Orijinal Araştırma / Original Investigation

DOI: 10.4274/tod.galenos.2026.26780
Turk J Osteoporos

Osteoporozun Genetik Temellerinin Tüm Genom Dizileme ile Araştırılması ve Aday Genlerin Belirlenmesine Yönelik Pilot Çalışma

A Pilot Study on Investigating the Genetic Basis of Osteoporosis Using Whole-Genome Sequencing and Identifying Candidate Genes

Özlem Yılmaz[1], Fatih Tepgeç[2], Mehmet Yürüyen[3], Eren Vurgun[4], Asuman Gedikbaş[5], Hanife Usta Atmaca[6], Adil Mardioğlu[7], Zehra Oya Uyguner[8]

[1]Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[2]Altınbaş Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul, Türkiye
[3]Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[4]Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[5]İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[6]Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[7]Yaşam Bilimleri Laboratuvarı, KTH-İsveç Kraliyet Teknoloji Enstitüsü, Stokholm, İsveç
[8]İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Öz

Amaç: Osteoporoz, kemik kütlesinde azalma ve kemik mikromimarisinde bozulma ile karakterize, kırık riskinde artışa yol açan multifaktöriyel bir iskelet hastalığıdır. Hastalığın gelişiminde genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı bilinmekle birlikte, bireyler arası heterojeniteyi açıklayan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, Türkiye'den seçilmiş osteoporozlu bireyler ile sağlıklı kontroller arasında genetik varyasyonların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, osteoporoz tanısı almış 13 kadın hasta ile 7 kadın ve 1 erkekten oluşan 8 kontrol olmak üzere toplam 21 birey dahil edilmiştir. Periferik kan örneklerinden elde edilen tüm genom dizileme verileri, osteoporozla ilişkili 70 aday gen kapsamında değerlendirilmiştir.

Bulgular: Toplam 22.787 varyant kaydının incelendiği analizde, hasta ve kontrol grupları arasında varyant taşıyıcılık oranları bakımından en az 50 yüzde puanlık farklılık gösteren 114 kayıt keşifsel olarak önceliklendirilmiştir. *CDH4, ESR1, CD44, CALCA, COPB2* ve *SOST* genlerinde dikkat çekici dağılım farklılıkları gözlenmiştir. Bununla birlikte, tüm varyant kayıtları üzerinden gerçekleştirilen çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılık sınırını karşılayan bir varyant saptanmamıştır.

Sonuç: Elde edilen bulgular, osteoporozun genetik heterojenitesine ilişkin hipotez oluşturucu gözlemler sunmakta olup, belirlenen aday varyantların daha geniş ve bağımsız kohortlarda değerlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Osteoporoz, tüm genom dizileme, genetik varyantlar, aday genler

Abstract

Objective: Osteoporosis is a multifactorial skeletal disorder characterized by reduced bone mass and deterioration of bone microarchitecture, leading to an increased risk of fractures. Although genetic factors are known to play an important role in the development of the disease, the molecular mechanisms underlying interindividual heterogeneity remain incompletely understood. This study aimed to compare genetic variations between individuals with osteoporosis and individuals without an osteoporosis diagnosis selected from Türkiye.

Materials and Methods: A total of 21 individuals were included in the study, comprising 13 female patients diagnosed with osteoporosis and eight controls (seven females and one male). Whole-genome sequencing data obtained from peripheral blood samples were evaluated across 70 candidate genes associated with osteoporosis.

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Uzm. Dr. Özlem Yılmaz, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
E-posta: dr.ozlemyilmaz@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-9868-2828
Geliş Tarihi/Received: 06.02.2026 **Kabul Tarihi/Accepted:** 26.10.2026 **Epub:** 23.11.2026

Atıf/Cite this article as: Yılmaz Ö, Tepgeç F, Yürüyen M, Vurgun E, Gedikbaş A, Usta Atmaca H, et al. A pilot study on investigating the genetic basis of osteoporosis using whole-genome sequencing and identifying candidate genes. Turk J Osteoporos. [Epub Ahead of Print]

©Telif Hakkı 2026 Yazar(lar). Türkiye Osteoporoz Derneği adına Galenos Yayınevi tarafından yayımlanmıştır.
Creative Commons Atıf-GayriTicari-Türetilemez 4.0 (CC BY-NC-ND) Uluslararası Lisansı ile lisanslanmış, açık erişimli bir makaledir.

Results: Among the 22,787 variant records analyzed, 114 records showing differences of at least 50 percentage points in variant carrier frequencies between the patient and control groups were prioritized on an exploratory basis. Notable differences in variant distributions were observed in the *CDH4, ESR1, CD44, CALCA, COPB2,* and *SOST* genes. However, no variant reached statistical significance after correction for multiple comparisons across all variant records.

Conclusion: The findings provide hypothesis-generating observations regarding the genetic heterogeneity of osteoporosis, and the identified candidate variants require further evaluation in larger, independent cohorts.

