

# Kemik Dokusunun Potansiyel Biyobelirteçleri

Şükran Acıpınar<sup>1</sup>

## Özet

Tıbbın tüm alanlarında, yaygın klinik hasar oluşmadan önce hastalığın varlığını gösteren, ideal biyolojik teşhis belirteçleri aranmaktadır. Biyobelirteçlerin yüksek özgüllük ve hassasiyete sahip olması ve kolay kullanılabilmesi gerekir. Kemik dokusunun biyokimyasal belirteçleri, kemik hastalıklarının tedavisini ve prognozunu değerlendirmek için kullanılmaktadır. Uzun zamandır kullanılan kemik biyobelirteçlerinin çeşitli eksik yönleri vardır. Bu nedenle, son zamanlarda kemik dokusunun biyobelirteçlerinde yeni gelişmeler sağlanmıştır. Periostin, Katepsin K, Osteoprotegrin(OPG)/ Nükleer Faktör-Kappa  $\beta$  (NF- $\text{K}\beta$ ) reseptör aktivatörü (RANK)/ NF- $\text{K}\beta$  reseptör aktivatörü ligandı (RANKL), Sklerostin, Dickkopf-1(Dkk-1), Fibroblast büyüme faktörü 23(FGF-23), mikro RNA(miRNA), salgılanmış Frizzled ilişkili proteinler(sFRP), Sfingosin-1-fosfat (S1P) potansiyel güncel kemik biyobelirteçleridir. Bu belirteçler, kemik metabolizması ile ilgili bilgileri yansıtabilir.

## 1. Giriş

Kemik, mineralize organik matriksi ile karakterize özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemik dokusunun ve yapısının bütünlüğünü korumak için osteoblast, osteoklast ve osteosit hücreleri kemik metabolizmasında görev alırlar. Kemik döngüsü; hem kortikal hem de trabeküler kemikte eski kemiğin yerini yeni kemiğin alması ile sonuçlanan, yaşam boyu devam eden bir yıkım ve tamir sürecidir. Kemik döngüsü iskeletin mekanik bütünlüğünün korunması, mikro fraktürlerin tamiri ve kalsiyum ve fosfor dengesinin düzenlenmesi için gereklidir (Bonner ve ark. 1998). Kemik dokusu bu yapım ve yıkım dengesi sayesinde, mekanik strese adaptasyon gösterir.

Osteoblastlar; kemik yapımından sorumlu, kemik matriks proteinlerini üreten ve dokunun mineralleşmesini sağlayan hücrelerdir. Osteoblast hü-

1 Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Sivas  
Orcid: 0000-0003-1711-2183, Mail: sukrnacipinar@cumhuriyet.edu.tr

releri alkalen fosfataz (ALP), parathormon (PTH), östrojen, D vitamini, büyüme hormonu (GH), transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi sistemik faktörler ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin 1 (IL-1) gibi sitokin reseptörleri aracılığı ile gelen uyarıyı algılayıp, diğer hücelere ileterek; kemiğin yeniden yapılanmasını sağlarlar (Carbonare ve Giannini, 2004).

Osteoblastlardan köken alan osteositler; matriks lamelleri arasında, her lakunada bir tane olacak şekilde yerleşim gösteren kemik hücreleridir. Bu hücreler ekstrasellüler bölgeler ve kemik matriksi arasındaki iyon alışverişi ve mekanik uyarıların iletiminden sorumludur. Ayrıca sitoplazmik uzantıları vasıtasıyla hücre bağlantıları kurup besin maddelerinin iletilmesini sağlarlar. Osteositler kemiğin hem yapımı hem de yıkımıyla ilgilidir.

Kemiği rezorbe eden çok çekirdekli dev hücreler olan osteoklastlar; monosit-makrofaj ailesinin progenitör hücrelerinden gelişirler (Maeda ve ark. 2013). Kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış Howship lakunalarında bulunurlar. Temel görevleri, kemik minerallerini çözerek ve matriksini yıkarak osteoklastogenezisi gerçekleştirmektir.

Kemik dengesini sağlamak için, osteoklastlar ile osteoblastlar arasındaki iletişimde osteoblast kökenli iki protein olan RANKL ve OPG'nin önemli rolleri vardır. Makrofaj koloni stimüle faktörü (M-CSF) ve RANKL sitokinleri osteoklastların farklılaşması ve fonksiyonlarının düzenlenmesi için gereklidir. Osteoklast öncülleri M-CSF reseptörleri ve RANK eksprese eder ve osteoblastlarla hücre-hücre etkileşimleri yoluyla RANKLı tanıyarak M-CSF varlığında osteoklastlara farklılaşır (Takahashi ve ark 2011). Osteoblastlar ayrıca RANKL için bir tuzak reseptörü olan OPG'yi üretir ve RANKL-RANK etkileşimini engelleyerek osteoklastogenezisi inhibe eder (Simonet ve ark 1997).

Kemik metabolizması birçok farklı hücresel yolak tarafından kontrol edilen fizyolojik bir süreçtir. Wingless (Wnt)/ $\beta$ -katenin sinyal iletimi ve OPG/RANKL sistemi kemik metabolizmasını etkileyen en önemli hücresel yollardır. RANKL/OPG sistemi osteoklastogenezisi, Wnt yolağı ise osteoblastogenezisi kontrol etmektedir. Bu 2 farklı biyokimyasal yolak arasındaki potansiyel bağlantılar ilgi odağı haline gelmiştir (Daoussis ve ark. 2010).

Kemik hastalıklarında, kemik metabolizması değişerek kemik kaybına ve sıklıkla mikromimarideki değişikliklere yol açar. Kemik döngüsü belirteçleri çeşitli kemik hastalıklarını ve tedavilerinin etkilerini non invaziv olarak izlemek için geliştirilmiştir. Osteoblastların ve osteoklastların enzimatik aktivitelerini veya kemik dokusunun yıkım ürünlerini yansıtan biyokimyasal belir-

teçlerin değerlendirilmesi, kemik metabolizmasını ve bu belirteçlerin kemik hastalıklarındaki rollerini araştırmak için önemlidir.

## 2. Kemik Metabolizmasının Klasik Biyokimyasal Belirteçleri

Konvansiyonel biyobelirteçler kemik yapım ve yıkım belirteçleri olarak ayrılırlar ve birçok farklı hastalıklarda bu biyokimyasal belirteçlerin yapısı, biyolojisi ve klinik kullanımı değerlendirilmiştir (Lombardi ve ark. 2012)

Kemik oluşumunun değerlendirilmesinde kullanılan belirteçler:

- Serum total osteokalsin,
- ALP'nin kemik izoenzimi (kemik ALP) ve
- Kemik dokusunun ana bileşeninin sentez hızını yansıtan tip I kollajen N ve C terminal propeptittir (PINP ve PICP).

Kemik rezorpsiyonunun değerlendirilmesinde genellikle tip I kolajenin parçalanma ürünleri saptanmaktadır. Kemik yıkım belirteçleri;

- Tip I kollajen N ve C telopeptit çapraz bağları (NTx, CTx),
- Hidroksiprolin (Hyp) ve Hidroksilizin (Hyl),
- Piridinolin (PYD) ve deoksipiridinolin (DPD),
- Tartrata dirençli asit fosfatazdır (TRAP) (Hannon ve Eastell 2003).

Bununla birlikte, kemik metabolizmasının mevcut biyokimyasal belirteçlerinin çeşitli eksik yönleri bulunmaktadır. Tip I kollajen farklı organlarda yaygın olarak dağıldığı için kemiğe yönelik doku özgüllüğünün olmaması, kemik döngüsünü düzenleyen en bol kemik hücresi olan osteositlerin aktivitesini ve periosteal apozisyonu yansıtamamaları, hastalıklar ve tedavilerden farklı şekilde etkilenmelerine rağmen farklı iskelet bölümlerinin metabolik aktivitesini ayırt edememeleri, kemik dokusu kalitesinin araştırılmasına izin vermemeleri ve tümünün protein bazlı olmaları gibi sınırlamaları vardır. Ancak bu protein bazlı belirteçlerin dolaşımdaki mRNA halleri erken biyobelirteçler olarak değerli olabilir (Chapurlat ve Confavreux, 2016).

Son yıllarda artan özgüllük ve duyarlılık ile mevcut limitasyonlara alternatif olarak, kemik metabolizmasının yeni biyobelirteçlerinde gelişmeler elde edilmiştir (Garnero 2014). Bu yeni belirteçler kemik metabolizmasının mekanizmalarını araştırmak, osteositlerin aktivitesini değerlendirmek ve kemik ile ilgili hastalıkların tedavisi için değerli araştırma araçları olabilir. İlerleyen dönemlerde kemik ve diğer organlar arasındaki etkileşimleri yansıtabilir.

### 3. Kemik Metabolizmasının Yeni Biyobelirteçleri

Yeni belirteçler, 6 farklı grup olarak sınıflandırılabilir.

- Matrisellüler bir protein olan Periostin,
- Osteoklastik bir enzim olan Katepsin K,
- Osteoblast ve osteoklastın düzenleyici molekülleri olan OPG/RANKL,
- Osteosit molekülleri olan Sklerostin, FGF-23,
- Mikro Rna ve
- Wnt sinyal molekülleri Dkk-1, sFRP ve S1P'dir.

#### 3.1. Periostin

Periost uzun kemikleri örten ve kemiklerin çapını ve kemik gücünü kontrol etmede rol oynayan kollajenden zengin bir membrandır. Mevcut kemik belirteçleri endosteal kemiğin yeniden şekillenmesini yansıtırken periosteal metabolizmayı yansıtmazlar (Szulc ve ark.2005). Periosteal metabolizmanın potansiyel bir belirteci olan periostin, fasciclin ailesinin üyesi matrisellüler bir proteindir (Ohta ve ark.2014). Periostin insanlarda POSTN geni tarafından kodlanmaktadır. Periostine periost ve periodontal ligamentte fazla bulunmasından dolayı bu isim verilmiştir (Horiuchi ve ark.1999).

Periostin kemik periosteal yüzeylerinde ve periodontal ligament, kalp kapakçıkları ve tendonlar gibi mekanik gerilime maruz kalan kollajen bakımından zengin dokularda eksprese edilir (Du ve Li 2017). Periostin integrinler ile etkileşerek, hücre matris etkileşimlerini, adezyon, proliferasyon, farklılaşma süreçlerini etkilemektedir ve hücre sinyal yollarının aktivasyonunu sağlamaktadır (Kudo ve ark.2007). Kollajen liflerinin üretimini etkileyerek doku onarımı ve yenilenmesini, doku gücünü, mekanik stabiliteyi artırır (Bao ve ark.2004). Periostin, kalp, akciğer, böbrek, deri, karaciğer, iskelet kası gibi çeşitli organların hastalıkları sırasında enflamasyona ve fibroze aracılık etmektedir. Hayvan çalışmasında kardiyak hipertrofi ve ventriküler romodelingde periostinin inhibisyonunun patolojilerin meydana gelmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Oka ve ark.2007). Periostin salgılanan bir protein olduğu için periferik kanda saptanabilir.

#### 3.1.1. Biyobelirteç Olarak Periostin'in Değerlendirildiği Çalışmalar

Fare modellerinde periostin, histolojik çalışmalarla değerlendirilen periosteal kemik oluşumu ile ilişkili bulunmuştur (Bonnet ve ark.2011). Kemik metabolizmasındaki işlevine ilişkin veriler, periostin eksikliği olan fare mo-

dellerinden elde edilmiştir. Periostin eksikliğinde, daha düşük kemik mineral yoğunluğu, değişen mikro mimari, azalmış kemik gücü, periodontitis ve osteoporoz meydana gelmiştir (Bonnet ve ark. 2009). Başka bir çalışmada ise eksikliği kemik materyal özelliklerini değiştirmiş ve yüklenmeye gecikmiş remodeling ve bozulmuş kallus oluşumu ile cevap vererek hasar birikimini desteklemiştir (Bonnet ve ark. 2013).

Periostin sadece kemik oluşumunun ve kemik mineral yoğunluğunun düzenlenmesinde yer almaz, aynı zamanda kollajen çapraz bağlanmasını düzenleyerek kemik kuvvetini de etkilemektedir. Periostin, tip I ve tip V kollajenler, fibronektin ve hücre yüzeyi reseptör integrinleri gibi ekstrasellüler matris (ECM) proteinleri için bağlantı bölgeleri içerir ve kollajen çapraz bağlanmasının ana düzenleyicisidir. Periostin eksik olan farelerde çapraz bağlar ve prekürsörlerinin azaldığı ve seviyelerinin kemik gücü ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir (Bonnet ve ark. 2013). Periostin, kemik dokusunda, kollajen çapraz bağlanmasını destekleyen lisil oksidaz aktivasyonunu katalize eden kemik morfojenik protein (BMP)-1 (Maruhashi ve ark. 2010) ve kemikte eksprese edilen ve mekanik uyarıyla indüklenebilen tenascin-C ile etkileşime girer (Chapurlat ve Confavreux, 2016). Periostin eksik farelerin periodontal ligamentlerinde tip I kollajen, fibronektin ve tenascin C dağılımında değişiklik görülmüş, kollajen demetlerinin organizasyonunun rastgele ve farklı yönlerde olduğu ve fibronektin ve tenascin C'nin anormal lokalizasyonu görülmüştür (Tabata ve ark.2014). Periostin seviyeleri kemik ve bağ doku hasarı sonrası doku tamiri ve remodelasyonunu sağlamak amacıyla artar (Nakazawa ve ark.2004).

