

■ Derleme

Osteoporoz ve Mikrobiyota

Osteoporosis and Microbiota

Münevver Aksoy*¹ , Gülsemin Ertürk Çelik² , Yaprak Engin Üstün¹ 

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi Etilik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye

² T.C. Gençlik ve Spor Bakanlığı, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Uzmanı, Ankara, Türkiye

Öz

Osteoporoz tıbbi, toplumsal ve mali sonuçlarıyla önemli bir sorundur. Osteoporozun önlenmesinde ve tedavisinde yeni yöntemler aranmaktadır. Mevcut çalışmalar bağırsak disbiyozunun osteoporozu neden olduğu yönündedir.

Anahtar Kelimeler: Osteoporoz; kemik; mikrobiyota; bağırsak mikrobiyomu

Abstract

Osteoporosis is an important problem with medical, communal and financial results. New methods are sought in the prevention and treatment of osteoporosis. Current studies suggest that intestinal dysbiosis causes osteoporosis.

Keywords: Osteoporosis; bone; microbiota; gut microbiome

Osteoporoz

Osteoporoz (kemik erimesi), dünya genelinde, her yıl 200 milyon kadını etkileyen, yaklaşık 8,9 milyon kırığa neden olan, kemiğin yıkım aktivitesinin, kemik yapımına baskın olduğu, kemik dansitesinin azaldığı bir hastalıktır. Osteoporoz tanısı, KMD (kemik mineral dansitesi) ölçümü ile konur. Osteoporoz, ağrısız ve asemptomatik seyrettiğinden, ilk teşhisi kemik kırıkları olduğunda alabilir. Malignitelerde, malabsorpsiyonda, metabolik, endokrin ve inflamatuvar hastalıklarda, immobilizasyonda, uzun süreli heparin ve kortizol kullanımında oluşabileceği gibi özellikle östrojenin kemik koruyucu etkisinin azaldığı postmenopozal kadınlar için osteoporoz ciddi bir sağlık sorunudur. Ancak, mevcut tedavilerle osteoporoz bütünüyle tedavi edilememektedir. Dolayısıyla, tıbbi, sosyal, toplumsal ve mali sonuçlarıyla önem arz eden osteoporoz yeni tedavi seçenekleri aranmaktadır. Bu konuda, mikrobiyomun osteoporoz üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar oldukça heyecan vericidir. Makalemizde mikrobiyomun osteoporoz üzerindeki etkisini araştıran çalışmaları sizin için derledik.

Kemik, sürekli olarak kemik yapım ve yıkımının (remodeling) gerçekleştiği bir dokudur. PTH (parathormon) etkisiyle osteoblastlar ve stromal hücrelerden RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand), M-CSF (makrofaj koloni uyarıcı faktör) ve osteoprotegerin (OPG) salgılanır. RANKL, osteoklast üzerinde bulunan RANK'ı aktive ederek osteoklastların sayıca artmasını, farklılaşmasını ve aktive olmasını sağlar. OPG ise RANKL etkisini baskılar yani RANKL, M-CSF kemik rezorpsiyonunu sağlarken, OPG kemik koruyucudur (1,2). Ayrıca, OPG/RANKL/RANK yolağının yanı sıra RANKL/LGR4/RANK, Ephrin2/ephB4, Fas/FasL gibi yolaklarla, osteoblastlar ve osteoklastlar arasında doğrudan hücre sinyalleri ile, semaforin 4D, TGF- β , IGF-1 gibi çeşitli molekül ve sitokinler ile kemik yapım ve yıkım dengesi sağlanmakta bu dengenin bozulmasıyla osteoporoz oluşmaktadır (3). Osteoporoz, kemiklerde kırık oluşmadıkça ağrısız ve asemptomatik seyreden bir hastalıktır. Kırıklar en çok kalça kemiklerinde ve vertebralarda görüldüğünden, hastaların yaşam kalitesinin düşmesine neden olmakta, mprbidite ve mortalitelerle seyretmektedir (4). Bu sebeple, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), postmenopozal kadınların, altın standart olarak gördüğü Dual Enerji X-Ray Absorpsiyometri (DEXA) ile taranmasını önermektedir. T-skoru (genç erişkin popülasyonun referans değeri) -1 ve üzeri normal, -1 ile -2,5 arası osteopeni, -2,5 ve daha düşük değerler osteoporoz kabul edilmektedir. Ancak, DEXA cihazına her sağlık merkezinde ulaşım mümkün olmadığından, kemik mineral dansitometriden (KMD) bağımsız olarak kırık riski hakkında bilgi sağlayabilecek, klinik risk faktörlerinin değerlendirilmesi de uygun olabilir. Bu bağlamda,