Keywords: Osteoporosis, whole-genome sequencing, genetic variants, candidate genes

Giriş

Osteoporoz, kemik kütlesinde azalma ve kemik mikromimarisinde bozulma ile karakterize, kırık riskinde artışa yol açan kronik ve multifaktöriyel bir iskelet hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından özellikle ileri yaş popülasyonlarında kritik bir halk sağlığı problemi olarak tanımlanan osteoporozun prevalansı, küresel yaşlanma ile birlikte dramatik bir artış göstermektedir (1). Postmenopozal kadınlar ve yaşlı erkekler başta olmak üzere, osteoporotik kırıklar; mortalite, morbidite ve sağlık harcamalarında belirgin bir yük oluşturmaktadır (2). Buna rağmen, osteoporozun biyolojik altyapısı ileri derecede heterojen olup, bireyler arası risk farklılıklarını açıklayan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Kemik dokusu, osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki dinamik denge ile sürekli yenilenen bir organdır. Bu dengenin bozulması; hormonal değişiklikler, kronik enflamasyon ve genetik yatkınlıkların karmaşık etkileşimiyle gerçekleşir. Güncel yaklaşımlar, osteoporozun yalnızca lokal bir kemik sorunu değil, sistemik bir metabolik bozukluk olarak ele alınması gerektiğini vurgulamaktadır (3).

Genetik yatkınlığın, kemik mineral yoğunluğundaki (KMY) bireyler arası varyasyonun %50-85'ini açıkladığı bildirilmektedir (4). Literatürde *LRP5*, *SOST*, *COL1A1* gibi kemik metabolizmasıyla doğrudan ilişkili genler tanımlanmış; genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ile osteoporozla ilişkili yüzlerce lokus saptanmıştır (5). Ancak bu varyantların çoğu düşük etki büyüklüğüne sahiptir ve "eksik kalıtım" olgusu, tek başına genomik verilerin klinik fenotipi açıklamada yetersiz kaldığını göstermektedir. Bu durum, osteoporoz patogenezinde yalnızca klasik kemik genlerinin değil; bağışıklık sistemi, enerji metabolizması ve hücresel stres yanıtlarıyla ilişkili geniş genetik ağların ve bu ağların çevresel faktörlerle etkileşiminin rol oynadığını düşündürmektedir (6).

Özellikle yaşlı bireylerde, patojenik varyantların değişken penetrans göstermesi göz önünde bulundurulduğunda, osteoporoz gelişiminde genetik yatkınlık ile çevresel ve biyolojik tetikleyiciler arasındaki etkileşimlerin önemi giderek daha fazla vurgulanmaktadır.

Bu çalışma, Türkiye'de yaşayan bireylerden seçilmiş sınırlı bir kohortta, tüm genom dizileme (WGS) verileri üzerinden osteoporozla ilişkili olduğu daha önce bildirilmiş 70 aday gendeki genetik varyasyonların değerlendirilmesini amaçlamaktadır. Osteoporozlu bireyler ile kontrol grubu arasında gözlenen genotip ve varyant taşıyıcılık farklılıkları, güncel literatürde tanımlanan biyolojik mekanizmalar çerçevesinde incelenmiştir. Çalışmanın pilot ve keşifsel niteliği doğrultusunda, elde edilen bulguların doğrulanmış genetik ilişkilerden ziyade gelecekte daha geniş kohortlarda araştırılabilecek aday varyantlara yönelik hipotez oluşturucu gözlemler sunması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Tasarımı ve Etik Onay

Bu çalışma, osteoporoz tanısı bulunan bireyler ile kontrol grubunun genomik profillerini karşılaştırmayı amaçlayan, gözlemsel ve kesitsel nitelikte bir pilot araştırma olarak tasarlanmıştır. Çalışmada kullanılan genomik verilerin elde edildiği "Sağlıklı Yaşlı Popülasyonda Genom, Proteom ve Metabolom" başlıklı araştırma, Altınbaş Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 15.09.2022 tarihli, 07 sayılı toplantıda değerlendirilmiş ve 2022/142 dosya numarası ile etik yönden uygun bulunmuştur. Osteoporozlu bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılmasına yönelik araştırma protokolü ise Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 23.01.2026 tarihli, 42 numaralı karar ile onaylanmıştır. Araştırma, ilgili ulusal mevzuat ve Helsinki Bildirgesi ilkeleri doğrultusunda yürütülmüş olup, tüm katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Çalışma Popülasyonu

Çalışmaya toplam 21 birey dahil edilmiştir. Hasta grubunu, klinik değerlendirme ve/veya dual-enerji X-ışını absorbsiyometrisi (DXA) bulgularına göre osteoporoz tanısı almış, 60-79 yaş aralığındaki 13 kadın birey oluşturmuştur.

Kontrol grubu, bilinen osteoporoz tanısı bulunmayan, 61-84 yaş aralığındaki 8 bireyden oluşmaktadır. Kontrol grubunda 7 kadın ve 1 erkek yer almaktadır. Hasta ve kontrol grupları yaş aralıkları bakımından benzer olmakla birlikte, birebir yaş veya cinsiyet eşleştirmesi yapılmamıştır.

Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri

Çalışmaya dahil edilme ve çalışma dışı bırakılma kriterleri, araştırma protokolünde tanımlanan klinik ölçütler doğrultusunda uygulanmıştır. İyi kontrol altında bulunan hipertansiyon, dislipidemi, hipotiroidi, prediyabet veya bozulmuş açlık glukozu ile belirli yaş ilişkili benign hastalıklar, katılımcıların genel klinik durumları dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

Bilinen malignite öyküsü (bazal veya skuamöz hücreli deri kanserleri hariç), koroner arter hastalığı, geçirilmiş miyokard enfarktüsü, inme veya geçici iskemik atak, derin ven trombozu, pulmoner emboli, aort veya serebral anevrizma ve Alzheimer veya Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar çalışma dışı bırakılma kriterleri arasında yer almıştır.