Periostin eksik farelerde, kuvvetsiz kemikler, bozulmuş kartilagenöz büyüme plakaları, sınırlı bir trabeküler ağ ve dwarfizm gözlenmiş ve periostin yokluğu, değişmiş süngerimsi ve kortikal kemik mikromimarisine ve daha düşük kemik mineral yoğunluğuna neden olmuştur (Bonnet ve ark. 2009). Kortikal mikromimarideki bu eksiklikler, kemik yüzeyi başına osteoblast ve osteoklast sayısında herhangi bir önemli fark olmaksızın, azalmış kemik kuvveti ve döngüsü ile ilişkilendirilmiştir. Fare çalışmasında periostin yokluğu şiddetli alveoler kemik kaybı, eksternal kök rezorpsiyonu, periodontal ligamentte genişlemeye yol açmıştır (Ríos ve ark.2008). Periostin osteoloji, doku tamiri, onkoloji, kardiyovasküler, respiratuvar sistem ve çeşitli enflamatuvar durumlarda fonksiyon göstermektedir (Nishiyama ve ark.2011, Masuoka ve ark.2012).

Matriks metalloproteinaz (MMP) sağlık ve hastalık durumunda ECM'deki kollajen ve proteoglikanları yıkmaktan sorumlu proeinazdır. Bazı hücrelerde periostinin, MMP ekspresyonunu uyardığı bilinmektedir (Attur ve

ark.2015). Osteoartrit ile ilişkili sinovial hücrelerde periostin stümülyasyonu-na bağılı MMP-2 ve MMP-3'ün arttığı ve osteoartritin klinik durumlarının kötüleşmesine periostinin katkı sağladığı bildirilmiştir (Tajika ve ark.2017).

### 3.1.2.Periodontal Çalışmalar

Fare modelinde periostin eksikliği, periodontal hastalık benzeri bir fenotip, keser dişlerde genişlemiş periodontal ligament, alveolar kemik hasarı, artmış osteoklastik aktivite ve anormal kemik döngüsüne neden olmuştur (Rios, ve ark.2005). Kronik ve agresif periodontitis vakalarında dişeti oluğu sıvısında (DOS) periostin seviyesinin değerlendirildiği bir çalışmada agresif periodontitis grubunda periostin seviyesinin en düşük, kronik periodontitis grubunda ise sağlıklı duruma göre düşük olduğu bildirilmiştir (Aral ve ark. 2016). Benzer şekilde sağlıklı periodonsiyum, gingivitis ve kronik periodontitis vakalarında, DOS periostin seviyesi araştırılmış ve kronik periodontitis grubunda diğer gruplara kıyasla daha düşük olduğu, hastalık veya enflamasyon şiddeti arttıkça total periostin miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Balli ve ark.2015). Ligatür yöntemi ile periodontitis oluşturulan deneysel bir rat çalışmasında, alveol kemik kaybı ile periostin seviyesinde azalma ilişkili bulunmuştur (Padial-Molina ve ark. 2012). Başka bir klinik çalışmada periodontitisli bireylerde periodontal cerrahi uygulanmış, DOS periostin seviyesinin cerrahi sonrası iyileşme döneminde periodontitis hastalarında daha belirgin olarak zamanla arttığını bildirilmiştir (Padial-Molina ve ark. 2015).

Potansiyel olarak periosteal metabolizmanın aktivitesini ortaya koyan bir belirteç olan periostinin klinik faydasını değerlendirmek için ek klinik verilere ihtiyaç vardır.

### 3.2. Katepsin K

Osteoklastik aktivitenin potansiyel belirteci olan katepsin K, osteoklastlar tarafından eksprese edilen, sistein proteaz ailesinin üyesi katalitik enzimlerden biridir. Kemik remodelasyonunda ve yıkımında rol oynar. Kemik tip I kollajenin yıkımında görev alır bu nedenle yıkım belirteçlerinden tip I C terminal çapraz bağılı telopeptid (CTX-1) düzeyleri katepsin K aktivitesini yansıtır. Olgun osteoklastlar, kemik yüzeyine atışman sonucu olarak, ekstraselüler lizozomal bölme oluşturur. Osteoklastlar lizozomal bölmeyi asitleştirir ve katepsin-K, MMP-9 gibi proteazlar açığa çıkar (Teitelbaum 2000).

Katepsin K, lizozomlarda aktive olan ve daha sonra rezorpsiyon lakunalarına salınan bir prokatepsin K olarak sentezlenir (Bossard ve ark.1996), sonrasında osteoklastlar, katepsin-K'nın aktif formunu açığa çıkarır (Dodds ve ark. 2001). Aktif katepsin-K ve H<sup>+</sup> iyonları kemik rezorpsiyonunu başlatır.

H<sup>+</sup> iyonları, kemik matriksinin mineral bileşenini çözmek için, rezorpsiyon bölgesini asidik pH'a çevirirken; katepsin-K, protein içerikli kemik matriksi sindirir (Boyle ve ark. 2003). Ayrıca fazla RANKL üretimi, osteoklast formasyonuna ve katepsin-K üretimine yol açarak ilgili bölgede rezorpsiyona katkıda bulunur (Mogi ve Ootogoto 2007). Bu nedenle katepsin K, aktif kemik rezorpsiyonu ve osteoklast aktivitesinin bir belirteci olabilir.

### 3.2.1. Biyobelirteç Olarak Katepsin K'nin Değerlendirildiği Çalışmalar

Katepsin K yüksekliği, romatoid artrit (Skoumal ve ark.2005), ankilozan spondilit (Wendling ve ark.2008), osteoporoz ve Paget hastalığında (Meier ve ark. 2006) serumda değerlendirilerek gösterilmiştir. Katepsin K artan seviyelerin ayrıca postmenopozal kadınlarda daha yüksek kemik kaybı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Prezelj ve ark. 2008). Katepsin K inhibisyonunun osteoartrit hayvan deneyi modelinde kırıldak yıkımını azalttığı gösterilmiştir (Hayami ve ark. 2012).

### 3.2.2. Periodontal Çalışmalar

Katepsin-K periodontal/peri-implant alveoler kemik yıkımını takip etmek için kullanılabilir bir biyokimyasal bir parametredir (Yamalık ve ark. 2012). Osteoklast progenitörlerinde katepsin-K eksikliği, osteoklast farklılaşmasını etkilememiştir fakat, olgun osteoklastları rezorbe olan kemikten engellediği belirtilmiştir. Bu katepsin-K'nın bozulmuş kemik rezorpsiyonu ile ilişkisine işaret etmektedir (Lotinin ve ark. 2013). Katepsin-K'nın, implantı destekleyen kemik kaybının doğru bir biyobelirteci olduğu, erken osteoklastogenez ve peri-implantitisin başlangıcı hakkında sinyal verebileceği vurgulanmıştır (Yamalık ve ark 2011). Başka bir çalışmada artan RANKL düzeyi, OPG/RANKL oranı ve katepsin-K düzeyleri, periodontal enflamasyon ve hastalık aktivitesi ile şiddetinin göstergeleri olarak kabul edilmiştir (Rakic ve ark 2014).

Katepsin K, osteoklastlardan aktif kemik yıkımı sırasında salınır, bu nedenle osteoklast aktivitesini erken dönemde yansıtan spesifik ve yararlı bir belirleyici olabilir.

### 3.3. RANK/ RANKL /OPG

Osteoklast aracılı kemik rezorpsiyon yolağı, RANKL, RANK ve OPG'yi içeren TNF süper ailesinin etkileşimi ile ilişkilidir (Theoleyre ve ark 2004). RANKL ve OPG, kemik homeostazına katkıda bulunan, kemik remodelasyonunu yansıtan ve üzerinde çalışılan biyobelirteçlerdir (Barros ve ark.2000).



RANK, monosit/makrofaj sisteminde bulunan, osteoklastlar ve osteoklast öncü hücreleri tarafından eksprese edilen bir hücre yüzeyi reseptörüdür (Hofbauer ve Heufelder 2001). Transmembran proteini olan RANK; osteoklastların sayıca artması, pro-rezorptif sitokinlerin salınımı ve kalsiyum metabolizmasını etkileyen çeşitli hormonların uyarımı açısından önem taşımaktadır (Nakashima ve ark. 2000). Osteoklastojenez ve kalsiyum metabolizmasını kontrol eden bu reseptör; pre-osteoklastlara RANKL'ın bağlanmasını sağlayan tek reseptördür. RANK-RANKL etkileşimi ile osteoklast progenitörlerin farklılaşmasına yol açılır ve uygun osteoklast aktivitesi artırılır (Liu ve ark 2010).

RANKL, TNF ailesine bağlı çözümlü bir membran proteinidir ve kemik rezorpsiyonunun başlıca mediyatörüdür. Osteoblastlar, osteositler, fibroblastlar ve lenfositlerden eksprese edilen güçlü bir osteoklastojenik faktördür (Ikeda ve ark. 2001). RANKL osteoklastik öncü hücrelerinden salınan RANK'a bağlanarak (Udagawa ve ark. 1990) osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu uyarır (Liu ve ark. 2010). RANKL osteoklast oluşumunu, kemik yüzeyine tutunmasını ve apoptozunun inhibisyonunu sağlayarak kemik rezorpsiyonunu artırır (Taylor ve ark. 2013). RANKL, T hücre aktivasyonunu düzenleyerek ve dendritik hücrelerin aktivitelerini arttırarak immün-modülatör fonksiyonlar da sağlamaktadır (Belibasakis ve Bostanci 2012). Ayrıca RANKL'ın salınımı, kemik metabolizmasının diğer modülatörleri (PTH, D vitamini ve IL-11) tarafından düzenlenir (Lacey ve ark. 1998, Matsuzaki ve ark .1998). TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi bir dizi prorezorptif sitokin, RANKL ekspresyonunu arttırır (Hofbauer ve ark 1999a).

OPG, başlangıçta 401 amino asit olarak sentezlenir, sonra 21 amino asitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra 380 amino asitlik olgun protein oluşur ve çözümlü bir glikoprotein olarak salgılanır. OPG, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNF-R) süper ailesinin bir üyesidir, diğer üyelerden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez. Kemik iliği stromal hücrelerinden, osteoblastlar ve osteositlerden sentezlenir (Baud'huin ve ark. 2013). OPG, RANKL'ın tuzak reseptörü ve doğal inhibitördür. OPG, RANKL'a bağlanarak, başka bir deyişle, RANKL'ın RANK ile bağlanmasını önleyerek, osteoklastojenez ve kemik rezorpsiyonunu baskılar (Redlich ve ark. 2002). Hipokalsemik ve anti-resorptif etkilidir. OPG'nin sentezi, osteoblastik kemik oluşumunu da düzenleyen Wnt/ $\beta$ -katenin sinyali ile de düzenlenmektedir (Boyce ve ark. 2005). OPG ekspresyonu kemik homeostazında etkili TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 gibi birçok sitokin, peptid, hormon ve ilaç tarafından pozitif veya negatif yönde regüle edilebilir (Baud'huin ve ark. 2013).



### 3.3.1. Biyobelirteç Olarak RANK/RANKL/OPG'nin Değerlendirildiği Çalışmalar

RANKL/OPG sisteminin vasküler kalsifikasyon ve insülin direnci sürecini etkilediği ve kardiyovasküler hastalık ve tip 2 diyabet ile bağlantılı olabileceği gösterilmiştir (Grigoropoulou ve ark. 2011; Ndip ve ark. 2014). Tip 2 diyabetli bireylerde serum OPG düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu ve RANKL düzeylerinin ise önemli ölçüde daha az olduğu bildirilmiştir (Secchiero ve ark. 2006; Gaudio ve ark. 2014).

### 3.3.2. Periodontal Çalışmalar

Periodontal hastalıkta RANKL ve OPG'nin rolünü araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, periodontitisli bölgelerde periodontal sağlıklı bölgelere göre RANKL konsantrasyonlarının yüksek olduğu gösterilmiştir (Crotti ve ark. 2003, Mogi ve ark. 2004). Yapılan çalışmalarda, periodontitiste artmış RANKL ve azalmış OPG seviyeleri ile periodontal hastalık aktivitesinin ya da şiddetinin bir göstergesi olarak periodontitisli hastaların DOS'unda yüksek RANKL/OPG oranları saptanmıştır (Ballı ve ark. 2015a, Mogi ve ark. 2004, Bostancı ve ark. 2007, Lu ve ark. 2006). Bu artış, RANK'taki artışa veya OPG'deki azalmaya, ya da her ikisine birden bağlı olabilir (Bartold ve ark. 2010). Periodontitisli dokulardaki RANKL salınımı olan bölgelerde, RANKL salınımı olmayan bölgelere göre daha derin periodontal cepler tespit edilmiştir (Wan ve ark. 2009). Başka çalışmada, şiddetli periodontitis grubundaki RANKL mRNA düzeylerinin, orta şiddetli periodontitis ve periodontal olarak sağlıklı gruplara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır (Nagasawa ve ark. 2002). Periodontal hastalığın DOS RANKL, OPG ve RANKL/OPG seviyelerine etkisini araştıran bir çalışma periodontitisli bireylerde RANKL düzeylerinin arttığını, RANKL/OPG oranının periodontitis grubunda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Wara-aswapati ve ark. 2007). Cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası DOS 'ta RANKL/OPG oranı değerlendirildiğinde, tedavi sonrası 4.haftada RANKL miktarının değişmediği, OPG miktarının ise azaldığı bildirilmiştir (Buduneli ve ark. 2009). Diyabeti olan ve olmayan periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedavinin serum RANKL, OPG ve RANKL/OPG seviyelerindeki değişimi araştırıldığında, periodontal tedavi sonrası diyabetli grupta OPG seviyesinin yükseldiği, RANKL ve RANKL/OPG seviyelerinin azalmadığı rapor edilmiştir (Xu ve ark. 2016). RANKL/OPG oranının tedavi edilmiş periodontitis için potansiyel bir tanısal değeri olsa da klinik olarak başarılı tedavi sonucunun uygun bir prediktörü olmadığı düşünülmektedir (Buduneli ve ark. 2009).