farklı merkezlerden yapılan çalışmalar incelenerek kırık riskini hesaplayan FRAX aracı oluşturulmuştur (5). Osteoporozun önlenmesi için sigarayı bırakmak, alkolü sınırlamak, yeterli fiziksel aktivite, dengeli ve düzenli beslenme önerilir (6). Tedavisinde, kalsiyum, D vitamini, kemik rezorpsiyonunu önleyen; oral bifosfonatlar, denosumab, selektif östrojen reseptör modölatörleri (SERM), östrojen/progesteron tedavileri, kemik yapımını arttırmak için; PTH analogları, romosozumab ve nadiren kalsitonin, kalsitriol, androjenler kullanılabilir (7-9). Fakat bu ilaçlar tamamen iyileşme sağlamadığı gibi, ilaçların kullanımını sınırlandıran birçok faktör bulunmaktadır.

Mikrobiyota

Mikrobiyota ya da mikrobiyom; deri, bağırsak, vajina gibi bir dokuda yaşayan simbiyotik, kommensal ve patojenik mikroorganizmaların bütününe verilen isimdir. Doğumda anneden gelir, yaşla birlikte mikroorganizmaların çeşitliliği artar. İnsan Mikrobiyom Projesi (İMP) kapsamında yapılan çalışmalarda bu mikroorganizmaların kişinin kendine özgü olduğu ve kişiden kişiye çeşitlilik gösterdiği gösterilmiştir. Bağırsak mikrobiotasını oluşturan en büyük filumlar; *Bacteroides*, *Firmicutes* *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobiad*r. Çevresel faktörlerden, diyetten, kullanılan antibiyotiklerden konağın yaşından, fiziksel aktivitesinden, kilosundan, immünolojik ve genetik özelliklerinden etkilenmektedir (10-17). Bağırsak mikrobiyomunu oluşturan, 5000 türü ve 5 milyon geni kapsayan 10^{14} bakterinin, B ve K vitaminlerinin sentezinde, kalsiyum ve D vitamini emiliminde görev aldığı gösterilmiştir. Bağırsak mikrobiyomu, bağırsak mukozasında bariyer oluşturur. Th 17 lenfositler, TNF, IL-17, RANKL yolakları ve NOD1, NOD2, TLR üzerinden bağışıklık sistemini modüle eder. Ayrıca bağırsak mikrobiyotasının, duyu durumunun regülasyonunda, hormonların üretiminde ve hormon salınımının düzenlenmesinde etkisi vardır. Yapılan bazı çalışmalarda bağırsak mikrobiyomu, obezite, otizm ve multipl skleroz ile de ilişkilendirilmiştir (18-28).

Mikrobiyota ve Osteoporoz İlişkisi

Orwoll ve ark, bağırsakta izlenen bazı bakterilerin çoğunlukta olduğu insanlarda, kemik dansitesinin ve gücünün daha çok olduğunu göstermiştir (29). Jianquan ve ark., postmenopozal osteopenisi ve osteoporozu olan hastaları karşılaştırdıkları çalışmada, osteoporozda bakteri zenginliğinin ve çeşitliliğinin azaldığı gösterilmiştir (30). Schwarzer ve ark. ile Sjögren ve ark. fareler üzerinde yaptığı deneylerde, bağırsak mikrobiotasının, femur uzunluğunun, kortikal kalınlığının artmasına ve kortikal/trabeküler kemik fraksiyonunun önlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (31,32).

