilir. Ancak hastalarımız yeni tanı kronik hepatit B olduğundan osteoporoz oluşumu için yeterli sürenin olmaması ve/veya enflamasyona bağlı ortaya çıkan sitokinlerin serum düzeyinin yeterli düzeye ulaşmaması yada osteoporoz gelişimi için başka bazı mediatörlere ihtiyaç duyulması, kronik viral hepatit B tanılı hastalarda osteoporoz gözlememiş olmamızın nedeni olabilir.

Ueland ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, Cushing tanılı hastalarda artmış OPG düzeyini, artmış osteoklastik aktiviteyi kompanse etmek için, osteoblastik aktivite artışı veya negatif kemik döngü balansından kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir (136). Bizim çalışmalarımız sonucunda da artmış OPG izlenmiş olmasına karşı, RANKL düşük olarak izlenmiştir. Çalışmamızda, kronik B hepatitli hastalarda OPG düzeyi artışını osteoporozu kompanse etmeye yönelik artış olarak açıklamamız, ortalama KMD değerinin ve t skorunun normal sınırlarda olması nedeniyle mümkün değildir.

Feuerherm ve arkadaşları RA tanılı hastalarda OPG'yi RA'e, diğer artritlere göre sinovial sıvıda daha yüksek düzeyde bulmuşlardır. RA'de kemik yıkımından ortaya çıkan TGF β 1'in salınımı ve aktivasyonu ile OPG düzeylerini artırıyor olabilir. OPG, osteoporoz gelişimini baskılayan bir hormon olduğu için, RA'de osteoporotik aktiviteyi kompanse etmek için artmış olabilir şeklinde OPG artışı yorumlanmıştır. Bizim çalışmamızda da OPG artışı karaciğerde gelişen enflamasyona bağlı fibroblastlardan ve lenfositlerden salınan TGF β 1'in etkisi ile olabilir (92). Karaciğerde kronik hepatit B hastalarında TGF β 1'in arttığını gösteren çalışmalar vardır.

Hegedus ve arkadaşları, Wilson hastalarında OPG düzeyinin yüksek olmasını inflamatuvar olaya ve sürece bağlı olarak fibroblast ve immun kompetan hücrelerden artmış salınım şeklinde yorumlamışlardır (139). Diğer bir açıklama ise artmış kemik yıkımını kompanse etmek için osteoblastlardan OPG salınımında artma şeklindedir. Bizim çalışmamızda da OPG düzeyi enflamasyona bağlı olarak yükselmiş olabilir.

Sylvester ve arkadaşları yeni tanı Crohn hastası çocuklarda gerçekleştirdikleri çalışmada OPG düzeylerini artmış ve RANKL düzeylerini azalmış saptamışlardır. Her iki grubun kemik dansitometri değerleri arasında anlamlı fark izlememişler ve her iki grubun kemik mineral dansitelerini normal sınırlarda bulmuşlardır. Bu durumu antijenik uyarıya sekonder gamma interferon artışına ve azalmış osteoblastik aktiviteye bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da gamma interferon azalmış olabilir. Osteokalsin düzeylerini normal bulduk. Bu da osteoblastik aktivitenin OPG artışı ile uyumlu olarak artmadığı anlamına gelmektedir. Her ne kadar çalışmamızda iki hastada osteoporoz ve altı hastada osteopeni saptadık ise de; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında onüç olguda osteopeni ve dört olguda osteoporoz ile bu bulgular anlamlı fark oluşturmamaktadır.

Tedavi almamış kronik hepatit B tanılı hastaların, daha uzun süreli takiplerinde sitokinlerde izlenen anlamlı değişiklik ile uyumlu, daha belirgin ve istatistiksel anlamlı KMD değerlerinde düşüş görülebilir. OPG ve RANKL düzeyleri ile KMD, kemik yapım ve yıkım parametreleri arasında korelasyon olmaması başka bir açıdan bakıldığında kemik metabolizmasındaki değişiklikten ziyade, karaciğerde izlenen inflamasyonun OPG ve RANKL düzeyindeki değişiklikleri yansıtmakta olduğu söylenebilir.

ÖZET:

Genel bilgiler: İlk defa 1940 yılında Amerikalı bir endokrinolog Fuller Albright postmenopozal osteoporozu tanımlamış ve sebebinde östrojen yetersizliğine bağlı kemik yapım yetersizliği olduğunu öne sürmüştür. Osteoporoz aşırı kemik rezorpsiyonu ile karakterize, iskelet sistemi hastalığıdır. Osteoporozda düşük kemik kitlesi ve mikro mimaride bozulma ve mütakiben fraktür riskinde artış izlenir. Dünyada 200 milyondan fazla insanda osteoporoz olduğu tahmin edilmektedir. Kemik kuvvetinde azalma iskelet sistemi ile ilgili kırık riskinde artmaya yol açar ve bu da ağrı ve fonksiyon kaybı ile yaşam kalitesini bozar. İskelet yapının asıl mimarları kırıkta bulunan kondrositler, kemik yapan osteoblastlar ve kemiği rezorbe eden osteoklastlardır. Kemik devam eden bir süreç içinde kemik yapan osteoblastların ve kemik rezorbe eden osteoklastların koordine ettiği bir denge içinde yapılır ve resorbe edilir. OPG, RANK ve RANKL osteoklast oluşumu, gelişimi, füzyonu, aktivasyonu ve apoptozu için üç önemli sitokindir. OPG 380 aminoasitten oluşan salgısal bir proteindir. OPG osteoblastlardan salgılanmaktadır. OPG'nin biyolojik etkisi hem osteoklastogenezin son basamağının yani osteoklast öncülerinden dönüşümün engellenmesi, hem de erişkin osteoklastların aktivitesinin baskılanması şeklindedir. RANKL 317 aminoasitten oluşan tip 2 transmembran bir protein formunda olduğu gibi, soluble formda da olan bir proteindir. RANKL, OPG gibi osteoblastlardan salgılanan diğer bir proteindir. RANKL osteoklast üzerindeki yüksek affinite reseptörü olan RANK'a bağlanarak differansiasyonu ve aktivasyonunu sağlar. RANKL, kemik rezorpsiyonunu indükleyen ve hiperkalsemiye yol açan hemen hemen tüm faktörler tarafından indüklenir. Bu etki RANKL'a bağlanarak etkisini bloke eden OPG tarafından antagonize edilir. RANKL reseptörü olan RANK membrana bağlı osteoklast üzerinde yerleşmiş olan tümör nekrozis faktör süper ailesinin bir üyesidir. Osteoporozun son dönem karaciğer yetmezliğinin potansiyel bir komplikasyonu olduğu bilinmektedir. Kronik hepatit B, C ve D virus enfeksiyonunun kemik döngüsü üzerine etkisini irdeleyen çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bazı çalışmalarda kronik hepatite bağlı sirozlu hastalarda osteoporoz sıklığı % 53 olarak bildirilmiştir. Schiefke ve arkadaşları siroz olmayan kronik B ve C hepatit tanılı hastalarda kemik mineral dansitesinde azalma izlemişlerdir. Sirozlu hastalarda osteoporoz, kemik metabolizması ve sitokinlerle ilişkisini irdeleyen çok sayıda çalışma olmasına karşın, siroz olmayan kronik hepatit B ve C tanılı hastalarda yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Biz bu nedenle siroz olmayan kronik hepatit B tanılı