Kemik yapımı ve yıkımı arasındaki mekanizmaların açıklığa kavuşturulması, kemik dokusunu ilgilendiren hastalıkları anlamada ve yönetmede önemlidir. RANK, RANKL, OPG gibi osteoklastik ve osteoblastik farklılaşma ve aktivite düzenleyicilerinin ölçümlerinin, kemik metabolizmasının değerlendirilmesinde yararlı olduğu düşünülmektedir.

### **Wnt Sinyal Yolağı**

Wnt sinyal yolağı kemik de dâhil olmak üzere birçok doku ve organ gelişiminde önemli olup dokuların embriyogenezi, organogenezi, postnatal gelişimi ve rejenerasyonu için gereklidir. Wnt proteinleri, hücre proliferasyonu, farklılaşması, göçü ve apoptoz dahil olmak üzere temel gelişimsel ve fizyolojik süreçleri düzenleyen glikoproteinlerdir (Foulquier ve ark. 2018, Nusse ve Clevers 2017). Wnt sinyalizasyonu özellikle kemik homeostazı için önemlidir, osteoblastik hücrelerin farklılaşmasında ve aktivitesinde çok önemli bir rol oynar (Krishnan ve ark. 2006; PETERS ve ark. 2008). Wnt sinyali çok sayıda ligand, reseptör ve koreseptör ile oluşur. Wnt moleküllerinin birincil reseptörleri olan Frizzled ile ilgili proteinler (FRP), koreseptör olan düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein 5/6 (LRP5/6) ile etkileşir (Wend ve ark. 2010). Salgılanmış FRP ile ilişkili proteinler (sFRP) ve Dickkopf (Dkk) 1 gibi farklı salgılanan proteinler, ligand-reseptör etkileşimlerini önler ve sinyal yolunu inhibe eder. İnsanlarda ve farelerde 19 adet Wnt proteini tanımlanmıştır. Wnt proteinleri,  $\beta$ -katenin düzeylerini etkileme-etkilememe özelliğine göre “kanonik” ve kanonik olmayan proteinler olarak sınıflandırılmıştır. Kanonik olmayan Wnt yolağı; planar hüce polarite yolağı, kalsiyum yolağı, Src ve JNK yolağı gibi sinyal iletim yollarını içerir (Luke ve ark.2009). Kanonik yol olarak adlandırılan Wnt/ $\beta$ -katenin yolu, osteoblast proliferasyonunun ve kemik oluşumunun düzenlenmesinde kritik önem taşımaktadır (Qiang ve ark. 2010). Wnt/ $\beta$ -katenin sinyali, OPG/RANKL oranını artırarak osteoklastların farklılaşmasını da inhibe eder ve kemik rezorpsiyonunu azaltabilir (Krishnan ve ark. 2006).

Wnt/ $\beta$ 1 katenin sinyal yolağı aktivasyonunun kontrolü, ECM’de bulunan çeşitli inhibitör moleküllerin Wnt proteinlerinin Frizzled/LRP reseptör kompleksine bağlanmasını önlemesi ile gerçekleştirilir. Wnt/ $\beta$ -katenin sinyalinin kemik oluşumu üzerindeki fonksiyonu, sklerostin, Dkk-1 ve sFRP ‘yi içeren antagonistler ile düzenlenir.

### **3.4. Sklerostin**

Osteositler, mineralize bir matris içine gömülmüş terminal olarak farklılaşmış hücrelerdir ve osteoklastik ve osteoblastik aktivite arasındaki dengeyi

düzenleyen doğal modülatörlerdir. Bu hücreler, mikro fraktürleri algılayarak şekillenme sürecinin düzenlenmesine katılan bir kanalikül ağı içerir. Bu mekanizma, kemik dokusunu optimal biyokimyasal yapıya sahip yeni bir kollajen matrisiyle değiştirmek için önemlidir. Osteositler, osteoblast aktivitesini inhibe eden ve apoptozu teşvik eden sklerostini salgılayarak yeniden şekillenme döngüsünün sonlandırılmasına, kemik homeostazını moleküler düzeyde düzenlenmesine katılır. Sklerostin, olgun osteositlerin bir belirtecidir. Osteositlerde sklerostin sentezlenmesinin ve serum seviyelerindeki artışın en önemli düzenleyicisi kemik üzerindeki mekanik kuvvetlerdir (Rossini ve ark. 2013). Mekanik uyarıya duyarlı olan osteositler, osteoblastik ve osteoklastik aktiviteyi düzenlerler (Smit ve Burger 2000; Smit ve ark. 2002).

Sklerostin, SOST geni tarafından kodlanan, osteositler tarafından sentezlenen, osteoblastogenezisi ve osteoblast farklılaşmasını sağlayan Wnt proteinleri ve reseptörleri arasındaki iletişimi etkileyerek Wnt/ $\beta$ -katenin sinyalizasyonunu baskılayan bir 22 kDa'lık bir glikoproteindir (Van Bezooijen ve ark. 2004, Sebastian ve Loots 2017). SOST mRNA'nın embriyogenez sırasında birçok dokuda eksprese edilmesine rağmen, sklerostin proteini doğum sonrası sadece osteositler, mineralize hipertrofik kondrositler ve sementositlerde rapor edilmiştir (Garnero ve ark. 2014). Ayrıca SOST, RANKL ile aktive edilebilir, osteoklast farklılaşmasını ve kemik rezorpsiyonunu teşvik edebilir (Wijenayaka ve ark. 2011). Sklerostinin başlarda kemik morfojenetik proteinlerinin (BMP) etkisini antagonize ederek kemik döngüsünü kemik yıkımı yönüne değiştirdiği (Harada ve Rodan 2003) düşünülse de sonradan esas inhibe edici etkisinin Wnt sinyalizasyonu üzerinden olduğu belirlenmiştir (Van Bezooijen ve ark. 2007). Sklerostin, osteoblast hücre zarındaki LRP5 ve 6'ya bağlanarak kanonik Wnt/ $\beta$ -katenin sinyalini inhibe eder ve kemik oluşumunu azaltır (Winkler ve ark. 2003, Hienz ve ark. 2015; Sebastian ve Loots 2017). Sklerostin ayrıca osteoblastlarla etkileşime girerek ve osteosit türevli RANKL'nin sekresyonunu uyarak doğrudan osteoklast aktivitesini de arttırmaktadır (Wijenayaka ve ark. 2011).

### **3.4.1. Biyobelirteç Olarak Sklerostin'in Değerlendirildiği Çalışmalar:**

Sklerostin eksikliğinin yüksek kemik yoğunluğu / osteoskleroz ile karakterize olan sklerosteoz ve van Buchem hastalıklarına yol açtığı bilinmektedir (Silverman 2010). Sklerosteozu açan genetik kusur, SOST adı verilen bir gende tanımlanmıştır. SOST'u inhibe etmek kemik oluşumunu, kemik kütlesini ve kemik yoğunluğunu artırır. İn vivo fare deneyinde SOST geni nakavt edildiğinde, sklerostin baskılanmış ve kemik mineral yoğunluğu, kortikal ve trabeküler kemik hacmi, kemik oluşum hızı ve kemik dayanımında

artışlar bildirilmiştir (Li ve ark. 2008). Serum sklerostin, romatoid artrit hastalarında vasküler kalsifikasyon ile ilişkilidir (Paccou ve ark. 2014). Sklerostin ekspresyonu sitokinler, mekanosensörler ve endokrin faktörler tarafından düzenlenir (Compton ve Lee 2014). Enflamatuvar yanıtta TNF-a sklerostinin salınımını uyarır (Wendling ve Claudepierre 2013). Sklerostin diyabetin metabolizmasında da rol oynamaktadır. Tip 2 diyabetli hastaların dolaşımında sklerostin artışı olduğu, diyabeti olan ve olmayan bireylerde sklerostin seviyelerini araştırıldığında, diyabetli grubun sklerostin seviyesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Yamamoto ve ark. 2013).

Sklerostin, fare ve insan osteoblastik hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu inhibe eder ve ayrıca sklerostin varlığında osteoblast apoptozisini indüklemektedir (Van Bezooijen ve ark. 2004). Hayvan deneylerinde anti-sklerostin antikoru uygulanması, trabeküler, periosteal, endokortikal ve intrakortikal yüzeylerde artmış kemik kütlesi ve gücü ile ilişkilendirilmiştir (Li ve ark. 2009). Anti-sklerostin monoklonal antikoru, kemik metabolizması üzerinde kemik mineral yoğunluğunda ve kemik oluşumunda belirgin artış ile kemik yıkımında azalmanın gözlemlendiği anabolik bir etkiye sahiptir (Recker ve ark. 2015). Sklerostin yaşla birlikte lineer bir artış gösterir ve bu durum, artan sklerostin üretiminin, yaşa bağlı kemik oluşumundaki bozulmayla ilişkili olduğu verilerini desteklemektedir (Ardawi ve ark. 2011). Serum sklerostin seviyesi yaşlı bireylerde tüm vücut kemik mineral yoğunluğu ile pozitif ilişkili bulunmuştur (Mödder ve ark.2011). Dolaşımdaki sklerostin seviyeleri ile yağ kütlesi arasında pozitif bir ilişki postmenapozal kadınlarda belirlenmiştir (Sheng ve ark. 2012). Sklerostinin kırık riski ile ilişkisi araştırılmış ve en yüksek çeyrekte sklerostin bulunan hastaların, en düşük çeyrekte yer alanlara göre daha yüksek kalça kırığı riskine sahip olduğu gösterilmiştir ancak risk oranı, yaş, vücut kitle indeksi, önceki kırık durumu ve östrojen kullanımı için düzeltme yapıldıktan sonra anlamlı bulunmamıştır (Arasu ve ark.2012). Karşılaştırmalı etkinlik ve sonuç araştırmasında (CEOR) başlangıç sklerostin düzeyi en yüksek çeyrekte olan kadınların, kemik mineral yoğunluğu ve diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak en düşük çeyrekte yer alan kadınlara kıyasla tüm kırık risklerinde 15 kat artış olduğu gösterilmiştir (Ardawi ve ark. 2012). Mekanizmalar tam anlaşılmamış olmasına rağmen sklerostinin bifosfonat tedavisi sırasında gözlenen kemik oluşumunun inhibisyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (Garnero ve ark. 2014).

### **3.4.2.Periodontal Çalışmalar**

Periodontitis modellerinde SOST geninin veya fonksiyonunun blokajının kemik defektlerini onarabildiği rapor edilmiştir (Ren ve ark. 2015). Perio-

dontitisli bireylerin diş eti dokusu ve serumlarındaki sklerostin seviyelerinin, periodontitis olmayan bireylerden yüksek olduğu gösterilmiştir (Napimoga ve ark. 2014). Benzer şekilde periodontitisli bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla DOS'ta sklerostinin daha yüksek seviyelerde olduğu çok sayıda çalışmada belirtilmiştir (Ballı ve ark. 2015; Esfahrood ve ark. 2018, Chatzopoulos ve ark. 2019). Başka bir çalışmada periodontitisli bireylerin DOS sklerostin seviyelerini periodontal sağlıklı bireyler ile benzer bulunmuştur (Yakar ve ark. 2019). Periodontitisli bireylerdeki yüksek DOS sklerostin seviyeleri cerrahisiz periodontal tedaviden sonra azalmıştır (Ballı ve ark. 2015). Cerrahisiz periodontal tedavinin, tükürükteki sklerostin seviyeleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada ise sklerostin seviyelerinin tedaviden sonra değişmediği bildirilmiştir (Beiler ve ark. 2020). TNF- $\alpha$ 'nın sklerostin salınımını indüklediği ve bunun diyabetli hastalarda periodontal kemik yıkımının şiddetinin artmasında rolü olabileceği düşünülmektedir (Baek ve ark. 2014). Diyabeti olan ve olmayan periodontitisli ratların DOS'daki sklerostin seviyelerini incelendiğinde ve SOST- pozitif osteosit sayısı, periodontitisli diyabetik ratlarda, diyabetik olmayan kontrollerden daha yüksek olduğu ayrıca SOST geninin ekspresyonunun arttığı rapor edilmiştir (Taut ve ark. 2013). Aynı çalışmada lokal olarak sklerostin uygulanan deneysel periodontitis modelinde, kemik hacminde kısıtlı bir rejeneratif etki belirlenirken, sklerostin subkutan verildiğinde daha etkili bir şekilde kemik iyileştirdiği gösterilmiştir. Diyabet ve sigara içmenin periodontitisli hastalarda DOS ve serumda sklerostin, Dkk-1, TNF- $\alpha$  seviyelerine etkisini araştırılmış ve diyabetin sigaradan bağımsız olarak periodontitisli bireylerde sklerostin seviyesini artırdığı bildirilmiştir (Miranda ve ark. 2018). Deneysel periodontitis modelinde, basılanmış kemik yapımı sklerostin ekspresyonunun artması ile ilişkili bulunmuş ve alveoler kemik kayıplarının, artmış RANKL ve sklerostin ekspresyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Kim ve ark. 2014). Peri-implantitisli bireylerde peri-implant sağlık ile karşılaştırıldığında peri-implant oluk sıvılarında daha yüksek sklerostin seviyelerinin olduğunu bildirmiştir (Yakar ve ark. 2019).