Mikrobiyotanın Vitamin ve Mineraller Üzerindeki Etkisi

Kalsiyum (Ca), Fosfat (P) ve Mikrobiyota

Kemik metabolizmasında önemli bir yeri olan kalsiyumun, diyet ile yetersiz alımı veya bağırsaktan yetersiz emilimi, kemik kütlelerinde azalmaya ve osteoporozu neden olur (33). Diyetle kalsiyum alımıyla, gastrin salınımı ve mide asidi artar. Bu etki antimikrobiyaldır, canlı bakteri sayısını azaltır. Safra salınımını uyararak kolon pH'ını düzenler. Bağırsak epiteline zarar veren sitotoksik molekülleri ve GLP-2 üzerinden bakteriyel translokasyonunu, bağırsak geçirgenliğini azaltır, bağırsakların mukozal hasarını önler. Ayrıca, kalsiyum fosfat bileşikler *Salmonella* gibi patojenlere doğrudan bağlanarak gayta ile atılır. Böylece, *Laktobasillerin* (yararlı bakterilerin) lehine, bağırsak mikrobiotasının modülasyonunu sağlar (34).

Kalsiyum takviyesi için kullanılan; kalsiyum glukonat (HGCa), inorganik kalsiyum (CaCO_3) ve kalsiyum laktat gibi iyonize moleküller kalsiyum fosfat oluşturduğu için biyoyararlanımı azdır. Kalsiyum biyoyararlanımını maksimuma çıkaracak moleküller aranmaktadır. Hua ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (35), *Chlorella pyrenoidosa* protein hidrolizati (CPPH) gibi probiyotiklerin vücut ağırlığını, kemik aktivitesini, kemik mineral yoğunluğunu artırdığı, serum alkalen fosfatazi (ALP) azalttığını ve kemikteki morfolojik değişikliklerini inhibe ettiğini, ayrıca bağırsak mikrobiotasının baskın suşları, *Lactobacillus*, *Bifidobacteriumu* arttırarak, bağırsaktan kalsiyum absorpsiyonunu da arttırdığını göstermiştir. Yani mevcut çalışmalar, kalsiyum alımının, bağırsak mikrobiyomunu oluşturan bakterileri olumlu etkilediği, bakterilerin de bağırsaklardan kalsiyum emilimini arttırdığını göstermektedir.

D vitamini ve Mikrobiyota

D vitamini, diyet ile bitkisel (D2) ya da hayvansal (D3) gıdalardan alınabilir ve güneş ışığının etkisiyle 7-dehidrokolesterolden endojen olarak da sentezlenebilir. Karaciğerde 25-OH vitamin D'ye dönüştükten sonra, böbreğe gelerek aktif formu olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'e dönüşür. Aktif D vitamini bağırsaktan kalsiyum ve fosfat emilimini sağlar. Kalsiyum ile beraber kullanıldığında osteoporozun önlenmesinde oldukça etkilidir (36). Diyet ile D vitamini alınması, *Actinobacteria*, *Bacteroides*, *Firmicutes* gibi bağırsak flora bileşenlerinin artmasına neden olur (37). Ayrıca, *Lactobacillus* bağırsaklarda D vitamini reseptörü gen ekspresyonunu arttırarak D vitamini emilimine yardımcı olur.

Mikrobiyotanın Hormonlar Üzerindeki Etkisi

Leptin ve Mikrobiyota

Adipöz dokudan salgılanan, leptin gibi sitokinlerin, postmenopozal dönemde kemik koruyucu olduğu bilinmektedir. Leptin, OPG seviyesini arttırır, osteoblast farklılaşmasını destekler, osteoklast aktivitesini azaltır (38-40). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* miktarı ile serum leptin ve ghrelin düzeylerinin korele olduğu gösterilmiştir (41, 42).

Östrojen ve Mikrobiyota

Kemiği koruyan temel hormonlardan östrojenin konjuge formu safra ile atılarak bağırsaklara ulaşır. Bağırsak mikrobiotasından salınan β -glukuronidaz yardımı ile östrojen, konjuge formundan dekonjuge formuna dönüşür. Östrojenin aktif hali, dekonjuge östrojen, bağırsaklardan emilerek tekrar dolaşıma geçer. Etki edeceği meme, uterus, vajen gibi yakın ve uzak organlara ulaşır (43). Ayrıca düşük östrojen düzeylerinde, bağırsaktaki mikroorganizma çeşitliliğinin azaldığı bilinmektedir. Yani, bağırsak mikrobiotası östrojenin etkinliğini arttırırken, östrojen de bağırsak mikrobiotasının çeşitliliğini arttırır (44, 45).