hastalarda kemik mineral dansite, kemik yapım ve yıkım parametreleri ve serum RANKL ve OPG düzeyleri arasındaki ilişkiyi irdeledik.

Materyal ve metod: Çalışmaya. Gastroenteroloji Bilim Dalı ve Enfeksiyon hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğine başvuran 16 kronik hepatit B tanılı hasta ve 31 sağlıklı kontrol vaka alındı. DXA, kemik dansite ölçümleri, Hologic QDR 4500W Elite serisi cihazla gerçekleştirildi. Kemik mineral dansite ölçümleri AP (anterior-posterior) pozisyonda L1, L2, L3, L4, L1-L4 lomber vertebra, femur seviyesinde; femur boynu, büyük trokanter, intertrokanterik alan, ward's üçgeni ölçülerek gerçekleştirildi. Gece açlığından sonra hasta ve kontrol grubundan alınan sabah açlık kanları santrifüj edildikten sonra serumlarından aspartat ve alanin aminotransferaz, direk ve indirek bilirubin, gamma glutamil transpeptidaz ve alkalen fosfataz üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor, osteokalsin, TSH, LH, FSH, östradiol, kortizol, prolaktin, anti-nükleer antikor düzeyleri ve hepatit B yüzey antijeni, hepatit B yüzey antijenine karşı antikor, hepatit B kor antijenine karşı antikor, hepatit B early antijeni, hepatit B early antijenine karşı antikor, insan immun yetmezlik virüsüne karşı antikor değerleri ölçüldü. Gruplar arasındaki korrelasyon değerlendirilmesi Spearman korrelasyon testi kullanılarak gerçekleştirildi. İdrar kalsiyum ve fosfor değerlendirilmesi için 24 saat idrar toplanarak gerçekleştirildi. Deoksipridinolin ölçümü spot idrarda gerçekleştirildi. Gruplar arası osteoporoz risk faktörlerinin karşılaştırılması için ki-kare testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmaya toplam 47 vaka alındı. Olguların 16 adeti kronik hepatit B (37.56 ± 10.26) ve 31 adeti sağlıklı kontrol (36.87 ± 9.89) grubu idi. Kronik hepatit B tanılı olguların 13'ü erkek ve 3'ü kadından oluşmakta idi. Kontrol grubunun 18'i erkek ve 13'ü kadın olarak dağılım gösterdi. Her iki grubun cinsiyet dağılımı ($p=0.112$) ve yaş dağılımı ($p=0.824$) arasında anlamlı bir fark izlenmedi. Gruplar arasında sigara ($p=0.769$), fizik aktivite ($p=0.846$), kahve tüketimi ($p=0.89$), ailede osteoporoz ($p=0.06$) ve vücut kitle indeksi ($p=0.686$) bakımından anlamlı fark izlenmedi. Hepatit B grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında ortalama lomber ve femur boyun KMD değerleri, t ve z skorları arasında anlamlı fark izlenmemiştir. OPG serum düzeyi hepatit grubunda kontrol grubuna göre yüksek izlenmiş iken ($p=0.029$), RANKL serum düzeyi hepatit grubunda kontrol grubuna göre düşük izlenmiştir ($p=0.004$). Spearman's korrelasyon testi ile lomber ve femur boyun t ve z-skorları,

KMD değerleri, idrar deoksiipridinolin ve serum osteokalsin değerleri ile RANKL ve OPG arasında korrelasyon izlenmedi.