Katılımcıların tıbbi öyküleri, bireysel beyanları ve mevcut klinik kayıtları doğrultusunda değerlendirilmiştir.

Örnek Toplanması ve Biyolojik Materyaller

Tüm katılımcılardan genomik analiz amacıyla periferik kan örnekleri EDTA içeren tüplere alınmıştır. Örnekler, WGS analizleri için işleme alınmıştır.

Genomik DNA izolasyonu ve dizileme öncesi örnek hazırlama işlemleri, SZA OMICS tarafından sağlanan laboratuvar hizmeti kapsamında yürütülmüştür. Hizmet sağlayıcının yöntem raporunda, uygun örneklerde otomatik nükleik asit izolasyon sisteminin kullanıldığı, bu sisteme uygun olmayan örneklerde ise manuel izolasyon uygulandığı belirtilmiştir.

Genomik Veri Analizi

WGS işlemleri, SZA OMICS tarafından ücretsiz olarak sağlanan ayni araştırma desteği kapsamında gerçekleştirilmiştir. Dizileme kütüphaneleri Illumina DNA PCR-Free Prep kiti kullanılarak hazırlanmış ve çift uçlu (paired-end) dizileme gerçekleştirilmiştir. Hizmet sağlayıcının yöntem raporunda hedef ortalama dizileme derinliği 30×, en az 20× derinlikte kapsanması hedeflenen baz oranı ise %90-95 olarak belirtilmiştir. Bu değerler dizileme sürecinin hedef parametrelerini ifade etmekte olup örnek bazında ölçülmüş kalite kontrol sonuçları olarak değerlendirilmemiştir.

Dizileme işlemlerinin tamamlanmasının ardından FASTQ formatındaki ham sekans verileri araştırma ekibine teslim edilmiştir. Biyoinformatik analizler, Galaxy platformu kullanılarak araştırma ekibi tarafından bağımsız olarak gerçekleştirilmiştir. Ham dizileme okumaları BWA-MEM algoritması kullanılarak GRCh38/hg38 referans genomuna hizalanmış ve BAM/BAI dosyaları oluşturulmuştur. Varyant çağrımı FreeBayes yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen varyantlar VCF formatında kaydedilmiştir. Varyantların filtrelenmesinde okuma derinliği (read depth, DP) >10 kriteri uygulanmıştır.

Filtreleme sonrasında elde edilen varyantların anotasyonu Franklin platformu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Varyantların popülasyon frekanslarının değerlendirilmesinde dbSNP ve gnomAD veri tabanlarından; olası fonksiyonel etkilerinin yorumlanmasında ise MutationTaster, PolyPhen-2, PROVEAN, SIFT ve Combined Annotation Dependent Depletion araçlarından yararlanılmıştır. Bu araçlardan elde edilen hesaplamalı tahminler tek başına patojenite kanıtı olarak değerlendirilmemiştir (7).

Hizmet sağlayıcının raporunda yer alan biyoinformatik analiz sonuçları, bu çalışmanın varyant karşılaştırmaları için doğrudan kullanılmamıştır. Ham dizileme verilerinin hizalanması, varyant çağrımı, filtrelenmesi ve anotasyonu ile sonraki istatistiksel değerlendirmeler araştırma ekibi tarafından yürütülmüştür.

WGS analizlerinde varyant saptama performansının dizileme derinliği, genomik kapsama ve varyant çağrım doğruluğundan etkilendiği bildirilmiştir (8,9). Dizileme derinliğinin genotipleme doğruluğuna etkisi, insan dışı organizmalarda gerçekleştirilen yeni nesil dizileme çalışmalarında da gösterilmiştir (10).

Aday Genlerin Belirlenmesi

Osteoporozla ilişkili aday genlerin belirlenmesinde literatür taraması ve Human Gene Mutation Database veri tabanından yararlanılmıştır. Literatürde osteoporoz, KMY ve kemik metabolizmasıyla ilişkisi bildirilmiş genler değerlendirilerek toplam 70 aday gen belirlenmiştir. Aday genlerin seçimi, osteoporoz ve kontrol grupları arasındaki varyant karşılaştırmasından önce tamamlanmıştır. Belirlenen genlerde toplam 22.787 varyant kaydı değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen 70 aday genin tam listesi ve gen başına varyant kayıt sayıları Ek Tablo 1'de sunulmuştur.

Varyant Taşıyıcılığı ve Önceliklendirme

Genotip verileri referans allel açısından homozigot, heterozigot ve alternatif allel açısından homozigot olmak üzere üç kategoride değerlendirilmiştir. Varyant taşıyıcılığı, heterozigot veya alternatif allel açısından homozigot genotipe sahip bireylerin ilgili gruptaki toplam birey sayısına oranı olarak tanımlanmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarındaki taşıyıcılık oranları ayrı ayrı hesaplanmış ve gruplar arasındaki mutlak fark yüzde puan cinsinden ifade edilmiştir. Taşıyıcılık oranları arasında en az 50 yüzde puanlık fark bulunan varyant kayıtları, keşifsel değerlendirme amacıyla önceliklendirilmiştir.

Bu eşik, istatistiksel anlamlılık kriteri olarak değil, gruplar arasında belirgin dağılım farklılıkları gösteren varyant kayıtlarının betimsel olarak seçilmesi amacıyla kullanılmıştır. Önceliklendirme işleminin aynı çalışma örnekleminde gerçekleştirilmesi nedeniyle, seçim yanlılığı olasılığı değerlendirmede dikkate alınmıştır.