Parathormon (PTH) ve Mikrobiyota

Menopozda, östrojenin azalmasına bağlı olarak, bağırsaktan ve böbrekten kalsiyum emilimi azalır, PTH ve kemik rezorpsiyonu artar (46). PTH, bağışıklık sistemi ve kemik dokunun sinyal yollarıyla kemik dansitesini düzenler (47). Parathormonun sürekli salınımı (sPTH) osteoklast aktivitesini, aralıklı salınması (aPTH) ise osteoblast aktivitesini arttırır (48, 49). Yu ve ark. takson segmentli filamentli bakteriler tarafından zenginleştirilmiş fareler ile mikropsuz fareleri kullanarak yaptıkları çalışmada, PTH'un yalnızca mikrobiyotası Th17 hücre indükleyici takson segmentli filamentli bakteriler tarafından zenginleştirilmiş farelerde kemik kaybına neden olduğunu göstermiştir (50). Li ve ark. butiratın, kemik oluşumunu uyarmak için osteoblastik hücrelerde Wnt sinyalini aktive ettiğini bulmuştur (51). Bu bulgular, mikrobiyotanın PTH etkilerini değiştirebileceğini göstermekle beraber, daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1) ve Mikrobiyota

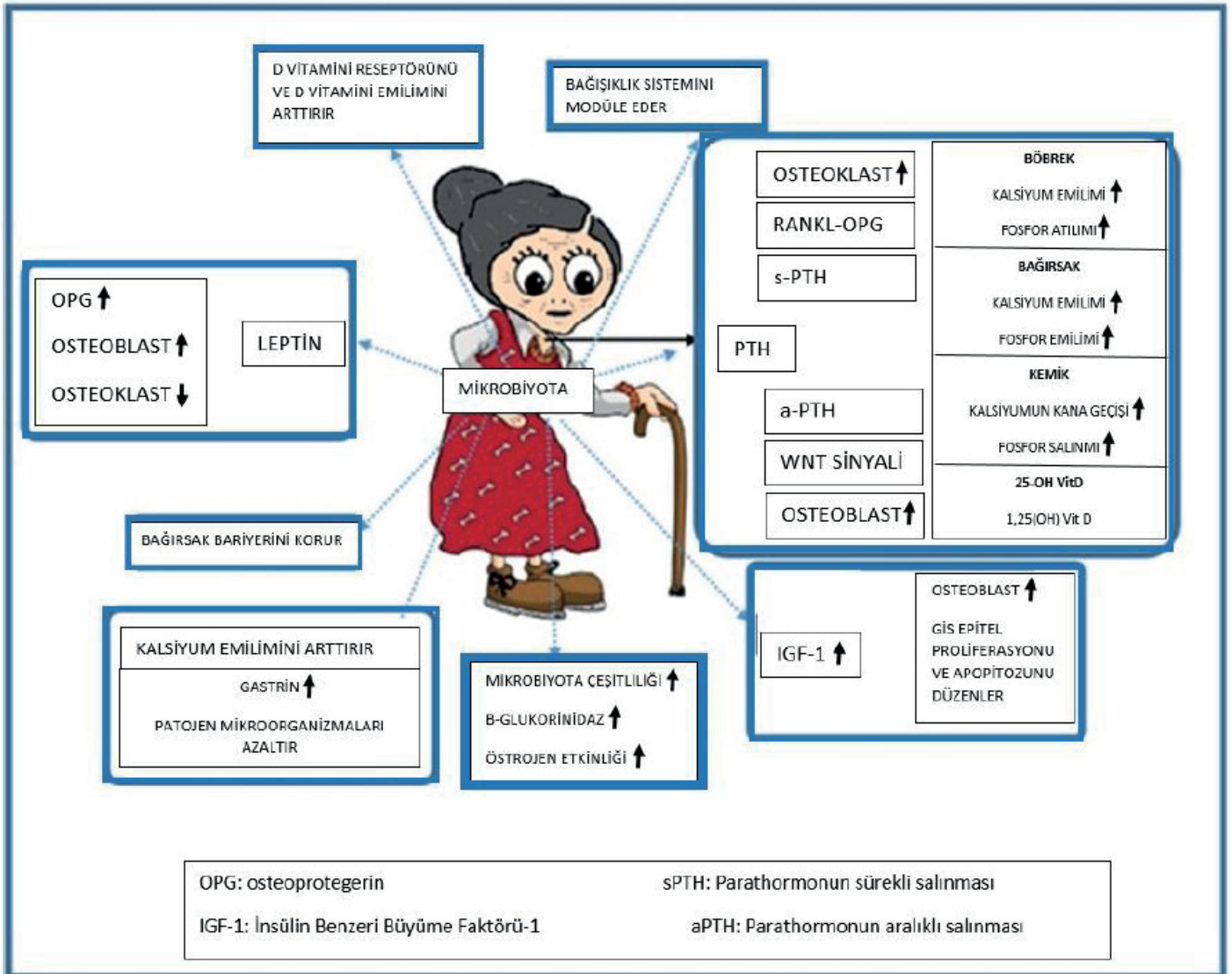
En çok karaciğer tarafından üretilen, polipeptid yapıdaki IGF-1, büyüme hormonu (GH) ile birlikte doku büyümesini uyarır. Mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü destekler ve osteoblast oluşumunu, farklılaşmasını sağlamak için doğrudan osteoblastlar üzerindeki IGF-1 reseptörüne bağlanır (52, 53). IGF-1, gastrointestinal sistemin epitel