Özet olarak, serum sklerostin, yaşla birlikte artar ve kemik mineral yoğunluğu ve kemik yapısı ile ilişkili olduğu görülmektedir. Sklerostinin daha fazla araştırılmasına ve mekanizmalarının anlaşılmasına ihtiyaç vardır.

### 3.5. DKK-1

Omurgalılarda, Dkk ailesi, büyüklükleri 255 ile 350 amino asit arasında değişen 4 üyeden oluşur. Keşiflerinden bu yana, Dkk proteinleri kanser, kemik ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirmiştir (Cruciat ve Niehrs 2013). Wnt/ $\beta$ -katenin yolu kemik dokusu için önemlidir. Wnt proteinlerinin

hücre farklılaşması, gelişme, büyüme ve apoptoz gibi işlevleri bulunmaktadır ve bu yolak birçok dokunun ve organın gelişiminde ve idamesinde rol oynar (Pandur ve ark.2002). Wnt yolağındaki anahtar antagonistlerden biri Dkk-1'dir. Dkk-1, kanonik  $\beta$ -katenin bağımlı Wnt yolunun inhibitörü olarak kapsamlı şekilde karakterize edilen salgılanmış bir glikoproteindir (Niehrs 2006), direkt Wnt'ye bağlanmaz, Wnt'nin ilişki kurduğu koreseptör olan LRP5/6'ya bağlanarak Wnt sinyalinin inhibe eder (Wend ve ark.2010). Dkk-1 öncelikle osteoblastları etkileyerek kemik oluşumunu önlemektedir; fakat Dkk-1'in RANKL üretimini artırarak ve OPG seviyelerini azaltarak kemik rezorpsiyonunda görev aldığı, RANKL/OPG oranını kemik rezorpsiyonu yönüne kaydırıldığı romatoid artrit, talasemi ve multipl myelom gibi farklı kemik hastalıklarında bildirilmiştir (Qiang ve ark.2008, Diarra ve ark.2007).

### **3.5.1. Biyobelirteç Olarak Dkk-1'in Değerlendirildiği Çalışmalar**

Dkk-1 moleküllerindeki değişiklikler, osteoporoz, artrit, multipl miyelom ve prostat ve meme kanserinden kemik metastazları ile ilişkili kemik döngüsü anormalliklerinde önemli bir rol oynar. Serum Dkk-1 düzeyleri; multipl miyelom (Tian ve ark. 2003) gibi kemik oluşumunun baskılandığı klinik durumlarda ve kanserlerin kemik metastazları (Diarra ve ark.2007) ve romatoid artrit (RA) (Brabnikova-Maresova ve ark.2014) gibi fokal osteoliz ile karakterize edilen hastalıklarda artmıştır. Kalça osteoartriti olan hastalarda, düşük serum Dkk-1 seviyeleri eklem harabiyeti riskinde azalma ile ilişkilendirilmiştir (Lane ve ark.2007). Postmenopozal osteoporozda Dkk-1'in kemik mineral yoğunluğu ile negatif bir ilişkisi vardır (Anastasilakis ve ark. 2010). Dkk-1 aynı zamanda vasküler kalsifikasyonun prevalansı ve ciddiyeti ile bağlantılıdır (Szulc ve ark.2014). Kronik böbrek hastalığında, dolaşımdaki Dkk-1 yükselir. Dkk-1'in inhibisyonu, böbrek yetmezliği ile ilişkili vasküler kalsifikasyonları ve osteodistrofiyi önleyebilir (Fang ve ark. 2014). Fare deneylerinde artritli farelerde Dkk-1 in blokajı kemik erozyonunda azalma ve (Li ve ark. 2008) Dkk-1 gen delesyonu osteoblast sayısı artışı ile sonuçlanmıştır (Morvan ve ark. 2006). Bir çalışmada postmenapozal romatoid artritli olanları ve sağlıklı kontrol grubunu kıyaslanmış ve romatoid artrit hastalarında Dkk-1 düzeyini anlamlı yüksek bulmuştur (Rossini ve ark. 2015). Başka bir çalışmada Dkk-1 seviyelerini romatoid artrit hastalarında yüksek bulmuş ve Dkk-1 eroziv artritli sorumlu tutulmuş ve Dkk-1 nötralizasyonunun romatoid artrit ve osteoporoz tedavisinde yeni bir alternatif olabileceği belirtilmiştir (Pinzone ve ark. 2009). Hayvan deneylerinde Dkk-1 in düşük seviyesinin yüksek kemik mineral yoğunluğu ile ilişkili olduğu ve remodellingi arttırdığı belirtilmiştir (Daoussis ve Andonopoulos 2011). Çalışma grupları romatoid artrit hastası, diğer enflamatuvar hastalıklar ve



sağlıklı kontrol grubundan oluşan bir çalışmada romatoid artrit grubunda Dkk-1 düzeyi anlamlı yüksek bulunmuştur (Wang ve ark. 2011).

### 3.5.2.Periodontal Çalışmalar

Deneysel bir periodontitis modelinde, periodontitisli kontrol farelerine kıyasla periodontitisli Dkk-1'in osteositlerde delesyona uğradığı farelerde alveolar kemik kaybı önlenmiş ve deneysel periodontitisli farelerde, Dkk-1'in delesyonu, RANKL ekspresyonunun azalması nedeniyle kemik oluşumunu artırmış ve Dkk-1'in, periodontitiste alveolar kemik kaybı için önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır (Goes ve ark. 2019).Güncel başka bir klinik çalışmada; osteoporoz ve periodontitis olan grup, periodontitisli sistemik olarak sağlıklı olanlar, osteoporozu olan periodontal olarak sağlıklı olanlar ve sistemik ve periodontal olarak sağlıklı kontroller grubu şeklinde çalışma grupları belirlenmiş ve tedaviyi takiben, her iki periodontitis grubunda SOST ve Dkk-1 konsantrasyonlarında önemli artışlar ve toplam SOST miktarlarında önemli düşüşler gözlenmiştir (Ozden ve ark.2022).

Umut vaad eden tedaviler arasında Wnt sinyalizasyonunun endojen inhibitörleri yer almaktadır. Wnt sinyalinin başlıca endojen inhibitöründen olan Dkk-1 osteoblastik kemik formasyonunu geliştirecek potansiyel terapötik hedeflendendir.

### 3.6. FGF-23

Osteosit hücreleri tarafından salınan FGF-23, osteoblast farklılaşmasını ve kemik matris mineralizasyonunu baskılayan, fosfor ve D vitamini metabolizmasını düzenleyen peptid yapı bir hormondur. FGF-19 alt ailesinin üyesi olan FGF-23, kemik mineral metabolizmasında önemli rol oynar. Mineral metabolizmasına katılan sistemik hormonları ve ECM mineralizasyonunu etkileyen lokal faktörleri içeren kompleks endokrin ağların merkezinde yer alan bir osteosit faktörüdür. FGF-23 çoğunlukla osteositlerden ve daha az olarak osteoblastlardan salgılanır (Feng ve ark 2006) ve temel olarak, D vitamininin üretimini, katabolizmasını, böbrek fosfat reabsorpsiyonunu inhibe etmek için böbreği hedefler (Quarles 2012). FGF-23; böbreklerde fosfat reabsorpsiyonunda bir azalma ile fosfatürüyi indükler ve 25-hidroksi-vitamin D<sub>3</sub>'ün degradasyonunda bir artış ve aktivasyondaki bir azalma yoluyla dolaşımda 1,25-dihidroksi-vitamin D<sub>3</sub> konsantrasyonlarını azaltır (Llauradó ve ark. 2015) PTH geninin ve sekresyonunun transkripsiyonunu baskılar (Angelin ve ark. 2012).



### 3.6.1. Biyobelirteç Olarak FGF-23'ün Değerlendirildiği Çalışmalar

FGF-23'ün sistemik hastalıklar ile ilişkisini değerlendiren çok sayıda çalışma vardır. FGF-23 ilk olarak otozomal dominant hipofosfatemik rikets (ADHR) gibi genetik ve edinsel raşitik hastalıklarda tanımlanmış ve mineral metabolizmasında fizyolojik önemi açığa çıkmıştır (ADHR consortium 2000). FGF-23'teki azalma ise, hiperfosfatemi, 1,25-dihidroksi-vitamin D<sub>3</sub> ve yumuşak doku kalsifikasyonları artışı ile karakterize edilen tümöral kalsinozise neden olur (Sitara ve ark. 2004). FGF-23'ü aşırı eksprese eden farelerin düşük kortikal ve trabeküler kemik mineral yoğunluğuna sahip olduğu bildirilmiştir (Larsson ve ark. 2004). FGF 23 ekspresyonunun eksik veya aşırı olması kemik biyolojisini bozar (ADHR consortium 2000). FGF-23 fazlalığı olan hastalarında defektif iskelet mineralizasyonu meydana gelir. Bu hastalık düşük fosfor ve vitamin D değerlerinin bir sonucu olmasına rağmen, in vivo ve in vitro FGF-23 eksikliği çalışmaları, FGF-23'ün ve düzenleyici proteinlerinin kemik üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olduğunu, osteoblast farklılaşmasını direkt düzenlediğini göstermektedir (Wang ve ark. 2008). FGF-23 proteininin eksik olması/yokluğu ise fosfor ve vitamin D dolaşım seviyelerinin fazlalığına yol açarak iskelet mineralizasyonunu bozar (Shimada ve ark. 2004). Sekonder hiperparatiroidizmi olan kronik böbrek hastalarında gerçekleştirilen bir çalışmada, FGF-23 ve osteoid kalınlık, osteoid maturasyon süresi ve mineralizasyon gecikme süresi arasında ters bir ilişki gözlemlenmiştir (Wesseling-Perry ve ark. 2009). Farklı bir çalışmada, serum FGF-23 seviyeleri ile vertebral olmayan veya kalça kırığı riski arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (Lane ve ark. 2013). Başka bir klinik çalışmada da sklerodermaya sahip hasta grubunda kontrol grubuna göre FGF-23 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Ahmadi ve ark. 2017). Benzer şekilde Tip 1 diabetes mellitus hastalığına sahip hastaların FGF-23 seviyelerinde de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (Llauradó ve ark. 2015). Kronik böbrek hastalarında FGF-23 seviyesi böbrek fonksiyonunun azalmasına bağlı serum fosfat seviyelerini koruma, telafi etme amacıyla bir yanıt sağlar ve artan FGF-23 değerlerinin sekonder hiperparatiroidizm gelişimini başlatabileceği ve iskelet mineralizasyon değişiklikleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Gutierrez ve ark. 2005). Obezite, insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıkların da FGF-23 ile ilişkili olduğu (Wojcik ve ark. 2012) ve bu hormonun enflamasyon, insülin direnci, visseral yağ birikiminin bir belirteci olabileceği ve farklı enflamasyon belirteçleriyle korele olduğu bildirilmiştir (Hanks ve ark. 2015). FGF-23'ün aterosklerozun başlangıcını ve gelişimini indüklediği gösterilmiştir (Saito ve ark. 1998, Nakayama ve ark. 2013). FGF-23 seviyesi ile vasküler kalsifikasyon arasında bir ilişki varlığı (Nakayama ve ark. 2013)

ve FGF-23 konsantrasyonlarının kardiyovasküler olaylar için bir prediktör olduğu belirtilmiştir (Scialla ve ark. 2013). Yaşlı erkeklerde serum intakt FGF-23 ve kırık riski arasındaki ilişki analiz edilmiş ve başlangıçtaki artmış FGF-23, tüm kırıkların artmış riski ile ilişkili bulunmuştur (Mirza ve ark. 2011). Başka bir çalışmada FGF-23'ün böbrekten sodyum reabsorpsiyonunu arttırdığı, hipertansiyona ve kalp hipertrofisine neden olduğunu bildirilmiştir (Andrukhova ve ark. 2014). FGF-23 seviyesinin menapoz sonrası osteoporozlu bireylerde kontrol grubundan daha yüksek olduğu ve bu hastalarının erken dönemlerinde serum FGF-23 seviyesinin artmış kemik döngüsünün önemli bir belirleyicisi olduğu gösterilmiştir (Çelik ve ark. 2013).

### 3.6.2. Periodontal Çalışmalar

Periodontal veya peri-implant hastalıklarda biyobelirteç olarak FGF-23'ün değerlendirilmesi hayvan çalışmaları ile sınırlıdır. Kronik böbrek hastalığına sahip deney hayvan modelinde FGF-23 nötralizasyonu kemik kalitesini ve titanyum implantlarının osseointegrasyonunu geliştirmiştir (Sun ve ark. 2015). Benzer bir çalışmada FGF-23 artışı ile karakterize kronik böbrek hastalığı olan deney hayvanlarına implantlar yerleştirmiş ve 2 haftalık erken dönemde histomorfometrik analiz sonuçları osseointegrasyonun ve kemik implant kontaklarının azaldığını ancak 4 haftada karşılaştırılabilir bir seviyeye ulaştığını göstermiştir (Zou ve ark. 2013).