Alternatif allel frekansı, heterozigot bireylerde bir ve alternatif allel açısından homozigot bireylerde iki alternatif allel bulunduğu kabul edilerek, toplam alternatif allel sayısının ilgili gruptaki değerlendirilebilir toplam allel sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Demografik ve klinik veriler tanımlayıcı istatistikler kullanılarak değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin dağılım özelliklerine göre uygun özet istatistiklerin, kategorik değişkenler için ise sayı ve yüzde değerlerinin kullanılması esas alınmıştır. Osteoporoz tanısı, frajilite kırığı varlığı ve/veya DXA ölçümünde lomber omurga (L1-L4), femur boynu ya da total kalça bölgelerinden en az birinde T-skorunun ≤-2,5 olması esas alınarak kabul edilmiştir. Kontrol grubuna, DXA ölçümünde osteoporoz saptanmayan bireyler dahil edilmiştir; bu grupta osteopenisi bulunan katılımcılara da yer verilmiştir.

Hasta ve kontrol grupları arasındaki varyant taşıyıcılık dağılımları, heterozigot veya alternatif allel açısından homozigot bireyler taşıyıcı kabul edilerek iki yönlü Fisher'ın kesin testi ile karşılaştırılmıştır. Böylece her varyant kaydı için taşıyıcı ve taşıyıcı olmayan bireylerin gruplar arasındaki dağılımı değerlendirilmiştir. Sıfır hücre içeren karşılaştırmalarda olasılık oranı ve %95 güven aralıklarının hesaplanmasında 0,5 süreklilik düzeltmesi kullanılmıştır, Fisher'ın kesin testi p-değerleri düzeltme uygulanmadan hesaplanmıştır.

Çoklu karşılaştırmalardan kaynaklanabilecek yanlış pozitif bulguların kontrolü amacıyla Benjamini-Hochberg yöntemi kullanılarak yanlış keşif oranı (FDR) düzeltmesi uygulanmıştır. Düzeltme, yalnızca önceliklendirilen 114 kayıt üzerinde değil, değerlendirilen 22.787 varyant kaydının tamamı üzerinden gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel değerlendirmede ham p-değerleri ve FDR ile düzeltilmiş q-değerleri ayrı ayrı raporlanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için düzeltilmiş q<0,05 ölçütü esas alınmıştır. Önceliklendirme amacıyla kullanılan 50 yüzde puanlık taşıyıcılık farkı eşiği, istatistiksel anlamlılık kriteri olarak değerlendirilmemiştir.

Çalışmanın sınırlı örneklem büyüklüğü ve keşifsel niteliği nedeniyle, elde edilen sonuçların bağımsız kohortlarda doğrulanması gerektiği kabul edilmiştir.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 13 osteoporoz hastası ve 8 kontrol bireyinden elde edilen WGS verileri, osteoporozla ilişkili 70 aday gen kapsamında değerlendirilmiştir. Bu gen seti içerisinde toplam 22.787 varyant kaydı incelenmiştir.

Hasta ve kontrol grupları arasındaki varyant dağılımlarını değerlendirmek amacıyla her bir varyant kaydı için taşıyıcılık oranları hesaplanmıştır. Gruplar arasında en az 50 yüzde puanlık mutlak taşıyıcılık farkı gösteren 114 varyant kaydı keşifsel değerlendirme amacıyla önceliklendirilmiştir. Bu kayıtların 14 farklı gende dağıldığı belirlenmiş olup, en fazla varyant *COPB2* (n=28), *CDH4* (n=26), *CALCA* (n=20), *CD44* (n=12) ve *ESR1* (n=7) genlerinde gözlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Hasta ve kontrol grupları arasında en az 50 yüzde puanlık taşıyıcılık farkı gösteren varyant kayıtlarının genlere göre dağılımı

Gen	Varyant kaydı (n)
COPB2	28
CDH4	26
CALCA	20
CD44	12
ESR1	7
MEGF6	6
PRKAR1A	4
FGFR2	4
SGMS2	2
ENPP1	1
SOX6	1
NOTCH2	1
TNFRSF11A	1
BMP1	1
Toplam	114

Varyantlar, hasta ve kontrol grupları arasında ≥50 yüzde puanlık taşıyıcılık farkı göstermelerine göre keşifsel olarak önceliklendirilmiştir. Bu eşik istatistiksel anlamlılık ölçütü değildir. Çoklu karşılaştırma düzeltmesi (Benjamini-Hochberg FDR) sonrasında hiçbir varyant istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (q≥0,05)

Gruplar arasındaki taşıyıcılık dağılımları iki yönlü Fisher'ın kesin testiyle değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, incelenen 22.787 varyant kaydı üzerinden Benjamini-Hochberg yöntemiyle gerçekleştirilen çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılık sınırını karşılayan bir varyant saptanmamıştır (q≥0,05). Bu nedenle önceliklendirilen varyantlar, osteoporozla ilişkisi doğrulanmış genetik belirteçler olarak değil, ileride araştırılabilecek keşifsel adaylar olarak değerlendirilmiştir.