hücrelerinin proliferasyonunu ve apoptozunun düzenlenmesine yardımcı olur (54). Yan ve ark. (55) antibiyotik tedavisi ile bağırsak mikrobiyotası azaltılan farelerde serum IGF-1'in azaldığını ve kemik oluşumunun engellendiğini göstermiş, daha sonra farelerden bir grup ayrılarak, mikrobiyal metabolizma ürünleri olan kısa zincirli yağ asitleri ile gıda takviyesi verildiğinde, IGF-1'i ve kemik kütlesinin antibiyotikle tedavi edilmeyen farelerle aynı düzeyde olduğunu göstermişlerdir. Bu da bağırsak mikrobiyomunun ve metabolitlerin, kemik sağlığını ve büyümesine katkıda bulunduğunu göstermiştir (Şekil 1).

Prebiyotikler ve Probiyotikler

Prebiyotikler, insanlar tarafından sindirilemeyen besinlerdir. Prebiyotikler ve probiyotikler, mikrobiyotayı etkileyebilir ve değiştirebilir (44,56). Prebiyotik gıdaların, bağırsak mikrobiyomunu zenginleştirdiği, bağırsaklardan D vitamininin

ve kalsiyum, magnezyum gibi minerallerin emilimini arttırdığı, kemik kaybını azalttığı bildirilmiştir (57-63). Ayrıca Lambert ve ark. seçici östrojen reseptör afinitesine sahip biyoyararlı izoflavonların ve probiyotiklerin, postmenopozal osteopenik kadınlarda kemik durumunu ve östrojen metabolizmasını iyileştirdiğini göstermiştir (64). Bu sebeplerle, prebiyotiklerin ve probiyotiklerin osteoporozun önlenmesinde ve tedavisinde etkili olduğu söylenebilir. Bağırsak florasının dengelenmesi için üzerinde çalışılan bir diğer konu fekal transplantasyondur. Liu ve ark. sağlıklı çocuklardan elde edilen bağırsak mikrobiyomunu, ooferektomi yapılan farelere transfer ettiklerinde, kemik kaybını önlediğini, kemik metabolizmasını değiştirdiğini gözlemlemişlerdir (65). Şu anda osteoporoz tedavisi için insana böyle bir tedavi uygulanmamış olsa da bağırsak mikrobiyotasının metabolitlerinin araştırılması devam etmelidir.