### 3.7. miRNA

Genom üzerinde 18-25 nükleotit uzunluğunda, protein kodlamayan alanda ve protein kodlayan intron veya ekzon bölgelerinde RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, ancak proteinlere translasyonu gerçekleşmeyen fonksiyonel olan tek sarmallı RNA moleküllerine mikroRNA (miRNA) denir. miRNA'lar ilk defa 1993 yılında keşfedilmiştir. Salgılandıktan sonra, dolaşımdaki miRNA'lar hücreler arasında epigenetik bilgi alışverişi yapan sinyal molekülleri olarak işlev görür (Valadi ve ark. 2007, Skog ve ark. 2008). Potansiyel kemik belirteci olan miRNA protein sentezinin düzenlenmesinde görev alır. Bir hücrenin üretilbileceği proteinlerin yaklaşık %30'unu miRNA'ların düzenlediği ve bu şekilde hücre çoğalması, gelişmesi, apoptoz, yaşlanma, metabolizma gibi olaylarda miRNA'ların görev aldıkları bildirilmiştir (Bartel, 2004). miRNA'lar aynı zamanda embriyonik kök hücre farklılaşması da düzenlemektedirler (Melton & Belloch, 2010). miRNA'lar birçok biyolojik süreci düzenler ve hücre biyolojisindeki önemli birçok mekanizmayı etkileyerek hastalıkların oluşum sürecine katılır. Dokuda ve vücut sıvılarında stabil olarak bulunmaktadır. miRNA'ların kanda stabil oldukları ve RNA-az enzimleri tarafından yıkılamadıklarının keşfiyle miRNA'ların hastalıkların

teşhisinde belirteç olarak kullanılabilceği düşünölmüştür (Mitchell ve ark. 2008). Plazma, tükürük gibi 12 farklı vücut sıvısında miRNA'ların stabil olarak izole edebilmesi (Weber ve ark., 2010) miRNA'ları potansiyel tanı ve tedavi ajanı haline getirmektedir (Mitchell ve ark. 2008). miRNA'lar, hematopoezin hemen hemen tüm basamaklarında görev alırlar. Protein sentezini düzenleme yoluyla birçok hastalığın başlamasında, ilerlemesinde ve metas-tazında miRNA'ların düzeylerinde farklılıklar meydana gelir. Böylece miRNA'lar uygun hedef olarak öne çıkmaktadırlar (Lu ve ark. 2005).

### **3.7.1. Biyobelirteç Olarak miRNA'ların Değerlendirildiği Çalışmalar**

miRNA ile ilgili araştırmaların çoğu doku ve hücre kültüründe gerçekleştirilmiştir. Kandan miRNA düzeyi ölçümü ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Birkaç in vitro ve birkaç in-vivo hayvan çalışması, miRNA'ların osteoblast (Lian ve ark.2012) ve osteoklast (Sugatani ve Hruska 2009) farklılaşması ve işlevindeki rollerini göstermiştir. miRNA fonksiyonu ve hedefleri hakkında veriler az olmasına rağmen birçok çalışma, da osteoblast ve osteoklast farklılaşması ve fonksiyonunun kontrolünde miRNA'ların önemi gösterilmiştir (Kureel ve ark.2014, Lee ve ark. 2013). Doku üzerindeki etkilerini gözlemlemek için, miRNA'ların dokuya özgü nakavt edilmesi sonucu çoğu doku tipinde gelişimsel defektlere yol açtığı gösterilmiştir (Park ve ark. 2010). Bir çalışma, kırığı olan yaşlı bireylerden alınan kemik dokusu örneklerinde miRNA-214 seviyelerinin yükseldiğini ve seviyelerin kemik oluşumunun indeksleri ile korele olduğunu gösterdi (Wang ve ark. 2013). Düşük kemik mineral yoğunluğu olan Lupus'lu hastaların, aynı yaştaki sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bir miRNA-148a ekspresyonuna sahip olduğu bildirilmiştir (Cheng ve ark.2013). miRNA-133a, düşük kemik mineral yoğunluğuna sahip hastaların periferik monositlerinde sağlıklı kontrollere göre artmıştır (Wang ve ark. 2012). Normal kemik mineral yoğunluğuna sahip kadınlara göre osteoporozu olan tedavi edilmemiş postmenopozal kadınların CD14 + periferik kan mononükleer hücrelerinde miRNA-503 düzeyleri azalmıştır (Chen ve ark.2014).

### **3.7.2. Periodontal Çalışmalar**

Periodontal hastalığı olan bireylerden izole edilen dokuların miRNA profileme çalışmalarında, miR-223 periodontitis ile ilişkili süreçlerde daha fazla araştırılmak üzere potansiyel bir miRNA adayı olarak tanımlanmıştır (Irwandi ve Vacharaksa, 2016).Periodontitisli hastalarda ve periodontitis ile indüklenen farelerde miR-21'in up- regüle edildiği ve miR-21'in in vitro ve in vivo anti-enflamatuar işlevini göstererek periodontitisin kontrolü için girişimsel bir hedef olabileceği bildirilmiştir (Zhou ve ark. 2018).

Kemik ve diğer organlar arasında paylaşılan düzenleme yollarında yer alan miRNA'ların analizi, kemik alanında değerli tanısal biyobelirteç olabilir. miRNA çalışmalarının dezavantajları dokudan dokuya, cinsiyete, ırka, bölgeye, genetik yapıya göre ekspresyon düzeylerinin farklılık göstermesidir. miRNA'ların, hastalık teşhisinde belirli bir sayıda panel halinde kullanılması gerekmektedir.

Dolaşımdaki miRNA'yı ölçmek, teşhis açısından protein bazlı biyobelirteçlerden daha önce, kemik metabolizmasındaki hakkında bilgiler sağlayabileceğinden değerlidir. miRNA'lar gelecekte tanı, tedavi, önleme ve prognoz belirlenmesinde potansiyel aday olarak görünmektedirler. Hastaların miRNA profilinin belirlenmesi için geniş hasta popülasyonlarında, daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

### 3.8. sFRP

sFRP, WNT sinyal yolağında 30 ila 40 kD arasında moleküler ağırlığa sahip bir protein ailesidir. Wnt yolağını inaktive eden sFRP proteinleri direkt olarak Wnt ligandlarına ya da Wnt reseptörlerine bağlanırlar (Kawano ve Kypta , 2003). sFRP'ler Wnt ligandlarına bağlanarak kanonik ve kanonik olmayan Wnt sinyal yolağını inhibe eder (Baarsma ve ark. 2013). sFRP'ler Wnt-Frizzled bağlanmasının inhibitörleridir. Wnt reseptörü Frizzled proteinlerinin homoloğu olan sisteinden zengin alana sahip yapısı sayesinde sFRP'ler, ligandları Frizzled reseptörü ile rekabetçi bir şekilde yarışıp bağlayarak (Hsieh ve ark 1999) veya Frizzled ile fonksiyonel olmayan kompleksler oluşturarak Wnt sinyal yolunu antagonize etmek için çift mekanizmaya sahip olabilir (Baarsma ve ark.2013, Schulte ve ark 2015).

#### 3.8.1. Biyobelirteç Olarak sFRP'lerin Değerlendirildiği Çalışmalar

sFRP5 bir anti-enflamatuvar adipositokin olarak tanımlanmıştır (Ouchi ve ark. 2010). Dolaşımdaki sFRP5, vücut kitle indeksi (VKİ), bel-kalça oranı, vücut yağ yüzdesi, insülin direncinin homeostaz modeli değerlendirmesi, lipid profili ve adiponektin dahil olmak üzere adipozite belirteçleri ile negatif korelasyon gösterir (Hu ve ark 2013, Tan ve ark 2014). Endojen Wnt inhibitörleri olan sFRP proteinleri kardiyomiyosit farklılaşmasının düzenlenmesinde rol oynar (Hsueh ve ark.2021) RA'lı menopoz öncesi kadın hastaların kesitsel bir çalışmasında yüksek sFRP1 seviyesi, hastalarda baskın rezorpsiyon aktivitesi ile birlikte yüksek bir kemik dönüşüm sürecine işaret etmiştir (Ginting ve ark. 2020).

### 3.8.2. Periodontal Çalışmalar

Periodontal hastalıkta diş eti dokusu mRNA seviyeleri incelendiğinde, sFRP5 periodontal sağlıkla ilişkili bulunmuştur (Nanbara ve ark. 2012, Maekawa ve ark. 2017, Haftcheshmeh ve ark 2019). sFRP5'in, *P. gingivalis* lipopolisakkaritinin neden olduğu enflamasyonu ve IL-8 mRNA ve protein ekspresyonunu inhibe ettiği ve deneysel periodontitis modelinde sFRP5 ile lokal tedavinin, azalmış osteoklast sayısı, azalmış pro-enflamatuvar sitokin seviyesi ve azalmış enflamatuvar hücre sayısı ile ilişkili olduğu ve enflamasyon ve kemik kaybını inhibe ettiği bildirilmiştir (Maekawa ve ark. 2017). Periodontitis hastalarının sistemik sFRP5 serum düzeylerini araştıran bir çalışma sonuçlarında, diş kaybı olmayan periodontitis hastaları ile sağlıklı kontrollerin karşılaştırıldığında sFRP5 seviyesi için anlamlı bir farklılık olmadığı, periodontitis ve diş kaybı olan hastalarda serum sFRP5 düzeyinin diş kaybı olmayan periodontitisli hastalara göre anlamlı olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir (Schulz ve ark 2019).

sFRP ler bir teşhis aracı ve/veya terapötik hedef olarak gösterebilir ve hastalık ilerlemesi ve tedavisinde biyobelirteç ve potansiyel terapötik hedef olarak hizmet etmesi düşünülebilir.

### 3.9. S1P

Lipid membran ailesinin üyesi olan sfingolipidler ; uzun zincirli sfingoid baz iskeletinden, farklı zincir uzunluğundaki amid bağlı yağ asidinden ve çeşitli polar başlı gruplardan oluşur (Verzyl ve ark.2010). S1P, 1960'larda keşfedilen, farklı biyolojik etkileri olan bir sfingolipidlerin major biyoaktif bir metabolitidir. S1P; hücre içi ikincil haberci ve membran reseptörleri için bir ligand olarak görev yapar (Cartier ve Hla,2019; Obinata ve Hla, 2019). Sfingomyelin ve glikosfingolipidler bozunarak seramide, sonrasında sfingozine dönüşür. Sfingozinde, sfingozinkinaz enzimi tarafından fosforile edilir ve S1P oluşur. S1P, hem plazma hem de kan hücrelerinde bulunur (Książek ve ark. 2015). Katepsin-K yokluğunda osteoklastlardan salınan S1P, önemli bir anabolik faktördür ve kemik rezorpsiyonundan kemik formasyonuna dönüşümde bağlantıyı kurmaktadır. S1P, osteoblastların çoğalmasını, hayatta kalmasını ve göçünü etkiler ancak kemik metabolizmasındaki primer etkisi osteoblastlarda RANKL'yi artırarak osteoklast farklılaşmasını güçlendirme üzerine olduğu in vitro ve in vivo deneylerde gösterilmiştir (Ryu ve ark.2006). Dolaşımdaki S1P'nin başlıca kaynakları, eritrositler ve endotelial hücrelerdir. S1P reseptörleri ise endotel hücreleri, nöronlar, düz kas hücreleri ve lökositlerde bulunur ve bu reseptörler aracılığı ile pek çok hücre içi ileti yolları uyarılır (zu Heringdorf ve ark.2002). S1P ve reseptörleri sepsis,

diyabet, astım ve romatoid artrit gibi diğer hastalıkların patogeneğinde de rol oynar. Belirli patofizyolojik koşullarda S1P reseptörlerinin farklı ekspresyonları göz önüne alındığında, her bir S1P reseptörünü spesifik olarak hedefleyen tedavilerin yakın gelecekte geliştirilmesi beklenmektedir (Cuvillier 2012). İnsülin-benzeri büyüme faktörü (IGF), Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) S1P seviyesinin artışı sağlar (Cuvillier 2002). S1P hücre büyümesi, hücre proliferasyonu, anjiyogenezis, vasküler maturasyon, hücre migrasyonu, adezyon gibi birçok aşamayı düzenler, ek olarak apoptozu ve lenfositleri inhibe eder (Kluk ve Hla , 2001). S1P, endotel hücrelerinde anjiyogenez için gerekli olan MMP aktivasyonuna yol açarak, tümör gelişimini, yeni damarların oluşumunu ve hücre proliferasyonunu sağlar (Leong ve Saba 2010).

### 3.9.1. Biyobelirteç Olarak S1P'lerin Değerlendirildiği Çalışmalar:

Serum S1P seviyelerinin artması, yüksek düzeyde kemik rezorpsiyonu belirteçleri, düşük kemik mineral yoğunluğu ve menopoz sonrası kadınlarda daha yüksek vertebral kırık prevalansı ile ilişkilendirilmiştir (Lee ve ark 2012, Kim ve ark. 2012). Malignite, kalp hastalıkları, yara iyileşmesi ve inflamasyonda S1P reseptörleri üzerinden tedavi gelişimine imkan sağlanacağı düşünülmektedir (Pham ve ark. 2008). S1P konsantrasyonunun artması pankreas B hücrelerinin sayısını artırır ve kanda insülin hormon seviyesini artırarak kan şekerini düşürür (Hamid ve ark. 2019). Diyabetik fareler üzerinde yapılan bir deneyde S1P ile tedavi edilen farelerin diğer grup farelere oranla insülin dirençlerinin azaldığı gösterilmiştir (He ve ark. 2019). S1P nin periferik organlarda oksidatif strese karşı hücreleri koruduğu, enflamasyonu önlediği, insülin direncininin oluşmasını geciktirdiği gösterilmiştir (Eizirik ve ark. 2020). Benzer şekilde bir hayvan deneyinde de S1P düzeyinin insülin düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir (Lee ve ark 2015). Sistemik inflamatuar yanıt sendromu, şiddetli sepsis, septik şok ve sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği bir çalışmada serum-S1P konsantrasyonları hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük ölçülmüş ve en büyük fark kontrol grubu ve septik şok grupları arasında belirlenmiştir (Winkler ve ark.2015). Kronik hepatit C tanılı hastalar ile sağlıklı bireylerin serum S1P konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada kronik hepatit C tanılı hastalarda serum S1P konsantrasyonları sağlıklı bireylere göre azalmıştır (İkeda ve ark. 2010).