Karar: Schiefke ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, siroz olmayan viral hepatit B ve C’de osteopeni ve osteoporoz sıklığını yüksek saptamışlardır. Biz ise yaptığımız çalışmada osteoporoz sıklığını sağlıklı kontrol grubundan farklı izlemedik. Hegedus ve arkadaşları, Wilson hastalarında OPG düzeyinin yüksek olmasını inflamatuvar olaya ve sürece bağlı olarak fibroblast ve immün kompetan hücrelerden artmış salınım şeklinde yorumlamışlardır. Diğer bir açıklama ise artmış kemik yıkımını kompanse etmek için osteoblastlardan OPG salımında artma şeklindeydir. Bu fikir bizim bulgularımızla uyuşmamaktadır. Çünkü alışmamızda her iki grubun ortalama KMD değerlerini normal sınırlar içinde bulduk. Sylvester ve arkadaşları, yeni tanı crohn hastası çocuklarda gerçekleştirdikleri çalışmada OPG düzeylerini artmış, RANKL düzeylerini azalmış saptamışlardır ve her iki grubun KMD değerlerini normal sınırlar içinde bulmuşlardır. Bu durumu antijenik uyarıya sekonder gamma interferon artışına ve azalmış osteoblastik aktiviteye bağlamışlardır. Bizim alışmamızda da gamma interferon azalmış olabilir. Hepatit B grubunda ortalama osteokalsin düzeylerini normal bulduk. Bu da osteoblastik aktivitenin OPG artışı ile uyumlu olarak artmadığını göstermektedir. İnterlökin-13 RANKL serum düzeyini azaltan ve OPG düzeyini artıran ve osteoklastogenezi baskılayan sitokin olarak bilinmektedir. İnterlökin-13’n STAT6 bağlı yolak ile osteoklast ve osteoblast üzerinde bulunan RANKL/RANK/OPG sistemini etkileyen reseptörleri aktif hale getirerek, osteoklast farklılaşmasını ve kemik rezorbsiyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Bizim alışmamızdaki bulgularımızla örtüşen bu durum hipotezimizi, yani: OPG ve RANKL düzeyindeki değişikliklerin karaciğerdeki inflamatuvar yanıtın sonucu olduğunu desteklemektedir. Literatürde kronik hepatit B enfeksiyonunda transforming growth factor beta 1 (TGF β 1) düzeyinin arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır. TGF- β 1’in RANKL düzeyini azaltırken, OPG düzeyini artırdığı bilinmektedir. TGF- β 1 osteoklastogenezi baskılamakta ve kemik döngüsünü azaltmaktadır. Bizim bulgularımız, tedavi almamış kronik hepatit B tanılı hastalarda bu sitokin artmasından kaynaklanıyor olabilir. Ama biz alışmamızda TGF- β 1 düzeyini ölçmediğimiz için bu durum hakkında kesin bir şey söylemek mümkün değildir. TGF- β 1’nin osteoklastogenezi baskılaması çalışmamızda kronik hepatit B tanılı hastalarda osteoporoz izlenmemesinin nedeni olabilir. OPG ve RANKL düzeyleri ile KMD, kemik yapım ve yıkım parametreleri arasında korrelasyon olmaması başka bir açıdan

bakıldığında kemik metabolizmasındaki değişiklikten ziyade karaciğerde izlenen enflamasyonun OPG ve RANKL düzeyindeki değişiklikleri meydana getirmiş olabileceğidir.

ABSTRACT:

General information: In 1940, Fuller Albright described postmenopausal osteoporosis, and he claimed that the reason of bone loss was due to insufficient bone production as a result of estrogen insufficiency. Osteoporosis is a disorder of skeletal system characterised by increased bone resorption. Low bone mass, defect in microarchitecture, and at the end of them increased risk of skeletal fracture was seen in osteoporosis. It is estimated that more than 200 million people living in the world have osteoporosis. Reduced bone strength brings about increase in skeletal system related fracture risk which cause pain and loss of function and brings about loss of quality of life. The primary architects of skeletal system are cartilage making chondrocytes, bone making osteoblasts, and bone resorbing osteoclasts. Bone is resorbed and made continuously in a process coordinated by osteoclasts and osteoblasts respectively. OPG, RANK, RANKL are three important cytokines for osteoclast production, fusion, activation, and apoptosis. OPG is a secretory protein composed of 380 aminoacids. OPG is secreted from osteoblasts. The biologic effect of OPG is both suppression of the last step in osteoclastogenesis that means prevention of conversion of osteoclast progenitors and suppression of the activity of mature osteoclasts. RANKL is found in either soluble form as 317 aminoacid type 2 transmembrane protein or soluble form. Like OPG, RANKL is secreted from osteoblasts. RANKL differentiate and activate osteoclasts through with binding to RANK which is high affinity receptor located on the osteoclast. RANKL was induced by all factors inducing bone resorption and causing hypercalcemia. This effect was blocked by OPG which binds to the receptor located on RANKL. RANK as a RANKL receptor is a tumor necrosis family member located on osteoclast membrane. It is known that osteoporosis is the complication of end stage liver disease (74). There are a few study that examine the relationship between bone metabolism and chronic hepatitis B,C and D infection. The incidence of osteoporosis was found 53 % in some studies performed in patients with chronic hepatitis induced cirrhosis. Schiefke et. al. was found reduced BMD in non cirrotic chronic hepatitis B and C patients. There is not enough study investigating the relation between osteoporosis, bone metabolism and cytokines in non cirrotic chronic hepatitis B and C patients, although a there are a lot of related with cirrotic patients in the literature. Because of that, we investigated the relation between BMD, bone turnover parameters and OPG, RANKL serum levels in non cirrotic chronic hepatitis B patients.

Material and method: 16 patients admitted to the gastroenterology and infectious disease clinics with chronic hepatitis B infection and 31 healthy control patient was included into the study. DXA, bone densitometry assesment was performed with Hologic QDR 4500W Elite series apparatus. Bone densitometry measurement was performed at the level of L1, L2, L3, L4, L4-5, lomber vertebrate, femur level; femur neck, great trockanter, intertrockanteric area and ward's triangel. Serum aspartat and alanine aminotransferase, direct and indirect bilirubin, gamma glutamyl transpeptidase and alkaline phosphatase, urea, creatinine, calcium, phosphor, osteocalcin, TSH, LH, FSH, estradiol, cortisol, prolactin, antinuclear antibody level and hepatitis B surface antibody, antibody against to hepatitis B surface antigen, antibody against hepatitis B core antigen, hepatitis B early antigen, antibody against hepatitis B early antigen, antibody against human immuno deficiency virus was evaluated in the centrifugated serum of both patients and control group following overnight fast. 24 hours of urine was collected for calcium and phosphor evaluation. Deoxypridinoline was evaluated in random urine. Ki-kare test was used for comparison of osteoporosis risc factors between control and patient group. $P < 0.05$ was accepted statistically significant.