Şekil 1. Mikrobiyotanın kemik metabolizması üzerine etkisi

Vajen Mikrobiyotası ve Osteoporoz

Çoğu kadının vajen florasında *Lactobacillus* baskın olarak bulunur (66). Mikroorganizmaların dengesinin bozulması pelvik enflamatuvar hastalık, endometrit gibi hastalıklara, gebelerde erken membran rüptürü ve preterm doğuma sebep olmaktadır (67,68). Vajen mikrobiyomunun osteoporoz üzerindeki etkisini gösteren çalışmalar oldukça azdır. Yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus plantarum* NK3 ve *Bifidobacterium longum* NK49'un NF- κ B-Bağlı TNF- α ekspresyonunu bastırarak, farelerde bakteriyel vajinozis ve osteoporozu hafiflettiği gösterilmiştir (69). Osteoporoz ve vajen mikrobiyotasının ilişkisinin açıklanması için daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Dünyada yaşlı nüfusunun artması ile birlikte osteoporoz artmakta, osteoporozun önlenmesinde ve tedavisinde mevcut uygulamalar yetersiz kalmaktadır. Mikrobiyotanın osteoporoz üzerinde etkileri olduğunu gösteren çalışmalar olmasına karşın akıllarda bazı soru işaretleri vardır. Mikrobiyotayı oluşturan mikroorganizmalar, başka hangi hastalıklara, hangi mekanizmalarla etki eder? Prebiyotik ve probiyotik gıda takviyesi verilmeli midir? Kimlere verilmelidir? Yaşlı bireylerde, bakım evlerinde kalanlarda, sedanter yaşam tarzı olanlarda, kronik rahatsızlığı olanlarda diyet nasıl düzenlenmelidir? Bu soruların cevapları hala merak konusudur. Mikrobiyotanın osteoporozun önlenmesinde ve tedavisindeki yeri daha çok araştırılmalıdır.

Yazar katkısı

Araştırma fikri ve tasarımı: MA, GEÇ ve YÜ; veri toplama: MA, GEÇ ve YÜ; sonuçların analizi ve yorumlanması: MA, GEÇ ve YÜ; araştırma metnini hazırlama: MA, GEÇ ve YÜ. Tüm yazarlar araştırma sonuçlarını gözden geçirdi ve araştırmanın son halini onayladı.

Finansal destek

Yazarlar araştırma için finansal bir destek almadıklarını beyan etmiştir.

Çıkar çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Author contribution

Study conception and design: MA, GEÇ, and YÜ; data collection: MA, GEÇ, and YÜ; analysis and interpretation of results: MA, GEÇ, and YÜ; draft manuscript preparation: MA, GEÇ and YÜ. All authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

Funding

The authors declare that the study received no funding.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Kaynaklar

1. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science*. 2000;289(5484):1504-8.
2. Babür C, Özcan G. OPG/RANK/RANKL'in periodontolojideki yeri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2010;27(2):137-44.
3. Chen X, Wang Z, Duan N, Zhu G, Schwarz EM, Xie C. Osteoblast-osteoclast interactions. *Connect Tissue Res* 2018;59(2):99-107.
4. McCloskey E, Rathi J, Heijmans S, et al. The osteoporosis treatment gap in patients at risk of fracture in European primary care: a multi-country cross-sectional observational study. *Osteoporos Int* 2021;32(2):251-259.
5. Fraser L-A, Langsetmo L, Berger C, et al. Fracture prediction and calibration of a Canadian FRAX® tool: a population-based report from CaMos. *Osteoporos Int* 2011;22(3):829-37.
6. Society NAM. Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2006 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause* 2006;13(3):340-367.
7. Gelmeli D, İmamoğlu N. Osteoporoz, tedavi şekilleri ve farmakolojik tedavisindeki güncel gelişmeler. *Bitirme Ödevi, TC Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri*. 2013.
8. Watts NB, Bilezikian JP, Camacho PM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis: executive summary of recommendations. *Endocr Pract* 2010;16(6):1016-1019.
9. Hochberg MC, Greenspan S, Wasnich RD, Miller P, Thompson DE, Ross PD. Changes in bone density and turnover explain the reductions in incidence of nonvertebral fractures that occur during treatment with antiresorptive agents. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(4):1586-92.
10. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012 May 9;486(7402):222-227.
11. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature* 2007 Oct 18; 449(7164): 804–810.
12. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012 Jun 13;486(7402):207-214.
13. Derrien M, Alvarez A-S, de Vos WM. The gut microbiota in the first decade of life. *Trends Microbiol* 2019;27(12):997-1010.
14. Shardell M, Parimi N, Langsetmo L, et al. Comparing analytical methods for the gut microbiome and aging: gut microbial communities and body weight in the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2020;75(7):1267-1275.
15. Buford TW. The gut microbiome and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2020; 75(7):1229-1231.