CDH4 geninde yer alan rs12626162 varyantı, hasta grubundaki 13 bireyin 10'unda (%76,9) taşınırken kontrol grubundaki 8 bireyin hiçbirinde saptanmamıştır. Alternatif allel frekansı hasta grubunda %50, kontrol grubunda ise %0 olarak hesaplanmıştır. Bu varyantın yanı sıra rs12624573 ve rs944254 kayıtlarında da hasta ve kontrol grupları arasında taşıyıcılık dağılımı farklılıkları gözlenmiştir.

ESR1 geninde yer alan rs851991 varyantı, hasta grubundaki 13 bireyin 12'sinde (%92,3), kontrol grubundaki 8 bireyin ise 2'sinde (%25) saptanmıştır. Bu varyant için alternatif allel frekansı hasta grubunda %61,5, kontrol grubunda %18,8 olarak hesaplanmıştır. Aynı gen içerisinde değerlendirilen rs851990 ve rs851989 varyantlarında da gruplar arasında farklı dağılım örüntüleri gözlenmiştir.

CD44 geninde bulunan rs4756199 varyantı, kontrol grubundaki 8 bireyin 6'sında (%75), hasta grubundaki 13 bireyin ise 1'inde (%7,7) saptanmıştır. Alternatif allel frekansı kontrol grubunda %50, hasta grubunda %3,8 olarak hesaplanmıştır. Bu varyantın kontrol grubunda daha yüksek taşıyıcılık oranına sahip olması, gruplar arasında ters yönlü bir dağılım farklılığına işaret etmektedir.

CALCA geninde yer alan rs5242, rs1496166 ve rs9667612 varyantlarının her biri, osteoporoz grubundaki 13 bireyin 9'unda (%69,2), kontrol grubundaki 8 bireyin ise 1'inde (%12,5) saptanmıştır. Her üç varyant için hasta ve kontrol grupları arasındaki taşıyıcılık oranı farkı 56,7 yüzde puan olarak hesaplanmıştır. İki yönlü Fisher'ın kesin testi sonucunda ham p-değeri 0,0237 olarak bulunmuş, ancak tüm varyant kayıtları üzerinden gerçekleştirilen Benjamini-Hochberg düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılık korunmamıştır (q=1,00). Bu nedenle söz konusu varyantlar, osteoporozla doğrulanmış genetik ilişkiler olarak değil, keşifsel değerlendirmede önceliklendirilen adaylar olarak ele alınmıştır.

COPB2 geninde yer alan rs10935322 ve rs11717119 varyantları, hasta grubunun tamamında (%100), kontrol grubunun ise %50'sinde bildirilen taşıyıcılık dağılımlarıyla dikkat çekmiştir. Bu gözlemler, hasta ve kontrol grupları arasındaki betimsel farklılıkları göstermekte olup, tek başına osteoporozla istatistiksel olarak doğrulanmış bir ilişkiyi ortaya koymamaktadır.

SOST geninde yer alan rs1234612 varyantında alternatif allel açısından homozigot genotip hasta grubundaki 13 bireyin 7'sinde (%53,8) gözlenirken kontrol grubundaki 8 bireyin hiçbirinde saptanmamıştır. Bununla birlikte, toplam varyant taşıyıcılığı hasta grubunda 12/13 (%92,3), kontrol grubunda 6/8 (%75) olarak belirlenmiştir. Taşıyıcılık oranları arasındaki fark, çalışmada kullanılan 50 yüzde puanlık önceliklendirme eşiğini karşılamamıştır. Dolayısıyla bu varyant, 114 kayıtlık

önceliklendirilmiş varyant listesine dahil edilmemiş ve genotip dağılımına ilişkin ayrı bir keşifsel gözlem olarak değerlendirilmiştir. Önceliklendirilen 114 varyant kaydına ait genotip dağılımları, taşıyıcılık oranları, alternatif allel frekansları ve istatistiksel karşılaştırma sonuçları Ek Tablo 1'de sunulmuştur. Bulgular, çalışmanın sınırlı örneklem büyüklüğü ve keşifsel tasarımı dikkate alınarak yorumlanmıştır.

Tartışma

Bu çalışmada, osteoporoz tanısı bulunan 13 kadın birey ile 8 kontrol bireyinden elde edilen verileri, osteoporozla ilişkili 70 aday gen kapsamında değerlendirilmiştir. İncelenen 22.787 varyant kaydı arasından, hasta ve kontrol grupları arasında en az 50 yüzde puanlık taşıyıcılık farkı gösteren 114 kayıt keşifsel olarak önceliklendirilmiştir. Özellikle *COPB2, CDH4, CALCA, CD44* ve *ESR1* genlerinde belirgin taşıyıcılık dağılımı farklılıkları gözlenmiştir. Bununla birlikte, çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılık sınırını karşılayan bir varyant saptanmamıştır. Bu nedenle elde edilen bulgular, osteoporozla doğrulanmış genetik ilişkiler olarak değil, gelecekteki araştırmalar için hipotez oluşturucu gözlemler olarak değerlendirilmelidir.