Result: 47 person was included into the study. 16 patient with chronic hepatitis B (37.56 ± 10.26) and 31 healthy person (36.87 ± 9.89) was evaluated. Chronic hepatitis B patients consist of 13 men and 3 women. Healthy control group consist of 18 men and 13 women. Age ($p = 0.824$) and sex ($p = 0.112$) distribution of both group was not statistically significant. There was not statistically significant difference in between groups according to cigarette smoking ($p = 0.769$), physical activity ($p = 0.846$), coffee consumption ($p = 0.89$), osteoporosis in the family ($p = 0.06$), and body mass index ($p = 0.686$). According to mean lomber and femur neck bone mineral density values and t and z scores; there was not statistically significant difference in between chronic hepatitis B and healthy control groups. OPG serum level was statistically significantly higher in the chronic hepatitis B group compared to healthy control ($p = 0.029$). On the other side, RANKL serum level was found statistically significantly lower in chronic hepatitis B group compared to healthy control ($p = 0.004$). There is not statistically significant correlation between lomber and femur t and z scores, bone mineral density, urine deoxypridinoline and serum osteocalcin values and RANKL and OPG.

Conclusion: Schiefke et. all. found increased incidence of osteporosis and osteopenia in non-chirrotic viral hepatitis B and C patients. In our study, we have not found any

statistically significant different BMD values between groups. High OPG and low RANKL level was found in studies performed on the patients with Wilson's disease and primary biliary cirrhosis. Hegedus et al. states in their study related with Wilson's disease that high OPG level was due to increased secretion from immunocompetent cells as a result of inflammatory event. The other explanation was increased secretion from osteoblasts so as to compensate increased bone destruction. This idea was not applicable to our findings. Because, we found mean BMD values in normal range in both groups. In another study performed in pediatric age group patients with newly diagnosed Crohn disease; Silvester et al. found higher OPG and low RANKL levels in patient group like our results. They concluded that these findings are due to increased gamma interferon secretion secondary to increased antigenic stimulus and reduced osteoblastic activity. It is possible that gamma interferon may also be decreased in our study. We found normal mean osteocalcin levels in hepatitis B group. This means that osteoblastic activity does not increase concordant with increase in the serum level of OPG. IL-13 is known as a cytokine that reduces serum RANKL levels, increases serum OPG levels, and depresses osteoclastogenesis. It has been shown that IL-13 suppresses osteoclast differentiation and bone resorption via activating the receptors using the STAT6 pathway which affects the OPG/RANKL/RANK system located on osteoblasts and osteoclasts. This finding that is compatible with our findings supports our hypothesis that; change in the serum levels of OPG and RANKL was due to inflammation in the liver. There are many studies in the literature that disclose increased levels of TGF- β 1 in chronic hepatitis B patients. It is known that TGF- β 1 increases serum OPG levels, while reduces serum RANKL levels. It also depresses bone turnover and osteoclastogenesis. Our findings may probably result from the increased level of this cytokine in newly diagnosed chronic hepatitis B infected patients. Unfortunately, we have not measured serum levels of this cytokine in our study so we couldn't talk about the definitive effect of TGF- β 1. The reason that we didn't see osteoporosis in our hepatitis B patients may be due to increased levels of TGF- β 1. We have not found any correlation between OPG and RANKL serum levels and BMD and bone metabolism parameters in our study which may be due to secondary to inflammation of chronic hepatitis B instead of bone metabolism.

KAYNAKLAR:

- 1-Albright F, Bloomberg E, Smith PH. Postmenopausal osteoporosis. *Trans Assoc Am Physicians.* 1940; 55: 298–305.
- 2-Riggs BL, Wahner HW, Seman E, Offord KP, Dunn WL, Mazess RB et al. Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging. Differences between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes. *J Clin Invest.* 1982; 70: 716–723.
- 3-Giguere Y, Rousseau F. The genetics of osteoporosis: “complexities and difficulties.” *Clin Genet.* 2000; 57: 161–169
- 4-Grant SFA, 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 α 1 gene. *Nat Genet.* 1996; 14: 203–205
- 5-Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.* 1994; 367: 284–287
- 6-Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res.* 1996; 11: 306–311
- 7-Taboulet J, Frenkian M, Frenco JL, Feingold N, Jullienne A, de Vernejoul MC. Calcitonin receptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in post-menopausal women. *Hum Mol Genet.* 1998; 7: 2129–2133
- 8-Ota N, Hunt SC, Nakajima T, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, et al. Linkage of interleukin 6 locus to human osteopenia by sibling pair analysis. *Hum Genet.* 1999; 105:253–257
- 9-Cooper C. Epidemiology of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1999;9 (Suppl 2): S2–8
- 10-WHO assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO technical report series 843, Geneva, Switzerland; 1994
- 11-Johnell O, Kanis JA, Oden A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Petterson C, et al. Mortality after osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2004;15: 38–42
- 12-Miyakoshi N, Itoi E, Kobayashi M, Kodama H. Impact of postural deformities and spinal mobility on quality of life in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2003;14: 1007–12
- 13-Official Positions. The International Society for Clinical Densitometry. September 2005.
- 14-Francis S. Greenspan, David G. Gardner. *Basic and Clinical Endocrinology.* Seventh Ed. Dolores Shoback, Robert Marcus, Daniel Bikle. *Metabolic Bone Diseases: Osteoporosis.* Page: 335, Lange Medical Books/Mc Graw-Hill, Newyork.
- 15-Francis S. Greenspan, David G. Gardner. *Basic and Clinical Endocrinology.* Seventh Ed. Dolores Shoback, Robert Marcus, Daniel Bikle. *Metabolic Bone Diseases: Osteoporosis* Page: 336, Lange Medical Books/Mc Graw-Hill, Newyork.
- 16-Scane AC, Francis RM. Risk factors for osteoporosis in men. *Clin Endocrinol. (Oxf)* 1993; 38: 15–16
- 17-Compston JE. Bone density: BMC, BMD, or corrected BMD? *Bone.* 1995; 16: 5–7
- 18-Link TM, Majumdar S. Osteoporosis imaging. *Radiol Clin North Am* 2003;41: 813–39
- 19-Miller PD. Management of osteoporosis. *Dis Mon.* 1999; 45: 21–54
- 20-Brunader R, Shelton DK. Radiologic bone assessment in the evaluation of osteoporosis. *Am Fam Physician.* 2002;65: 1357–64
- 21-Parfitt AM, Villanueva, AR, Foldes J, Rao DS. Relations between histologic indices of bone formation: implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1995; 10: 466–473