16. Langsetmo L, Johnson A, Demmer R, et al. The association between objectively measured physical activity and the gut microbiome among older community dwelling men. *J Nutr Health Aging* 2019;23(6):538-546.
17. Ismail NA, Ragab SH, Abd ElBaky A, Shoeib AR, Alhosary Y, Fekry D. Frequency of Firmicutes and Bacteroidetes in gut microbiota in obese and normal weight Egyptian children and adults. *Arch Med Sci* 2011;7(3):501-507.
18. Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut* 2020;69(12):2232-2243.
19. Van Wijngaarden J, Doets E, Szczecińska A, et al. Vitamin B12, folate, homocysteine, and bone health in adults and elderly people: a systematic review with meta-analyses. *J Nutr Metab*;2013:486186.
20. Tsugawa N, Shiraki M. Vitamin K nutrition and bone health. *Nutrients* 2020;12(7):1909.
21. Locantore P, Del Gatto V, Gelli S, Paragliola RM, Pontecorvi A. The interplay between immune system and microbiota in osteoporosis. *Mediators Inflamm* 2020 Feb 26;2020:3686749. doi: 10.1155/2020/3686749. *Mediators Inflamm* 2020 Feb 26;2020:3686749. doi: 10.1155/2020/3686749.
22. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012;13(10):701-712.
23. D'amelio P, Sassi F. Osteoimmunology: from mice to humans. *Bonekey Rep* 2016;18(5):802.
24. Seely KD, Kotelko CA, Douglas H, Bealer B, Brooks AE. The human gut microbiota: a key mediator of osteoporosis and osteogenesis. *Int J Mol Sci* 2021;22(17):9452.
25. Zhang Y, Huang X, Sun K, Li M, Wang X, Han T, et al. The Potential Role of Serum IGF-1 and Leptin as Biomarkers: Towards Screening for and Diagnosing Postmenopausal Osteoporosis. *J Inflamm Res* 2022;15:533-543.
26. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 2011;474(7351):327-336.
27. Xu Q, Li D, Chen J, et al. Crosstalk between the gut microbiota and postmenopausal osteoporosis: Mechanisms and applications. *Int Immunopharmacol* 2022;110:108998.
28. Wang J, Wang Y, Gao W, et al. Diversity analysis of gut microbiota in osteoporosis and osteopenia patients. *PeerJ* 2017;5:e3450. doi: 10.7717/peerj.3450.
29. Orwoll ES, Parimi N, Wiedrick J, et al. Analysis of the Associations Between the Human Fecal Microbiome and Bone Density, Structure, and Strength: The Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Cohort. *J Bone Miner Res* 2022;37(4):597-607.
30. He J, Xu S, Zhang B, et al. Gut microbiota and metabolite alterations associated with reduced bone mineral density or bone metabolic indexes in postmenopausal osteoporosis. *Aging (Albany NY)* 2020;12(9):8583-8604.
31. Schwarzer M, Makki K, Storelli G, et al. Lactobacillus plantarum strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition. *Science* 2016;351(6275):854-857.
32. Sjögren K, Engdahl C, Henning P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice. *J Bone Miner Res* 2012;27(6):1357-1367.
33. Cashman K. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *Br J Nutr* 2002;87 Suppl 2:S169-77.
34. Gomes J, Costa J, Alfenas R. Could the beneficial effects of dietary calcium on obesity and diabetes control be mediated by changes in intestinal microbiota and integrity? *Br J Nutr* 2015;114(11):1756-1765.
35. Hua P, Xiong Y, Yu Z, Liu B, Zhao L. Effect of chlorella pyrenoidosa protein hydrolysate-calcium chelate on calcium absorption metabolism and gut microbiota composition in low-calcium diet-fed rats. *Mar Drugs* 2019;17(6):348.
36. Liu C, Kuang X, Li K, Guo X, Deng Q, Li D. Effects of combined calcium and vitamin D supplementation on osteoporosis in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Funct* 2020;11(12):10817-10827.
37. Bellerba F, Muzio V, Gnagnarella P, et al. The association between vitamin D and gut microbiota: a systematic review of human studies. *Nutrients* 2021;13(10):3378.
38. Yamauchi M, Sugimoto T, Yamaguchi T, et al. Plasma leptin concentrations are associated with bone mineral density and the presence of vertebral fractures in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55(3):341-347.
39. Głogowska-Szeląg J, Kos-Kudła B, Marek B, Nowak M, Siemińska L. Assessment of selected adipocytokines in obese women with postmenopausal osteoporosis. *Endokrynol Pol* 2019;70(6):478-483.
40. Legiran S, Brandi ML. Bone mass regulation of leptin and postmenopausal osteoporosis with obesity. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2012;9(3):145-149.
41. Queipo-Ortuño MI, Seoane LM, Murri M, et al. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. *PLoS One* 2013;8(5):e65465.
42. Bizzoca D, Solarino G, Vicenti G, et al. Novel directions in the study of osteoporosis: Focus on gut microbiota as a potential therapeutic target. *J Biol Regul Homeost Agents* 2020;34(4 Suppl. 3):29-35.
43. Baker JM, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz MM. Estrogen-gut microbiome axis: physiological and clinical implications. *Maturitas* 2017;103:45-53.
44. Sui Y, Wu J, Chen J. The Role of Gut Microbial β -Glucuronidase in Estrogen Reactivation and Breast Cancer. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:631552.
45. Lephart ED, Naftolin F. Estrogen Action and Gut Microbiome Metabolism in Dermal Health. *Dermatol Ther (Heidelb)* 2022;12(7):1535-1550.
46. Prince R, Dick I, Garcia-Webb P, Retallack R. The effects of the menopause on calcitriol and parathyroid hormone: responses to a low dietary calcium stress test. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70(4):1119-1123.
47. Kermgard E, Chawla NK, Wesseling-Perry K. Gut microbiome, parathyroid hormone, and bone. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2021;30(4):418-423.