Osteoporozun patogenezinde genetik faktörlerin önemli rol oynadığı, aile ve ikiz çalışmaları ile genom çapında ilişkilendirme araştırmalarında gösterilmiştir. KMY ve kırık riskine ilişkin genetik çalışmalar, *LRP5, SOST* ve *ESR1* gibi kemik metabolizmasının düzenlenmesinde görev alan genlerin yanı sıra çok sayıda farklı biyolojik yolakla ilişkili lokusları ortaya koymuştur (4,5,11,12). Bununla birlikte, osteoporozun poligenik ve multifaktöriyel yapısı, tekil varyantların etkilerinin değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Bu çalışmada *CDH4* geninde, özellikle rs12626162 varyantı başta olmak üzere, bazı varyantların hasta grubunda daha yüksek taşıyıcılık oranları gösterdiği gözlenmiştir. *CDH4*, kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyonunda görev alan kaderin ailesinin bir üyesidir. Hücresel adezyon mekanizmalarının kemik dokusunun yeniden şekillenmesindeki biyolojik önemi dikkate alındığında, bu genin araştırılması anlamlı bir biyolojik gerekçeye sahip olabilir. Ancak *CDH4* geninin genel hücresel işlevi, bu çalışmada belirlenen varyantların osteoblast veya osteoklast fonksiyonlarını doğrudan etkilediğini göstermemektedir. Bu ilişkinin değerlendirilebilmesi için varyant düzeyinde fonksiyonel çalışmalar ve bağımsız genetik doğrulamalar gereklidir.

Östrojen reseptör alfa proteinini kodlayan *ESR1* geni, kemik metabolizmasının hormonal düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Önceki araştırmalarda *ESR1* polimorfizmleri ile KMY ve kırık riski arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir (13-15). Mevcut çalışmada rs851991, rs851990 ve rs851989 varyantlarının hasta ve kontrol grupları arasında farklı taşıyıcılık örüntüleri gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, örneklem büyüklüğünün sınırlı olması ve çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılığın korunmaması nedeniyle bu bulguların osteoporoz yatkınlığına ilişkin bağımsız bir kanıt oluşturduğu ileri sürülemez. Osteoporozun patogenezinde genetik yatkınlığın yanı sıra bağırsak mikrobiyotası ve metabolik mekanizmaların da rol oynayabileceği gösterilmiştir. Deneysel çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasının kemik kütlesinin düzenlenmesi, östrojen eksikliğine bağlı kemik kaybı ve bütirat aracılı kemik oluşumu üzerindeki etkilerini ortaya koymuştur (16-18). Bununla birlikte, mevcut çalışmada bu mekanizmalar doğrudan değerlendirilmemiştir.

CD44 geninde gözlenen dağılım farklılığı, diğer bazı aday genlerden farklı olarak kontrol grubunda daha yüksek taşıyıcılık oranı göstermesi bakımından dikkat çekmektedir. *CD44* proteininin hücre dışı matriks etkileşimleri ve osteoklastların hücresel işlevleriyle ilişkisi daha önce araştırılmıştır (19,20). Ancak kontrol grubunda daha sık gözlenen bir varyantın doğrudan koruyucu etkiye sahip olduğu sonucuna varılamaz. Bu dağılım, örneklem büyüklüğü, popülasyon yapısı, genetik bağlantı örüntüleri veya rastlantısal farklılıklardan etkilenmiş olabilir.

CALCA geni, kalsitonin ve ilişkili peptitlerin biyolojik süreçleriyle bağlantılıdır. Kalsitonin sinyalinin kemik metabolizması ve kalsiyum homeostazındaki rolü daha önce incelenmiştir (21,22). Bu çalışmada *CALCA* genindeki bazı varyantların hasta grubunda daha yüksek taşıyıcılık oranları gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, genin bilinen fizyolojik işlevinden hareketle incelenen varyantların kalsiyum metabolizmasını değiştirdiği sonucuna ulaşmak mümkün değildir. Varyantların olası etkilerinin değerlendirilmesi için genomik konumlarının, fonksiyonel anotasyonlarının ve gerektiğinde deneysel sonuçlarının birlikte incelenmesi gerekmektedir.

COPB2 geninde birden fazla varyantın gruplar arasında belirgin taşıyıcılık farklılığı göstermesi, bu genin önceliklendirilmiş kayıtlar arasında öne çıkmasına neden olmuştur. *COPB2*, hücre içi veziküler taşınma süreçlerinde görev alan protein kompleksleriyle ilişkilidir. Bununla birlikte, bu biyolojik işlevin osteoporoz gelişimiyle doğrudan bağlantılı olduğu mevcut verilerle gösterilememiştir. Ayrıca aynı gen içerisinde bulunan varyantların birbirleriyle bağlantı dengesizliği gösterebilmesi nedeniyle, çok sayıda varyantın aynı gende bulunması birbirinden bağımsız genetik sinyaller olarak yorumlanmamalıdır.

Kemik oluşumunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan *SOST* geni, sklerostin proteinini kodlamaktadır. Sklerostinin kemik oluşumunun baskılanmasındaki işlevi ve *SOST* genindeki bazı değişikliklerin kemik kütlesiyle ilişkisi literatürde tanımlanmıştır (23). Bu çalışmada rs1234612 varyantının alternatif homozigot genotipi hasta grubunda daha sık gözlenmiştir. Bununla birlikte, taşıyıcılık oranları arasındaki fark çalışmanın önceliklendirme ölçütünü karşılamamıştır. Bu nedenle söz konusu genotip dağılımı, resesif bir kalıtım modeli veya osteoporozla doğrulanmış ilişki olarak değerlendirilmemiştir.