- 22-Erlebacher A, Filvaroff EH, Gitelman SE, Derynck R. Toward a molecular understanding of skeletal development. *Cell*. 1995; 80: 371–378
- 23-Roodman GD. Advances in bone biology: The osteoclast. *Endocr. Rev.* 1996; 17: 308–33
- 24-Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley J M, et al. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology*. 1988; 123: 2600–2602
- 25-Mundy GR, Boyce B, Hughes D, Wright K, Bonewald L, Dallas S, et al. The effects of cytokines and growth factors on osteoblastic cells. *Bone*. 1995; 17: 71S–75S
- 26-Girasole G, Passeri G, Jilka RL, Manolagas SC. Interleukin–11: A new cytokine critical for osteoclast development. *J Clin Invest*. 1994; 93: 1516–1524
- 27-Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by IL-6. *Science*. 1992; 257: 88–91
- 28-Lewis DB, Liggitt HD, Effmann EL, Motley ST, Teitelbaum SL, Jepsen KJ, et al. Osteoporosis induced in mice by overproduction of interleukin 4. *Proc Natl Acad Sci*. 1993; 90: 11618–11622
- 29-Kitazawa R, Kimble RB, Vannice JL, Kung VT, Pacifici R. Interleukin–1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein decrease osteoclast formation and bone resorption in ovariectomized mice. *J Clin Invest*. 1994; 94: 2397–2406
- 30-De La Mata J, Uy HL, Guise TA, Story B, Boyce BF, Mundy GR, et al. Interleukin–6 enhances hypercalcemia and bone resorption mediated by parathyroid hormone-related protein in vivo. *J Clin Invest*. 1995; 95: 2846–2852
- 31-Uy HL, Guise TA, De La Mata J, Taylor SD, Story BM, Dallas MR, et al. Effects of parathyroid hormone (PTH)-related protein and PTH on osteoclasts and osteoclast precursors in vivo. *Endocrinology* 1995; 136: 3207–3212
- 32-Modder UI, Riggs BL, Spelsberg TC, Fraser DG, Atkinson EJ, Arnold R et al. Dose-response of estrogen on bone versus the uterus in ovariectomized mice. *Eur J Endocrinol*. 2004; 151:503–510
- 33-Prestwood KM, Kenny AM, Kleppinger A, Kuldorff M. Ultralow-dose micronized 17beta-estradiol and bone density and bone metabolism in older women: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003; 290: 1042–1048
- 34-Van Pottelbergh I, Goemaere S, Zmierzak H, Kaufman JM. Perturbed sex steroid status in men with idiopathic osteoporosis and their sons. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 4949–4953
- 35-Windahl SH, Hollberg K, Vidal O, Gustafsson JA, Ohlsson C, Andersson G. Female estrogen receptor beta–/– mice are partially protected against age-related trabecular bone loss. *J Bone Miner Res*. 2001; 16:1388–1398
- 36-Sims NA, Dupont S, Krust A, Clement-Lacroix P, Minet D, Resche-Rigon M et al. Deletion of estrogen receptors reveals a regulatory role for estrogen receptors- beta in bone remodeling in females but not in males. *Bone*. 2002; 30: 18–25
- 37-Hughes DE, Dai A, Tiffée JC, Li HH, Mundy GR, Boyce BF. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. *Nat Med*. 1996; 2: 1132–1136
- 38-Duong LT, Rodan GA. Regulation of osteoclast formation and function. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2: 95–104
- 39-Tanaka Y, Morimoto I, Nakano Y, Okada Y, Hirota S, Nomura S, et al. Osteoblasts are regulated by the cellular adhesion through ICAM-1 and VCAM-1. *J Bone Miner Res*. 1995; 10:1462–1469