### 3.9.2.Periodontal Çalışmalar

Bir fare periodontitis modelinde, sfingozin kinaz I'in ablasyonunun alveolar kemik kaybını önemli ölçüde azaltabildiği ve periodontal dokulardaki lökosit ve osteoklast sayılarında bir azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (Yu ve

ark. 2016). Güncel bir klinik çalışmada periodontitis şiddeti ve S1P serum konsantrasyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve orta ve şiddetli periodontitisli bireylerde serum S1P değerleri artmıştır (Moritz ve ark. 2021).

Mekanizmaları tam olarak aydınlatılmasa da S1P hastalığın tanı ve tedavisinde umut vericidir ancak S1P ile ilgili daha detaylı çalışmalara ve verilere ihtiyaç duyulmaktadır.

#### **4. Sonuç**

Hastalık riskini tahmin etmeye yardımcı olmak ve tedavi izlemek için yıllardır kullanılan konvansiyonel kemik biyobelirteçlerin çeşitli eksik yönleri vardır. Bu eksik yönleri gidermek için, son zamanlarda kemik metabolizması biyobelirteçlerinde yeni gelişmeler sağlanmıştır (Garnero 2014). Kemik rezorpsiyonunun biyokimyasal parametreleri, erken hastalık aktivitesini veya hastalığın ilerleme riskini tespit etme potansiyeline sahiptir, doku yıkımının aktif evreleri ve hastalığın sinsi, sessiz fazını yansıtabilir ve hastalık erken terapötik müdahale ile sonuçlanabilir. Güncel kemik biyobelirteçlerinin kemik hücrelerinin bazı özel fonksiyonlarının keşfine, kemik yapılarını ayırt etmeye ve ayrıca kemik ve diğer organlar arasındaki ilişkileri daha iyi anlamaya izin verebilecekleri düşünülmektedir (Chapurlat ve Confavreux 2016). Bu yeni belirteçler, kemik ve diğer organlar arasındaki fizyolojik ve patolojik ilişkileri keşfetmek ve çeşitli hastalıkları izlemek için yardımcı olacaktır.



## Kaynaklar

- ADHR Consortium (2000) Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*, 26, 345–348.
- Ahmadi R, Hajjalilo M, Ghorbanhaghjo A, Mota A, Raesi S, Bargahi N, Valilo M, Askarian F (2017) FGF-23, Klotho and Vitamin D Levels in Scleroderma. *Iran J Public Health*, 46, 530-536.
- Anastasilakis AD, Polyzos SA, Avramidis A, Toulis KA, Papatheodorou A, Terpos E (2010) The effect of teriparatide on serum Dickkopf-1 levels in postmenopausal women with established osteoporosis. *Clin Endocrinol* 72,752–7.
- Andrukhova O, Slavic S, Smorodchenko A, Zeitz U, Shalhoub V, Lanske B, Pohl Ee, Erben Rg (2014) FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO Mol Med*, 6, 744-759.
- Angelin B, Larsson Te, Rudling M (2012) Circulating fibroblast growth factors as metabolic regulators—a critical appraisal. *Cell Metab*, 16, 693–705.
- Aral CA, Köseoğlu S, Sağlam M, Pekbağrıyanık T, Savran L (2016) Gingival Crevicular Fluid and Salivary Periostin Levels in Non-Smoker Subjects With Chronic and Aggressive Periodontitis : Periostin Levels in Chronic and Aggressive Periodontitis. *Inflammation*. 39(3),986-93.
- Arasu A, Cawthon PM, Lui LY, Do TP, Arora PS, Cauley JA, et al (2012) Serum sclerostin and risk of hip fracture in older Caucasian women. *J Clin Endocrinol Metab* 97,2027–32.
- Ardawi MS, Rouzi AA, Al-Sibiani SA, Al-Senani NS, Qari MH, Mousa SA (2012) High serum sclerostin predicts the occurrence of osteoporotic fractures in postmenopausal women: The CEOR study. *J Bone Miner Res* 27,3691–9.
- Ardawi MS, Al-Kadi HA, Rouzi AA, Qari MH (2011) Determinants of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 26,2812–22.
- Attur M, Yang Q, Shimada K, Tachida Y, Nagase H, Mignatti P, Statman L, Palmer G, Kirsch T And Beier F (2015) Elevated expression of periostin in human osteoarthritic cartilage and its potential role in matrix degradation via matrix metalloproteinase-13. *The FASEB Journal*,29,4107-4121.
- Baarsma HA, Königshoff M, Gosens R (2013) The WNT signaling pathway from ligand secretion to gene transcription: molecular mechanisms and pharmacological targets. *Pharmacology & therapeutics*, 138, 1, 66-83.
- Baek K, Hwang HR, Park HJ, Kwon A, Qadir AS, Ko SH, . . . Baek JH (2014) TNF- $\alpha$  upregulates sclerostin expression in obese mice fed a high-fat diet. *Journal of cellular physiology*, 229(5), 640-650.

- Balli U, Aydogdu A, Dede FO, Turer CC, Guven B (2015a) Gingival Crevicular Fluid Levels of Sclerostin, Osteoprotegerin, and Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand in Periodontitis. *J Periodontol*.86(12),1396-404.
- Balli U, Keles ZP, Avci B, Guler S, Cetinkaya BO, Keles GC(2015) Assessment of periostin levels in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontal disease. *J Periodontal Res*. 50(6),707-13.
- Bao S, Ouyang G, Bai X, Huang Z, Ma C, Liu M, Shao R, Anderson Rm, Rich Jn and Wang X-F (2004) Periostin potently promotes metastatic growth of colon cancer by augmenting cell survival via the Akt/PKB pathway. *Cancer cell*,5,329-339.
- Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T (2016)Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol*2000,70(1),53-64.
- Bartel, DP (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281-297.
- Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR (2010) Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol* 2000. 53,55-69.
- Baud'huin M, Duplomb L, Teletchea S, Lamoureux F, Ruiz-Velasco C, Maillason M, . . . Heymann D (2013). Osteoprotegerin: multiple partners for multiple functions. *Cytokine & growth factor reviews*, 24(5), 401-409.
- Beiler TE, et al (2020) Impact of non-surgical periodontal treatment on salivary expression of cytokines related to bone metabolism. *Odontology*,108 (4), 646-652.
- Belibasakis GN, Bostanci N (2012) The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*, 39(3), 239-248.
- Bonner JE, Chesnut CH, Fitzsimmons A, Lindsay R (1998) Osteoporosis. In: Delisa JA, Gans BM, editörs. *Physical Medicine and Rehabilitation*. Philadelphia: Lippincott, 1453-74.
- Bonnet N, Rousseau J-C, Garnero P, Ferrari SL (2011) Periostin: a novel serum marker of cortical bone formation. *J Bone Miner Res* SU0113 [Suppl.].
- Bonnet N, Standley KN, Bianchi EN, Stadelmann V, Foti M, Conway SJ, et al(2009) The matricellular protein periostin is required for SOST inhibition and the anabolic response to mechanical loading and physical activity. *J Biol Chem*, 284:35939–50.
- Bonnet N, Lesclous P, Saffar JL, Ferrari S(2013) Zoledronate effects on systemic and jaw osteopenias in ovariectomized periostin-deficient mice. *PLoS One* 8, e58726.
- Bossard MJ, Tomaszek TA, Thompson SK, Amegadzie BY, Hanning CR, Jones C, et al (1996) Proteolytic activity of human osteoclast cathepsin K. Expression, purification, activation, and substrate identification. *J Biol Chem* 271, 12517–24.

- Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Atilla G, Hughes FJ, Belibasakis GN (2007) Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol*, 34(5),370-6.
- Boyce BF, Xing L, Chen D(2005) Osteoprotegerin, the bone protector, is a surprising target for beta-catenin signaling. *Cell Metab*, 2,344-5.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL(2003) Osteoclast differentiation and activation. *Nature*,423,337- 42.
- Brabnikova-Maresova K, Jarosova K, Pavelka K, Stepan JJ (2014) Serum sclerostin in high-activity adult patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther*,16,460.
- Buduneli N, Buduneli E, Kütükçüler N (2009). Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. *J Periodontol*, 80(8), 1274-1280.
- Carbonare LD, Giannini S(2004) Bone microarchitecture as an important determinant of bone strength. *J Endocrinol Invest*,1,99-105.
- Cartier A, Hla T (2019) Sphingosine 1-phosphate: Lipid signaling in pathology and therapy. *Science*,18,366(6463).
- Celik E, Guzel S, Abalı R, Guzelant Ay, Celik Guzel E, Kuçukyalcın V (2013) The relationship between fibroblast growth factor 23 and osteoporosis in postmenopausal women.*Minerva Med*, 104, 497-504.
- Chapurlat RD, Confavreux CB (2016) Novel biological markers of bone: from bone metabolism to bone physiology. *Rheumatology (Oxford)*, 55(10),1714-25.
- Chatzopoulos GS, Mansky KC, Lunos S, Costalonga M, Wolff LF (2019) Sclerostin and WNT-5a gingival protein levels in chronic periodontitis and health. *J Periodontal Res*, 54(5), 555-565.
- Chen C, Cheng P, Xie H, Zhou HD, Wu XP, Liao EY, et al (2014) MiRNA 503 regulates osteoclastogenesis via targeting RANK. *J Bone Miner Res* 29,338–47.
- Cheng P, Chen C, He HB, Hu R, Zhou HD, Xie H, et al (2013) MiR-148a regulates osteoclastogenesis by targeting V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene B. *J Bone Miner Res* 28,1180–90.
- Compton JT, Lee FY (2014) A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 96 (19), 1659-1668
- Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, . . . Haynes D (2003) Receptor activator NF κB ligand (RANKL) and osteopro-

- tegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res*, 38(4), 380-387.
- Cruciat CM, Niehrs C (2013) Secreted and transmembrane Wnt inhibitors and activators. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5,a015081.
- Cuvillier O. Sphingosine in apoptosis signaling. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2002;1585(2-3):153-62.
- Cuvillier O(2012). Les récepteurs de la sphingosine 1-phosphate. *médecine/sciences*, 28(11),951–957.
- Daoussis D, Andonopoulos AP , Liossis SN (2010) Wnt pathway and IL-17: novel regulators of joint remodeling in rheumatic diseases. Looking beyond the RANK- RANKL-OPG axis. *Semin Arthritis Rheum*, 39, 369-383.
- Daoussis D, Andonopoulos AP (2011) The emerging role of Dickkopf-1 in bone biology: is it the main switch controlling bone and joint remodeling? *Semin Arthritis Rheum* 41, 170-177
- Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, Korb A, Smolen J, Hoffmann M, Scheinecker C, van der Heide D, Landewe R, Lacey D, Richards WG, Schett G (2007) Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med*, 13(2),156-163.
- Dodds RA, James IE, Rieman D, Ahern R, Hwang SM, Connor JR, et al (2001) Human osteoclast cathepsin K is processed intracellularly prior to attachment and bone resorption. *J Bone Miner Res*,16, 478–86.
- DU J, LI M (2017) Functions of Periostin in dental tissues and its role in periodontal tissues' regeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences*,74,4279-4286.
- Eizirik DL, Pasquali L, Cnop M (2020) Pancreatic  $\beta$ -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. *Nature Reviews Endocrinology*, 16(7),349-62.
- Esfahrood ZR, Yadegari Z, Veysari SK, Kadkhodazadeh M (2018) Gingival crevicular fluid levels of sclerostin in chronic periodontitis and healthy subjects. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 44(6), 289.
- Fang Y, Ginsberg C, Seifert M et al(2014) CKD-induced Wingless/integration 1 inhibitors and phosphorus cause the CKDmineral and bone disorder. *J Am Soc Nephrol*, 25,176073.
- Feng Jq, Ward Lm, Liu S, Lu Y, Xie Y, Yuan B, Yu X, Rauch F, Davis S1, Zhang S, Rios H, Drezner Mk, Quarles Ld, Bonewald Lf, White Ke (2006) Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat Genet*, 38, 1310–1315.