Osteoporozun genetik mimarisi, kemik oluşumu ve yıkımını düzenleyen mekanizmaların yanı sıra hormonal sinyalleme, inflamatuvar süreçler ve hücresel yanıtlarla ilişkili çok sayıda biyolojik bileşeni kapsamaktadır. Bu çalışmada gözlenen dağılım farklılıkları, aday genler kapsamında ileri araştırmalar için bir başlangıç noktası sağlayabilir. Bununla birlikte, varyantların yalnızca belirli genlerde bulunması veya gruplar arasında farklı oranlarda gözlenmesi, bu varyantların fonksiyonel etkilerini ya da hastalıkla nedensel ilişkilerini ortaya koymamaktadır.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Bu çalışmanın başlıca sınırlılığı, 13 osteoporoz hastası ve 8 kontrol bireyinden oluşan küçük örneklem büyüklüğüdür. Sınırlı katılımcı sayısı, gruplar arasındaki varyant dağılımlarının istatistiksel gücünü azaltmakta ve özellikle düşük frekanslı varyantların değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Ayrıca hasta grubunun tamamı kadınlardan oluşurken kontrol grubunda bir erkek bireyin bulunması, cinsiyete bağlı olası farklılıkların değerlendirilmesini sınırlandırmaktadır.

Çalışmada 70 aday gen kapsamında 22.787 varyant kaydı değerlendirilmiş ve bunlardan 114'ü gruplar arasındaki taşıyıcılık farklarına göre keşifsel olarak önceliklendirilmiştir. Ayrıca, analizlerin benzersiz varyantlar yerine varyant kayıtları üzerinden gerçekleştirilmiş olması nedeniyle, aynı varyant kimliğinin birden fazla kayıtta yer alma olasılığı dışlanamamıştır. Bu durum, bazı genetik varyantların tekrarlı değerlendirilmesine yol açabileceğinden, çoklu karşılaştırma düzeltmesinin ve elde edilen sonuçların yorumlanmasında ek bir sınırlılık oluşturmaktadır.

Önceliklendirme ölçütünün aynı örneklemdeki gözlemler üzerinden uygulanması, seçim yanlılığı ve etki büyüklüklerinin olduğundan yüksek tahmin edilmesi riskini beraberinde getirmektedir. Ayrıca çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılığını koruyan herhangi bir varyant saptanmamıştır.

Genomik değerlendirme WGS verilerine dayanmakla birlikte, karşılaştırmalı analizler önceden tanımlanan aday genlerle sınırlandırılmıştır. Bu nedenle elde edilen bulgular genom genelini temsil etmemektedir. Ayrıca aynı gen içerisinde bulunan varyantlar arasındaki olası bağlantı dengesizliği, gözlenen farklılıkların birbirinden bağımsız genetik etkiler olarak yorumlanmasını sınırlandırmaktadır.

Bireysel klinik özelliklerin ve KMY ölçümlerinin genetik verilerle birlikte değerlendirilmesi, bulguların yorumlanması açısından önem taşımaktadır. Yaş, vücut kitle indeksi, menopoz durumu ve DXA ölçümleri gibi olası karıştırıcı değişkenlerin yeterince kontrol edilememesi, genetik dağılım farklılıklarının osteoporoz fenotipiyle ilişkilendirilmesini güçleştirebilir.

Çalışmada belirlenen aday varyantların fonksiyonel etkilerini doğrulamaya yönelik deneysel analizler gerçekleştirilmemiştir. Bu nedenle sonuçlar klinik tanı, risk tahmini veya tedavi seçimine yönelik doğrudan kullanılabilir genetik belirteçler olarak değerlendirilmemelidir. Bulguların daha geniş, bağımsız ve klinik açıdan ayrıntılı karakterize edilmiş kohortlarda doğrulanması gerekmektedir.

Sonuç

Bu pilot çalışmada, osteoporozlu bireyler ile kontrol grubu arasında WGS verileri kullanılarak 70 aday gen kapsamında genetik varyasyonlar değerlendirilmiştir. Toplam 22.787 varyant kaydı arasından, taşıyıcılık oranlarında en az 50 yüzde puanlık farklılık gösteren 114 kayıt keşifsel olarak önceliklendirilmiştir.

Özellikle *COPB2, CDH4, CALCA, CD44* ve *ESR1* genlerinde gözlenen dağılım farklılıkları, osteoporozun genetik heterojenitesine ilişkin araştırılabilecek adaylar sunmuştur. Bununla birlikte, çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrasında istatistiksel anlamlılık sınırını karşılayan bir varyant belirlenmemiştir.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular osteoporozla doğrulanmış genetik ilişkilerden ziyade, ileri araştırmalarda değerlendirilebilecek hipotez oluşturucu gözlemler niteliğindedir. Aday varyantların klinik ve biyolojik öneminin ortaya konulabilmesi için daha geniş örneklemli, bağımsız doğrulama kohortlarını ve gerektiğinde fonksiyonel analizleri içeren çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışmada kullanılan genomik verilerin elde edildiği "Sağlıklı Yaşlı Popülasyonda Genom, Proteom ve Metabolom" başlıklı araştırma, Altınbaş Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 15.09.2022 tarihli, 07 sayılı toplantıda değerlendirilerek 2022/142 dosya numarası ile onaylanmıştır. Osteoporozlu bireyler ile kontrol grubunun karşılaştırılmasına yönelik araştırma protokolü ise Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 23.01.2026 tarihli, 42 numaralı karar ile onaylanmıştır.