- 40-Tanaka Y, Maruo A, Fujii K, Nomi M, Nakamura T, Eto S, et al. ICAM-1 discriminates functionally different populations of human osteoblasts: characteristic involvement of cell cycle regulators. *J Bone Miner Res.* 2000; 15: 1912-1923
- 41-Bilezikian JP. Osteoporosis in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84: 3431-4
- 42-Lips, P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2001; 22: 477-501
- 43-Ardizzone S, Bollani S, Bettica P, Bevilacqua M, Molteni P, Bianci Porro G. Altered bone metabolism in inflammatory bowel disease: There is a difference between Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Intern Med.* 2000;247: 63-70
- 44-Klaus J, Armbrecht G, Steinkamp M, Bruckel J, Rieber A, Adler G et al. High prevalence of osteoporotic vertebral fractures in patients with Crohn's disease. *Gut.* 2002; 51: 654-658
- 45-Bernstein CN, Blanchard JF, Leslie W, Wajda A, Yu BN. The incidence of fracture among patients with inflammatory bowel disease. A population-based cohort study *Ann Intern Med.* 2000;133:795-799
- 46-Bernstein CN, Leslie WD. The pathophysiology of bone disease in gastrointestinal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003;15: 857-864
- 47-Robinson RJ, al-Azzawi F, Iqbal SJ, Kryswcki T, Almond L, Abrams K et al. Osteoporosis and determinants of bone density in patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci.* 1998;43: 2500-6
- 48-Cooper C, Coupland C, Mitchell M. Rheumatoid arthritis, corticosteroid therapy and hip fracture. *Ann Rheum Dis.* 1995; 54: 49-52
- 49-Giannini S, Nobile M, Ciuffreda M, Lemmolo RM, Dalle Carbonare L, Minicuci N, et al. Long-term persistence of low bone density in orthotopic liver transplantation. *Osteoporos Int.* 2000; 11: 417-424
- 50-Heaf J, Tvedegaard E, Kanstrup IL, Fogh-Andersen N. Bone loss after renal transplantation: Role of hyperparathyroidism, acidosis, cyclosporine and systemic disease. *Clin Transplant.* 2000; 14: 457-463
- 51-Kokado Y, Takahara S, Ichimaru N, Toki K, Kyo M, Permpongkosol S, et al. Factors influencing vertebral bone density after renal transplantation. *Transpl Int.* 2000; 13(Suppl 1): S431-S435.
- 52-Collier JD, Ninkovic M, Compston JE. Guidelines on the management of osteoporosis associated with chronic liver disease. *Gut.* 2002; 50(Suppl 1): il-i9
- 53-Diamond T, Stiel D, Lunzer M, Wilkinson M, Roche J, Posen S. Osteoporosis and skeletal fractures in chronic liver disease. *Gut.* 1990; 31: 82-87
- 54-Wolfhagen FH, van Buuren HR, Vleggaar FP, Schalm SW. Management of osteoporosis in primary biliary cirrhosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2000; 14: 629-641
- 55-Bonkovsky HL, Hawkins M, Steinberg K, Hersh T, Galambos JT, Henderson JM, et al. Prevalence and prediction of osteopenia in chronic liver disease. *Hepatology.* 1990; 12: 273-280
- 56-Ormarsdottir S, Ljunggren O, Mallmin H, Brahm H, Loof L. Low body mass index and use of corticosteroids, but not cholestasis, are risk factors for osteoporosis in patients with chronic liver disease. *J Hepatol.* 1999; 31: 84-90
- 57-Chambers TJ. The cellular basis of bone resorption. *Clin Orthop Rel Res.* 1980; 151: 283-293
- 58-Rodan GA, Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption--a hypothesis. *Calcif Tissue Int.* 1981; 33: 349-351

- 59-Fuller K, Gallagher AC, Chambers TJ. Osteoclast resorption-stimulating activity is associated with the osteoblast cell surface and/or the extracellular matrix. *Biochem Biophys Res Comm.* 1991; 181: 67–73
- 60-Jimi E, Nakamura I, Amano H, Taguchi Y, Tsurakai T, Tamura M, et al. Osteoclast function is activated by osteoblastic cells through a mechanism involving cell-to-cell contact. *Endocrinol.* 1996; 137: 2187–2190
- 61-Tsuda E, Goto M, Mochizuki SI, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Comm.* 1997; 234: 137–142
- 62-Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology.* 1998; 139: 1329–1337
- 63-Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan C, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998; 93: 165–176
- 64-Simonet WS, Lacey DL, Dunstan C, Kelly M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997; 89: 309–319
- 65-Tan KB, Harrop J, Reddy M, Young P, Terrett J, Emery J, et al. Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells. *Gene.* 1997; 204: 35–46
- 66-Thirunavukkarasu K, Halladay DL, Miles RR, Yang X, Galvin RJ, Chandrasekhar S, et al. The osteoblast-specific transcription factor Cbfa1 contributes to the expression of osteoprotegerin, a potent inhibitor of osteoclast differentiation and function. *J Biol Chem.* 2000; 275: 25163–25172
- 67-Kobayashi Y, Hashimoto F, Miyamoto H, Kanaoa K, Miyazaki- Kawashita Y, Nakashima T, et al. Force-induced osteoclast apoptosis in vivo is accompanied by elevation in transforming growth factor- and osteoprotegerin expression. *J Bone Miner Res.* 2000; 15: 1924–1934
- 68-Misra M, Soyka LA, Miller KK, Herzog DB, Grinspoon S, De Chen D, et al. Serum osteoprotegerin in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 3816–22
- 69-Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 631–637
- 70-Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature.* 1999; 402: 304–9
- 71-Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96: 3540–3545
- 72-Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 253: 395–400
- 73-Arch RH, Gedrich RW & Thompson CB. Tumor necrosis factor receptor-associated factors (TRAFs) – a family of adapter proteins that regulates life and death. *Genes and Development.* 1998; 12: 2821–2830