- Foulquier S, Daskalopoulos EP, Lluri G, Hermans KCM, Deb A, Blankestijn WM (2018) WNT signaling in cardiac and vascular disease. *Pharmacol Rev*, 70,68– 141.
- Garnero P (2014) New developments in biological markers of bone metabolism in osteoporosis. *Bone*, 66, 46-55.
- Gaudio A, Privitera F, Pulvirenti I, Canzonieri E, Rapisarda R, Fiore C (2014) Relationships between osteoprotegerin, receptor activator of the nuclear factor kB ligand serum levels and carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Panminerva medica*, 56(3), 221-225.
- Ginting AR, Hidayat R, Sumariyono S, Koesnoe S (2020) Role of Secreted Frizzled-Related Protein 1 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in Bone Loss of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Int J Rheumatol*, 1, 2020, 9149762
- Goes P, Dutra C, Lösser L, Hofbauer LC, Rauner M, Thiele S (2019) Loss of Dkk-1 in Osteocytes Mitigates Alveolar Bone Loss in Mice With Periodontitis. *Front Immunol*, 10,10:2924
- Grigoropoulou P, Eleftheriadou I, Zoupas C, Tentolouris N (2011) The role of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system in diabetic vascular disease. *Current medicinal chemistry*, 18(31), 4813-4819.
- Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Shah A, Holmes J, Collerone G, Jüppner H, Wolf M (2005) Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 16, 2205–2215.
- Haftcheshmeh SM, Mohammadi A, Soltani A, Momtazi-Borojeni AA, Sattari M (2019) Evaluation of STAT1 and Wnt5a gene expression in gingival tissues of patients with periodontal disease. *Journal of cellular biochemistry*, 120, 2, 1827-34.
- Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi F, Hwu W, Kefford R, et al (2019) Five-year survival outcomes for patients with advanced melanoma treated with pembrolizumab in Keynote-001. *Annals of Oncology*, 30(4), 582-8.
- Hanks Lj, Casazza K, Judd Se, Jenny Ns, Gutierrez Om (2015) Associations of fibroblast growth factor-23 with markers of inflammation, insulin resistance and obesity in adults. *PLoS One*, 10, e0122885.
- Hannon RA, Eastell R (2003) Biochemical markers of bone turnover and fracture prediction. *J Br Menopause Sec*, 9, 10-15.
- Harada Si, Rodan A (2003) Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*, 423(6937), 349-355.
- Hayami T, Zhuo Y, Wesolowski GA, Pickarski M, Duong LT (2012) Inhibition of cathepsin K reduces cartilage degradation in the anterior cruciate

- ligament transection rabbit and murine models of osteoarthritis. *Bone*, 50, 12509.
- He Y, Shi B, Zhao X, Sui J (2019) Sphingosine-1-phosphate induces islet  $\beta$ -cell proliferation and decreases cell apoptosis in high-fat diet/streptozotocin diabetic mice. *Experimental and therapeutic medicine*, 18(5), 3415-24.
- Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S (2015) Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *Journal of immunology research*, 2015, 615486.
- Hoepfner LH, Secreto FJ, Westendorf JJ (2009) Wnt signaling as a therapeutic target for bone diseases. *Expert Opin Ther Targets*, 13(4), 485-96.
- Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S (1999a) Interleukin-1 and tumor necrosis factor-, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells *Bone*, 25, 255-9.
- Hofbauer LC, Heufelder AE (2001) Role of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *Journal of molecular medicine*, 79(5-6), 243-253.
- Horiuchi K, Amizuka N, Takeshita S, Takamatsu H, Katsuura M, Ozawa H, Toyama Y, Bonewald Lf And Kudo A (1999) Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and periodontal ligament and increased expression by transforming growth factor  $\beta$ . *Journal of bone and mineral research*, 14, 1239-1249.
- Hsieh J-C, Rattner A, Smallwood PM, Nathans J (1999) Biochemical characterization of Wnt- frizzled interactions using a soluble, biologically active vertebrate Wnt protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 7, 3546-51.
- Hsueh YC, Hodgkinson CP, Gomez JA (2021) The role of Sfrp and DKK proteins in cardiomyocyte development. *Physiol Rep*, 9(3), e14678.
- Hu W, Li L, Yang M, Luo X, Ran W, Liu D, Xiong Z, Liu H, Yang G (2013) Circulating Sfrp5 is a signature of obesity-related metabolic disorders and is regulated by glucose and liraglutide in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98, 1, 290-8.
- Ikeda H, Ohkawa R, Watanabe N, Nakamura K, Kume Y, Nakagawa H, et al (2010) Plasma concentration of bioactive lipid mediator sphingosine 1-phosphate is reduced in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chim Acta*, 411(9- 10), 765-770.
- Ikeda T, Kasai M, Utsuyama M, Hirokawa K (2001) Determination of Three Isoforms of the Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand and Their Differential Expression in Bone and Thymus. *Endocrinology*, 142(4), 1419-1426.

- Irwandi RA, Vacharaksa A (2016) The role of microRNA in periodontal tissue: A review of the literature. *Arch Oral Biol*, 72, 66-74.
- Kawano Y, Kypka RJ (2003) Secreted antagonists of the Wnt signaling pathway. *Cell Sci*, 116, 2627-2634.
- Kim BJ, Koh JM, Lee SY et al (2012) Plasma sphingosine 1-phosphate levels and the risk of vertebral fracture in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 97,380714.
- Kim JH, Lee DE, Cha JH, Bak EJ, Yoo YJ (2014) Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and sclerostin expression in osteocytes of alveolar bone in rats with ligature-induced periodontitis. *J Periodontol*, 85(11), e370-8.
- Kluk MJ, Hla T (2001) Role of the sphingosine 1-phosphate receptor EDG-1 in vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Circulation research*, 89(6), 496-502.
- Krishnan V, Bryant HU, MacDougald OA (2006) Regulation of bone mass by Wnt signaling. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(5), 1202-1209.
- Książek M, Chacińska M, Chabowski A, Baranowski M (2015) Sources, metabolism, and regulation of circulating sphingosine-1-phosphate. *Journal of lipid research*, 56(7), 1271-81.
- Kudo Y, Siriwardena B, Hatano H, Ogawa I and Takata T (2007) Periostin: novel diagnostic and therapeutic target for cancer. *Histology and histopathology*,22,1167.
- Kureel J, Dixit M, Tyagi AM et al (2014) miR-542-3p suppresses osteoblast cell proliferation and differentiation, targets BMP-7 signaling and inhibits bone formation. *Cell Death Dis*, 5, e1050.
- Lacey DL, Timms E, Tan HL et al (1998) Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*, 93, 165-76.
- Lane NE, Parimi N, Corr M et al. Osteoporotic Fractures In Men (Mros) Study Group (2013) Association of serum fibroblast growth factor 23 (FGF23) and incident fractures in older men: the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) study. *J Bone Miner Res*, 28, 2325-2332.
- Lane NE, Nevitt MC, Lui LY, de Leon P, Corr M (2007) Wnt signaling antagonists are potential prognostic biomarkers for the progression of radiographic hip osteoarthritis in elderly Caucasian women. *Arthritis Rheum*, 56, 3319-25.
- Larsson T, Marsell R, Schipani E, et al (2004) Transgenic mice expressing fibroblast growth factor 23 under the control of the alpha1(I) collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia and disturbed phosphate homeostasis. *Endocrinology*, 145, 3087-3094.



- Lee SH, Lee SY, Lee YS et al (2012) Higher circulating sphingosine 1-phosphate levels are associated with lower bone mineral density and higher bone resorption marker in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 97, E14218.
- Lee SY, Hong IK, Kim BR, et al (2015) Activation of sphingosine kinase 2 by endoplasmic reticulum stress ameliorates hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Hepatology*, 62(1), 135-46.
- Lee Y, Kim HJ, Park CK et al (2013) MicroRNA-124 regulates osteoclast differentiation. *Bone*, 56, 3839.
- Leong WI, Saba JD (2010) S1P metabolism in cancer and other pathological conditions. *Biochimie*, 92(6), 716–723.
- Li X, Ominsky MS, Niu QT, Sun N, Daugherty B, D’Agostin D, et al (2008) Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res*, 23, 860–9.
- Li X, et al (2009) Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 24 (4), 578-588.
- Lian JB, Stein JS, van Wijnen AJ, et al (2012) Micro RNA control of bone formation and homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*, 8, 212–7.
- Liu YC, Lerner UH, Teng YT (2010) Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*, 52, 163-206.
- Llauradó G, Megia A, Cano A, et al (2015) FGF-23/Vitamin D Axis in Type 1 Diabetes: The Potential Role of Mineral Metabolism in Arterial Stiffness. *PLoS One*, 10, e0140222.
- Lombardi G, Lanteri P, Colombini A, Banfi G (2012) Blood biochemical markers of bone turnover: pre-analytical and technical aspects of sample collection and handling. *Clin Chem Lab Med*, 50, 771–89.
- Lotinun S, Kiviranta R, Matsubara T, et al (2013) Osteoclast-specific cathepsin K deletion stimulates S1P- dependent bone formation. *J Clin Invest*, 123(2), 666-81.
- Lu HK, et al (2006) Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 41 (4), 354-360.
- Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, . . . Golub TR (2005) MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 435(7043), 834-838.
- Maeda K, Takahashi N, Kobayashi Y (2013) Roles of Wnt signals in bone resorption during physiological and pathological states. *J Mol Med (Berl)*, 91, 1, 15-23.

- Maekawa T, Kulwattanaporn P, Hosur K, et al (2017) Differential expression and roles of secreted frizzled-related protein 5 and the wingless homolog Wnt5a in periodontitis. *Journal of dental research*, 96, 5, 571-7.
- Maruhashi T, Kii I, Saito M, Kudo A (2010) Interaction between periostin and BMP-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. *J Biol Chem*, 285, 13294–303.
- Masuoka M, Shirashi H, Ohta S, et al (2012) Periostin promotes chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines. *The Journal of clinical investigation*, 122, 2590-2600.
- Matsuzaki K, Udagawa N, Takahashi N, et al (1998) Osteoclast differentiation factor (ODF) induces osteoclast-like cell formation in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *Biochem Biophys Res Commun*, 246, 199-204.
- Meier C, Meinhardt U, Greenfield JR, et al (2006) Serum cathepsin K concentrations reflect osteoclastic activity in women with postmenopausal osteoporosis and patients with Paget's disease. *Clin Lab*, 52, 1–10.
- Melton C, Belloch R (2010). MicroRNA Regulation of Embryonic Stem Cell Self-Renewal and Differentiation. *Adv Exp Med Biol*, 695, 105-117.
- Miranda TS, Napimoga MH, Feres M, et al (2018) Antagonists of Wnt/ $\beta$ -catenin signalling in the periodontitis associated with type 2 diabetes and smoking. *J Clin Periodontol*, 45(3), 293-302.
- Mirza MA, Karlsson MK, Mellström D, Orwoll E, Ohlsson C, Ljunggren O, Larsson TE (2011) Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) and fracture risk in elderly men. *J Bone Miner Res*, 26, 857-864.
- Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al (2008) Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 29, 105(30), 10513-8.
- Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Togari A (2004) Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *Journal of Dental Research*, 83(2), 166-169.
- Mogi M, Ootogoto J (2007) Expression of cathepsin-K in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *Arch Oral Biol*, 52, 894-8.
- Moritz E, Jedlitschky G, Negnal J, et al (2021) Increased Sphingosine-1-Phosphate Serum Concentrations in Subjects with Periodontitis: A Matter of Inflammation. *J Inflamm Res*, 30, 14, 2883-2896.
- Morvan F, Boulukos K, Clément-Lacroix P, et al (2006) Deletion of a single allele of the *Dkk1* gene leads to an increase in bone formation and bone mass. *J Bone Miner Res*, 21, 934–945.
- Mödder UI, Clowes JA, Hoey K, et al (2011) Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and in men. *J Bone Miner Res*, 26, 373–9.

- Nagasawa T, Kobayashi H, Kiji M, et al (2002) LPS-stimulated human gingival fibroblasts inhibit the differentiation of monocytes into osteoclasts through the production of osteoprotegerin. *Clinical & Experimental Immunology*, 130(2), 338-344.
- Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, et al (2000) Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochemical and biophysical research communications*, 275(3), 768-775.
- Nakayama M, Kaizu Y, Nagata M, et al (2013) Fibroblast growth factor 23 is associated with carotid artery calcification in chronic kidney disease patients not undergoing dialysis: a cross-sectional study. *BMC Nephrol*, 14, 22.
- Nakazawa T, Nakajima A, Seki N, et al (2004) Gene expression of periostin in the early stage of fracture healing detected by cDNA microarray analysis. *Journal of orthopaedic research*, 22, 520-525.
- Nanbara H, Wara-aswapati N, Nagasawa T, et al (2012) Modulation of Wnt5a expression by periodontopathic bacteria. *PLoS One*, 7, 4.
- Napimoga MH, Nametala C, da Silva FL, et al (2014) Involvement of the Wnt- $\beta$ -catenin signalling antagonists, sclerostin and dickkopf-related protein 1, in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 41(6), 550-557.
- Ndip A, Wilkinson FL, Jude EB, Boulton AJ, Alexander MY (2014) RANKL-OPG and RAGE modulation in vascular calcification and diabetes: novel targets for therapy. *Diabetologia*, 57(11), 2251-2260.
- Niehrs C (2006) Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators. *Oncogene*, 25, 7469-7481.
- Nishiyama T, Kii I, Kashima TG, et al (2011) Delayed re-epithelialization in periostin-deficient mice during cutaneous wound healing. *PLoS One*, 6, e18410.
- Nusse R, Clevers H (2017) Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell*, 169, 985-999.
- Obinata H, Hla T (2019) Sphingosine 1-phosphate and inflammation. *Int Immunol*, 31(9), 617-625.
- Ohta N, Ishida A, Kurakami K, et al (2014) Expressions and roles of periostin in otolaryngological diseases. *Allergology International*, 63, 171-180.
- Oka T, Xu J, Kaiser Ra, Melendez J, et al (2007) Genetic manipulation of periostin expression reveals a role in cardiac hypertrophy and ventricular remodeling. *Circulation research*, 101, 313-321.

- Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, et al (2010) Sfrp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity. *Science*, 329, 5990, 454-7.
- Ozden FO, Demir E, Lutfioglu M, Acarel EE, Bilgici B, Atmaca A (2022) Effects of periodontal and bisphosphonate treatment on the gingival crevicular levels of sclerostin and dickkopf-1 in postmenopausal osteoporosis with and without periodontitis. *J Periodontol Res*.57(4),849-858.
- Paccou J, Mentaverri R, Renard C et al (2014) The relationships between serum sclerostin, bone mineral density, and vascular calcification in rheumatoid arthritis. *J Clin Endocrinol Metab*,99,47408.
- Padial-Molina M, Volk S, Taut A, Giannobile W, Rios H (2012) Periostin is down-regulated during periodontal inflammation. *Journal of dental research*,91,1078-1084.
- Padial-Molina M, Volk S, Rios Hf (2015) Preliminary insight into the periostin leverage during periodontal tissue healing. *Journal of clinical periodontology*,42,764-772
- Pandur P, Maurus D, Kuhl M (2002) Increasingly complex: new players enter the Wnt signaling network. *Bioessays*, 24(10),881-884.
- Park CY, Choi YS, & McManus MT (2010) Analysis of microRNA knockouts in mice. *Hum Mol Genet*, 19(R2), R169-175.
- Pham T-CT, Fells Sr JI, Osborne DA, North EJ, Naor MM, Parrill AL (2008) Molecular recognition in the sphingosine 1-phosphate receptor family. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 26(8),1189-201.
- Pinzone JJ, Hall BM, Thudi NK, Vonau M, Qiang YW, Rosol TJ, Shaughnessy JD(2009) The role of Dickkopf-1 in bone development, homeostasis, and disease. *Blood*,113, 517-525.
- Piters E, Boudin E, Van Hul W (2008) Wnt signaling: A win for bone. *Arch Biochem Biophys*,473(2),112-116.
- Prezelj J, Ostanek B, Logar DB, Marc J, Hawa G, Kocjan T (2008) Cathepsin K predicts femoral neck bone mineral density change in non osteoporotic peri- and early postmenopausal women. *Menopause*, 15, 369-73.
- Quarles LD (2012) Skeletal secretion of FGF-23 regulates phosphate and vitamin D metabolism. *Nat Rev Endocrinol*, 8, 276-286.
- Qiang YW, Chen Y, Brown N, Hu B, Epstein J, Barlogie B, Shaughnessy Jr JD (2010). Characterization of Wnt/ $\beta$ -catenin signalling in osteoclasts in multiple myeloma. *British journal of haematology*, 148(5), 726-738.
- Qiang YW, Chen Y, Stephens O, et al (2008) Myeloma-derived Dickkopf-1 disrupts Wnt-regulated osteoprotegerin and RANKL production by osteoblasts: a potential mechanism underlying osteolytic bone lesions in multiple myeloma. *Blood*, 112(1),196-207.

- Rakic M, Struillou X, Petkovic-Curcin A, et al (2014) Estimation of Bone Loss Biomarkers as a Diagnostic Tool for Peri-Implantitis. *J Periodontol*, 30,1- 12.
- Recker RR, et al (2015) A randomized, double-blind phase 2 clinical trial of blosozumab, a sclerostin antibody, in postmenopausal women with low bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research*,30 (2), 216-224.
- Redlich K, Hayer S, Maier A, et al (2002) Tumor necrosis factor alpha-mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum*, 46, 785-92.
- Ren Y, Han X, Ho S, et al (2015). Removal of SOST or blocking its product sclerostin rescues defects in the periodontitis mouse model. *FASEB J*, 29(7), 2702-11.
- Rios H, Koushik Sv, Wang H, et al (2005) Periostin null mice exhibit dwarfism, incisor enamel defects, and an early-onset periodontal disease-like phenotype. *Molecular and Cellular Biology*,25,11131-11144.
- Ríos Hf, Ma D, Xie Y, et al (2008) Periostin is essential for the integrity and function of the periodontal ligament during occlusal loading in mice. *Journal of periodontology*,79,1480-1490.
- Rossini M, Gatti D, Adami S (2013) Involvement of WNT/ $\beta$ -catenin signaling in the treatment of osteoporosis. *Calcified tissue international*, 93(2), 121-132.
- Rossini M, Viapiana O, Adami S, et al (2015) In patients with rheumatoid arthritis, Dickkopf-1 serum levels are correlated with parathyroid hormone, bone erosions and bone mineral density. *Clin Exp Rheumatol*,33, 77-83.
- Ryu J, Kim HJ, Chang EJ et al (2006) Sphingosine 1-phosphate as a regulator of osteoclast differentiation and osteoclastosteoblast coupling. *EMBO J*, 5, 584051.
- Saito Y, Yamagishi T, Nakamura T, et al (1998) Klotho protein protects against endothelial dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun*, 248, 324–329.
- Schulte D, Kragelund D, Müller N, et al (2015) The wntless-related integration site-5a/secreted frizzled-related protein-5 system is dysregulated in human sepsis. *Clinical & Experimental Immunology*, 180, 1, 90-7.
- Schulz J, Knappe C, Graetz C, et al (2019) Secreted frizzled-related protein 5 serum levels in human periodontitis—A nested case–control study. *Journal of clinical periodontology*, 46, 5, 522-8.
- Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, et al Chronic Renal Insufficiency Cohort Study Investigators (2013) Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int*, 83,1159-1168.

- Sebastian A, Loots GG (2017). Transcriptional control of *Sost* in bone. *Bone*, 96, 76-84.
- Secchiero P, Corallini F, Pandolfi A, et al (2006) An increased osteoprotegerin serum release characterizes the early onset of diabetes mellitus and may contribute to endothelial cell dysfunction. *The American journal of pathology*, 169(6), 2236-2244.
- Sheng Z, Tong D, Ou Y, et al (2012) Serum sclerostin levels were positively correlated with fat mass and bone mineral density in Central South Chinese postmenopausal women. *Clin Endocrinol*, 76, 797-801.
- Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, et al (2004) Targeted ablation of *Fgf23* demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 113, 561-568.
- Silverman SL (2010) Sclerostin. *Journal of Osteoporosis*, 2010, 941419.
- Simonet W, Lacey D, Dunstan C, et al (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 89, 2, 309-19.
- Sitara D, Razzaque Ms, Hesse M, et al (2004) Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis, and reverses hypophosphatemia in *PheX*-deficient mice. *Matrix Biol*, 23, 421-432.
- Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, et al (2008) Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*, 10, 14706.
- Skoumal M, Haberhauer G, Kolarz G, Hawa G, Woloszczuk W, Klingler A (2005) Serum cathepsin K levels of patients with longstanding rheumatoid arthritis: correlation with radiological destruction. *Arthritis Res Ther*, 7, R65-70.
- Smit TH, Burger EH (2000) Is BMU-coupling a strain-regulated phenomenon? A finite element analysis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(2), 301-307.
- Smit TH, Burger EH, Huyghe JM (2002) A case for strain-induced fluid flow as a regulator of BMU-coupling and osteonal alignment. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(11), 2021-2029.
- Sugatani T, Hruska KA (2009) Impaired micro-RNA pathways diminish osteoclast differentiation and function. *J Biol Chem*, 284, 4667-78.
- Sun N, Guo Y, Liu W, et al (2015) FGF23 neutralization improves bone quality and osseointegration of titanium implants in chronic kidney disease mice. *Sci Rep*, 5, 8304.
- Szulc P, Garnero P, Marchand F, Dubocuf F, Delmas PD (2005) Biochemical markers of bone formation reflect endosteal bone loss in elderly men—MINOS study. *Bone*, 36, 13-21.

- Szulc P, Schoppet M, Rachner TD, Chapurlat R, Hofbauer LC (2014) Severe abdominal aortic calcification in older men is negatively associated with DKK1 serum levels: the STRAMBO study. *J Clin Endocrinol Metab*, 99, 61724.
- Tabata C, Hongo H, Sasaki M, et al (2014) Altered distribution of extracellular matrix proteins in the periodontal ligament of periostin-deficient mice. *Histol Histopathol*, 29, 731-742.
- Tajika Y, Moue T, Ishikawa S, Asano K, Okumo T, Takagi H And Hisamitsu T (2017) Influence of periostin on synoviocytes in knee osteoarthritis. *In vivo*, 31, 69-77.
- Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, Uehara S, Kobayashi Y (2011) Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 16, 21- 30.
- Tan X, Wang X, Chu H, Liu H, Yi X, Xiao Y, (2014) SFRP 5 correlates with obesity and metabolic syndrome and increases after weight loss in children. *Clinical endocrinology*, 81, 3, 363-9.
- Taut AD, Jin Q, Chung JH, et al (2013) Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(11), 2347-2356.
- Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E (2013). A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol*, 40, S113-S134.
- Teitelbaum SL (2000) Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289, 1504-8.
- Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini E, Heymann D (2004) The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev*, 15, 457-75.
- Tian E, Zhan F, Walker R et al (2003) The role of the Wnt- signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med*, 349, 2483-94.
- Udagawa N, Takahashi N, Akatsu T, et al (1990) Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87, 7260-4.
- Xu JL, Meng HX, He L, Wang XE, Zhang L (2016) The Effects of Initial Periodontal Therapy on the Serum Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand/Osteoprotegerin System in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Periodontitis. *J Periodontol*, 87(3), 303-311.



- Valadi H, Ekstrom K, Bossios A et al (2007) Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 9, 6549.
- Van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A, et al (2004) Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *Journal of Experimental Medicine*, 199(6), 805-814.
- Van Bezooijen RL, Svensson JP, Eefting D, et al (2007) Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 22(1), 19-28.
- Verzija D, Peters SL, Alewijnse AE (2010) Sphingosine-1-phosphate receptors: zooming in on ligand-induced intracellular trafficking and its functional implications. *Molecules and cells*, 29(2), 99-104.
- Wan CP, Leung WK, Wong MC (2009) Effects of smoking on healing response to non-surgical periodontal therapy: a multilevel modelling analysis. *J Clin Periodontol*, 36(3), 229-239.
- Wang H, Yoshiko Y, Yamamoto R, et al (2008) Overexpression of fibroblast growth factor 23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. *J Bone Miner Res*, 23, 939-948
- Wang SY, Liu YY, Ye H, et al (2011) Circulating Dickkopf-1 is correlated with bone erosion and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 38, 821-827.
- Wang X, Guo B, Li Q, et al (2013) miR-214 targets ATF4 to inhibit bone formation. *Nat Med*, 19, 93-100.
- Wang Y, Li L, Moore BT, et al (2012) MiR-133a in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis. *PLoS One*, 7, e34641.
- Wara-aswapati N, Surarit R, Chayasadam A, Boch J A, Pitiphat W (2007) RANKL upregulation associated with periodontitis and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol*, 78(6), 1062-1069.
- Weber JA, Baxter DH, Zhang S, et al (2010) The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem*, 56(11), 1733-1741.
- Wend P, Holland JD, Ziebold U, Birchmeier W (2010) Wnt signaling in stem and cancer stem cells. *Semin Cell Dev Biol*, 21, 855-863.
- Wendling D, Cedoz JP, Racadot E (2008) Serum levels of MMP-3 and cathepsin K in patients with ankylosing spondylitis: effect of TNF alpha antagonist therapy. *Joint Bone Spine*, 75, 559-62.
- Wendling D, Claudepierre P (2013) New bone formation in axial spondyloarthritis. *Joint Bone Spine*, 80, 4548.

- Wesseling-Perry K, Pereira RC, et al (2009) Relationship between plasma fibroblast growth factor-23 concentration and bone mineralization in children with renal failure on peritoneal dialysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 94, 511-517.
- Wijenayaka AR, Kogawa M, Lim HP, Bonewald LF, Findlay DM, Atkins GJ (2011) Sclerostin stimulates osteocyte support of osteoclast activity by a RANKL-dependent pathway. *PLoS one*, 6(10), e25900.
- Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, et al (2003) Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *The EMBO journal*, 22(23), 6267-6276.
- Winkler MS, Nierhaus A, Holzmann M, et al (2015) Decreased serum concentrations of sphingosine-1-phosphate in sepsis. *Crit Care*, 19(1), 372.
- Wojcik M, Janus D, Dolezal-Oltarzewska K, Drozd D, Sztefko K, Starzyk JB (2012) The association of FGF23 levels in obese adolescents with insulin sensitivity. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 25, 687-690.
- Yakar N, Guncu GN, Akman AC, Pinar A, Karabulut E, Nohutcu RM (2019) Evaluation of gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid levels of sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG. *Cytokine*, 113, 433-439.
- Yamalik N, Gunday S, Kilinc K, Karabulut E, Berker E, Tozum TF (2011) Analysis of cathepsin-K levels in biologic fluids from healthy or diseased natural teeth and dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 26, 991-7.
- Yamalik N, Gunday S, Uysal S, Kiliñç K, Karabulut E, Tözüm TF (2012) Analysis of cathepsin-K activity at tooth and dental implant sites and the potential of this enzyme in reflecting alveolar bone loss. *J Periodontol*, 83(4), 498-505.
- Yamamoto, M., Yamauchi, M., & Sugimoto, T (2013) Elevated sclerostin levels are associated with vertebral fractures in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(10), 4030-4037.
- Yu H, Sun C, Argraves K (2016) Periodontal inflammation and alveolar bone loss induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* is attenuated in sphingosine kinase 1-deficient mice. *J Periodontal Res*, 51, 38– 49.
- Zhou W, Su L, Duan X, et al (2018). MicroRNA-21 down-regulates inflammation and inhibits periodontitis. *Mol Immunol*, 101, 608-614.
- Zou H, Zhao X, Sun N, et al (2013) Effect of chronic kidney disease on the healing of titanium implants. *Bone*, 56, 410-415.
- zu Heringdorf DM, Himmel HM, Jakobs KH (2002) Sphingosylphosphorylcholine— biological functions and mechanisms of action. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1582(1-3), 178-89.