Hasta Onayı: Araştırma, ilgili ulusal mevzuat ve Helsinki Bildirgesi ilkeleri doğrultusunda yürütülmüş olup, tüm katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Teşekkür

Bu araştırmayla ilişkili bulguların sunulduğu "Exploring Genomic, Metabolomic, and Microbiota Comparisons Between Healthy and Osteoporosis Patients: A Representative Pilot Study" başlıklı çalışma, 10-13 Nisan 2025 tarihlerinde Roma'da düzenlenen World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (WCO-IOF-ESCEO 2025) kapsamında gerçekleştirilen "ESCEO–World Health Organization (WHO)–Islene Araujo de Carvalho Prize Session" oturumunda "Certificate of Excellence" ödülüne layık görülmüştür.

Dipnot

Bu çalışmada kullanılan WGS hizmetleri, Phenome Omics Biyoteknoloji Araştırma ve Geliştirme A.Ş. (SZA OMICS) tarafından ücretsiz olarak sağlanan aynı araştırma desteği kapsamında gerçekleştirilmiştir. Araştırma ekibine şirket tarafından doğrudan finansal kaynak aktarılmamıştır. Ham dizileme verilerinin biyoinformatik analizi, varyantların yorumlanması, istatistiksel değerlendirmeler ve makalenin hazırlanması araştırma ekibi tarafından bağımsız olarak yürütülmüştür.

Yazarlık Katkıları

Konsept: Ö.Y., F.T., A.G., Z.O.U., Dizayn: Ö.Y., F.T., M.Y., A.G., Z.O.U., Veri Toplama veya İşleme: Ö.Y., F.T., M.Y., E.V., A.M., Analiz veya Yorumlama: Ö.Y., F.T., E.V., H.U.A., A.M., Z.O.U., Literatür Arama: Ö.Y., F.T., E.V., H.U.A., A.M., Z.O.U., Yazan: Ö.Y., F.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Ek Tablo 1 Link: https://d2v96fxpocvxx.cloudfront.net/a5223c9c-50f0-490d-b293-6a74c2af8d3b/content-images/f05cd7c4-252f-40da-be6a-29a55fbb9296.pdf

Kaynaklar

1. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY; Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. Osteoporos Int. 2019;30:3-44. Erratum in: Osteoporos Int. 2020;31:209. Erratum in: Osteoporos Int. 2020;31:801.
2. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). Arch Osteoporos. 2013;8:136.
3. Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis. Lancet. 2019;393:364-76.
4. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. Endocr Rev. 2010;31:629-62.
5. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. Nat Genet. 2012;44:491-501.
6. Yang Y, Gong X, Bao T. Multi-omics knowledge spectrum of osteoporosis: a bibliometric and visual analysis. Medicine (Baltimore). 2025;104:e44886.
7. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015;17:405-24.
8. Sun Y, Liu F, Fan C, Wang Y, Song L, Fang Z, et al. Characterizing sensitivity and coverage of clinical WGS as a diagnostic test for genetic disorders. BMC Med Genomics. 2021;14:102.
9. Kishikawa T, Momozawa Y, Ozeki T, Mushiroda T, Inohara H, Kamatani Y, et al. Empirical evaluation of variant calling accuracy using ultra-deep whole-genome sequencing data. Sci Rep. 2019;9:1784.
10. Song K, Li L, Zhang G. Coverage recommendation for genotyping analysis of highly heterologous species using next-generation sequencing technology. Sci Rep. 2016;6:35736.
11. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. J Clin Invest. 1987;80:706-10.
12. Rivadeneira F, Styrkársdottir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu YH, Richards JB, et al.; Genetic Factors for Osteoporosis (GEFOS) Consortium. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. Nat Genet. 2009;41:1199-206.
13. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. Endocr Rev. 2002;23:279-302.
14. Ioannidis JP, Stavrou I, Trikalinos TA, Zois C, Brandi ML, Gennari L, et al.; ER-alpha Genetics Meta-Analysis. Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. J Bone Miner Res. 2002;17:2048-60.
15. Wang KJ, Shi DQ, Sun LS, Jiang X, Lü YY, Dai J, et al. Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density: a meta-analysis. Chin Med J (Engl). 2012;125:2589-97.
16. Sjögren K, Engdahl C, Henning P, Lerner UH, Tremaroli V, Lagerquist MK, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice. J Bone Miner Res. 2012;27:1357-67.
17. Li JY, Chassaing B, Tyagi AM, Vaccaro C, Luo T, Adams J, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics. J Clin Invest. 2016;126:2049-63.
18. Tyagi AM, Yu M, Darby TM, Vaccaro C, Li JY, Owens JA, et al. The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via T regulatory cell-mediated regulation of WNT10B expression. Immunity. 2018;49:1116-31.e7.
19. Kania JR, Kehat-Stadler T, Kupfer SR. CD44 antibodies inhibit osteoclast formation. J Bone Miner Res. 1997;12:1155-64.
20. Chellaiah MA, Hruska KA. The integrin alpha(v)beta(3) and CD44 regulate the actions of osteopontin on osteoclast motility. Calcif Tissue Int. 2003;72:197-205.
21. Zaidi M, Moonga BS, Abe E. Calcitonin and bone formation: a knockout full of surprises. J Clin Invest. 2002;110:1769-71.
22. Davey RA, Turner AG, McManus JF, Chiu WS, Tjahyono F, Moore AJ, et al. Calcitonin receptor plays a physiological role to protect against hypercalcemia in mice. J Bone Miner Res. 2008;23:1182-93.
23. Balemans W, Ebeling M, Patel N, Van Hul E, Olson P, Dioszegi M, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). Hum Mol Genet. 2001;10:537-43.