- 74-Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999; 397: 315–23
- 75-Sokhi RP, Anantharaju A, Kondaveeti R, et al. Bone mineral density among cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl*. 2004; 10: 648–53
- 76-Gonzalez-Calvin JL, Gallego-Rojo F, Fernandez-Perez R, Casado-Caballero F, Ruiz-Escolano E, Olivares EG. Osteoporosis, Mineral Metabolism, and Serum Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor p55 in Viral Cirrhosis. *Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 4325–4330
- 77-McCaughan GW, Feller R B. Osteoporosis in chronic liver disease: pathogenesis, risk factors and management. *Dig Dis* 1994; 12: 223–31
- 78-Rouillard S, Lane NE. Hepatic osteodystrophy. *Hepatology*. 2001; 33: 301-307
- 79-Guanabens N, Pares A, Marinoso L, Brancos MA, Piera C, Serrano S, et al. Factors influencing the development of metabolic bone disease in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 1990; 85: 1356-1362
- 80-Gallego-Rojo FJ, Gonzales Calvin JL, Munoz-Torres, . Bone mineral density, serum insulin like growth factor-1, and bone turnover markers in viral cirrhosis. *Hepatology*. 1998; 28: 695-699
- 81-Carey EJ, Balan V, Kremers W K, Hay E. Osteopenia and osteoporosis in patients with end stage liver disease caused by Hepatitis C and alcoholic liver disease: not just a cholestatic problem. *Liver Transpl*. 2003; 9: 1166–73
- 82-Daniluk J, Szuster-Ciesielska A, Drabko J, Kandefler-Szerszen M. Serum cytokine levels in alcohol-related liver cirrhosis. *Alcohol*. 2001; 23: 29–34
- 83-Fabrega E, Orive A, Garcí'a-SuarezC, Garcia-Unzueta M, Amado JA, Pons-Romero F. Osteoprotegerin and RANKL in alcoholic liver cirrhosis. *Liver International*. 2005: 25: 305–310
- 84-Szalay F, Hegedus D, Lakatos P L, Tornai I, Bajnok E, Dunkel K, et al. High serum osteoprotegerin and low RANKL in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2003; 38: 395–400
- 85-Schiefke I, Fach A, Wiedmann M, Aretin AV, Schenker E, Borte G, et al. Reduced bone mineral density and altered bone turnover markers in patients with non-cirrhotic chronic hepatitis B or C infection. *World J Gastroenterol*. 2005; 11: 1843–1847
- 86-Heaney RP. Remodeling and skeletal fragility. *Osteoporos Int*. 2003; 14 (suppl 5): S12–15
- 87-Bonjour JP, Chevalley T, Ammann P, Slosman D, Rizzoli R. Gain in bone mineral mass in prepubertal girls 3,5 years after discontinuation of calcium supplementation: a follow-up study. *Lancet*. 2001; 358: 1208–12
- 88-Khosla S, Kleerekoper M. Biochemical markers of bone turnover. In: Favus MJ, editor. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 5th ed. Kelseyville (CA): American Society for Bone and Mineral Research; 2003. p. 166–71
- 89-Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev*. 2002; 23: 90–119
- 90-Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell*. 2001; 107: 513–23
- 91-Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Comm*. 1998; 250: 776–781

- 92-Hofbauer LC, Heufelder AE. Clinical review 114: hot topic the role of receptor activator of nuclear factor-kb ligand and osteoprotegerin in the pathogenesis and treatment of metabolic bone diseases. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000; 85: 2355–63
- 93-Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*. 1998; 12: 1260–8
- 94-Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med*. 2000; 192: 463–74
- 95-Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev*. 1999; 13: 2412–24
- 96-Morony S, Capparelli C, Lee R, Shimamoto G, Boone T, Lacey DL, et al. A chimeric form of osteoprotegerin inhibits hypercalcemia and bone resorption induced by IL-1beta, TNF-alpha, PTH, PTHrP, and 1,25(OH)2D3. *J Bone Miner Res*. 1999; 14: 1478–85
- 97-Li J, Sarosi I, Yan XQ, Moroni S, Capparelli C, Tan HL, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1566–71
- 98-Hofbauer LC, Shui C, Riggs BL, Dunstan CR, Spelsberg TC, O'Brien T, et al. Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF-jB ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 280: 334–339
- 99-Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A, et al. Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 1999; 14: 518–527
- 100-Khosla S, Arrighi H, Melton 3rd LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Dunstan C, et al. Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporos Int*. 2002; 13: 394–399
- 101-Smith BB, Cosenza ME, Mancini A, Dunstan C, Gregson R, Martin SW, et al. A toxicity profile of osteoprotegerin in the cynomolgus monkey. *Int J Toxicol*. 2003; 22: 403–412
- 102-Capparelli C, Kostenuik PJ, Morony S, Starnes C, Wiemann B, Van G, et al. Osteoprotegerin prevents and reverses hypercalcemia in a murine model of humoral hypercalcemia of malignancy. *Cancer Res*. 2000; 60: 783–7
- 103-Clohisey DR, Ramnaraine ML, Scully S, Qi M, Van G, Tan HL, et al. Osteoprotegerin inhibits tumor-induced osteoclastogenesis and bone tumor growth in osteopetrotic mice. *J Orthop Res*. 2000; 18: 967–76
- 104-Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Chinchilli V, Witters L, Engle L, et al. Serum Osteoprotegerin Levels in Healthy Controls and Cancer Patients *Clinical Cancer Research*. 2002; 8: 2306–2310
- 105-Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998; 93: 165–76
- 106-Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med*. 1998; 188: 997–1001
- 107-Schett G, Kiechl S, Redlich K, Oberhollenzer F, Weger S, Egger G, et al. Soluble RANKL and risk of nontraumatic fracture. *J Am Med Assoc*. 2004; 291: 1108–1113

- 108-Josien R, Li HL, Ingulli E, Sarma S, Wong BR, Vologodskaia M, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a TNF family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells in vivo. *J Exp Med.* 2000; 191: 495–502
- 109-Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev.* 1999; 13: 2412–24
- 110-Lomaga MA, Yeh W-C, Sarosi I, Duncan GS, Furlonger C, Ho A et al. TRAF6-deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40 and LPS signaling. *Genes and Development.* 1999; 13: 1015–1024
- 111-Mizuno A, Kanno T, Hoshi M, Shibata O, Yano K, Fujise N, et al. Transgenic mice overexpressing soluble osteoclast differentiation factor (sODF) exhibit severe osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2002; 20: 337–344
- 112-Compston JE. Hepatic osteodystrophy: vitamin D metabolism in patients with liver disease. *Gut.* 1986; 27: 1073–1090
- 113-Diamond TH, Stiel D, Lunzer M, McDowall D, Eckstein RP, Posen S. Hepatic osteodystrophy. Static and dynamic bone histomorphometry and serum bone Gla-protein in 80 patients with chronic liver disease. *Gastroenterology.* 1989; 96: 213–221
- 114-Diamond T, Steil D, Lunzer M, . Osteoporosis and skeletal fractures in chronic liver disease. *Gut.* 1990; 31: 82–7
- 115-Rosen H. Primary biliary cirrhosis and bone disease. *Hepatology* 1996, 21: 253–255
- 116-Stellon AJ, Webb A, Compston J, Williams R. Low bone turnover state in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 1987, 7: 137–142
- 117-Karan MA, Erten N, Tascioglu C, Karan A, Sindel D, Dilsen G. Osteodystrophy in posthepatic cirrhosis. *YMJ.* 2001; 42: 547–552
- 118-Corazza C, Trevisani F, Di Stefano M, De Notariis S, Veneto G, Cecchetti L, et al. Early increase of bone resorption in patients with liver cirrhosis secondary to viral hepatitis. *Dig Dis Sci.* 2000; 45: 1392-1399
- 119-Carey E, Balan V. Metabolic bone disease in patients with liver disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2003; 5; 71-77
- 120-Pignata S, Daniele B, Galati M, Esposito G, Vallone P, Fiore F, et al. Oestradiol and testosterone blood levels in patients with viral cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1997; 9: 283–6
- 121-Gennari L, Becherini L, Masi L, Gonnelli S, Cepollaro C, Martini S, et al. Vitamin D receptor genotypes and intestinal calcium absorption in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int.* 1997; 61: 460–3
- 122-Ershler WB, Harman SM, Keller ET. Immunologic aspects of osteoporosis. *Dev Comp Immunol.* 1997, 21: 487–499
- 123-Natale VM, Filho WJ, Duarte AJS. Does the secretion of cytokines in the periphery reflect their role in bone metabolic diseases? *Mech Ageing Dev.* 1997; 94: 17–23
- 124-Lam J, Ross FP, Teitelbaum SL. RANK ligand stimulates anabolic bone formation. *J Bone Miner Res.* 2001; 16: S150
- 125-Ziolkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, Luszczkiewicz G, Wiland P, Dziewczopolski W, et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 1744–1753
- 126-Colucci S, Brunetti G, Rizzi R, Zonno A, Mori G, Colaianni G, et al. T cells support osteoclastogenesis in an in vitro model derived from human multiple myeloma bone disease: the role of the OPG/TRAIL interaction. *Blood.* 2004; 104: 3722–3730

- 127-Chen GY, He JQ, Lu GC, Li MW, Xu CH, Fan WW, et al. Association between TRAIL expression on peripheral blood lymphocytes and liver damage in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol.* 2005; 11: 4090–3
- 128-Trautwein C, Possienke M, Schlitt H, Boker KH, Horn R, Raab Ret al. Bone density and metabolism in patients with viral hepatitis and cholestatic liver diseases before and after liver transplantation. *Am J Gastroenterol.* 2000; 95: 2343–2351
- 129-Olsson R, Johansson C, Lindstedt G, Mellstrom D. Risk factors for bone loss in chronic active hepatitis and primary biliary cirrhosis. *Scand J Gastroenterol.* 1994; 29: 753–756
- 130-Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med.* 1995; 332: 305-11
- 131-Salmayenli N, Genç S, Karan MA, Taşçıoğlu C, Güler K, Vatansever S, et al. Interleukin-6 in chronic liver disease. *Med Sci Res.* 1998; 26: 207-8
- 132-van der Merwe SW, Attfield D, Fevery J, Bogaerds JB. Hepatic osteodystrophy: the influence of liver disease and portal hypertension on cytokine activation. *Med Hypotheses.* 2000; 54: 842-5
- 133-Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclast-like cells in vitro. *J Bone Miner Res.* 1989; 4: 113–118
- 134-Crosbie OM, Freaney R, McKenna MJ, Hegarty JE. Bone density, vitamin D status, and disordered bone remodelling in end stage chronic liver disease. *Calcif Tissue Int.* 1999; 64: 295-300
- 135-Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs BL. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrin regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res.* 2000; 15: 2–12
- 136-Ueland T, Bollerslev J, Godang K, Muller F, Froland SS, Aukrust P. Increased serum osteoprotegerin level in disorders characterized by persistent immune activation or glucocorticoid excess-possible role in bone homeostasis. *Eur J Endocrinol.* 2001; 145: 685–690
- 137-Marek B, Kajdaniuk D, Janczewska-Kazek E, Beniowski M, Swietochowska E, Kos-Kudla B, et al. Serum aminoterminal peptide of type III procollagen (PIIINP) and transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) levels in patients with chronic hepatitis B and C. *Pol Arch Med Wewn.* 2003; 109: 603–8
- 138-Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 2003; 423: 337–342
- 139-Hegedus D, Ferencz V, Lakatos PL, Meszaros S, Lakatos P, Horvath C, et al. Decreased bone density, elevated serum osteoprotegerin, and β -cross-laps in wilson disease. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2002; 17: 1961–1967
- 140-Gonzalez-Calvin JL, Mundi JL, Casado FJ, Olivares EG. Bone mineral density and serum levels of estradiol and osteoprotegerin in postmenopausal women with viral cirrhosis. *Gastroenterology.* 2004; 126: 1225–1226
- 141-Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K, et al. Transforming Growth Factor-b Stimulates the Production of Osteoprotegerin/ Osteoclastogenesis Inhibitory Factor by Bone Marrow Stromal Cells. *The Journal of Biological Chemistry.* 1998; 273: 27091–27096
- 142-De Lalla C, Galli G, Aldrighetti L, Romeo R, Mariani M, Monno A, Nuti S, et al. Production of profibrotic cytokines by invariant NKT cells characterizes cirrhosis progression in chronic viral hepatitis. *J Immunol.* 2004; 173: 1417–25

- 143-Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, et al. Protein Expression and Functional Difference of Membrane-Bound and Soluble Receptor Activator of NF- κ B Ligand: Modulation of the Expression by Osteotropic Factors and Cytokines. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2000; 275: 768–775
- 144-Palmqvist P, Lundberg P, Persson E, Johansson A, Lundgren I, Lie A, et al. Inhibition of hormone and cytokine-stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin–4 and interleukin–13 is associated with increased osteoprotegerin and decreased RANKL and RANK in a STAT6-dependent pathway. *J Biol Chem*. 2006; 281: 2414–29
- 145-Udagawa N. The mechanism of osteoclast differentiation from macrophages: possible roles of T lymphocytes in osteoclastogenesis. *J Bone Miner Metab*. 2003; 21: 337–43