48. Dempster DW, Cosman F, Kurland ES, et al. Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner Res* 2001;16(10):1846-1853.
49. Locklin RM, Khosla S, Turner RT, Riggs BL. Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *J Cell Biochem* 2003;89(1):180-190.
50. Yu M, Malik Tyagi A, Li J-Y, et al. PTH induces bone loss via microbial-dependent expansion of intestinal TNF+ T cells and Th17 cells. *Nat Commun* 2020;11(1):468.
51. Li J-Y, Yu M, Pal S, et al. Parathyroid hormone-dependent bone formation requires butyrate production by intestinal microbiota. *J Clin Invest* 2020;130(4):1767-1781.
52. Rosen CJ. IGF-I and osteoporosis. *Clin Lab Med* 2000;20(3):591-602.
53. Locatelli V, Bianchi VE. Effect of GH/IGF-1 on bone metabolism and osteoporosis. *Int J Endocrinol* 2014;2014:235060.
54. Kuemmerle JF. Insulin-like growth factors in the gastrointestinal tract and liver. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2012;41(2):409-423.
55. Yan J, Herzog JW, Tsang K, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(47):E7554-E7563.
56. Zeng L, Yu G, Yang K, Hao W, Chen H. The improving effect and safety of probiotic supplements on patients with osteoporosis and osteopenia: A systematic review and meta-analysis of 10 randomized controlled trials. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021;2021:9924410.
57. Pawlowski JW, Martin BR, McCabe GP, et al. Impact of equol-producing capacity and soy-isoflavone profiles of supplements on bone calcium retention in postmenopausal women: a randomized crossover trial. *Am J Clin Nutr* 2015;102(3):695-703.
58. Whisner CM, Martin BR, Nakatsu CH, et al. Soluble corn fiber increases calcium absorption associated with shifts in the gut microbiome: a randomized dose-response trial in free-living pubertal females. *J Nutr* 2016;146(7):1298-1306.
59. García-Vieyra MI, Del Real A, López MG. Agave fructans: their effect on mineral absorption and bone mineral content. *J Med Food* 2014;17(11):1247-1255.
60. Rivera-Huerta M, Lizárraga-Grimes VL, Castro-Torres IG, et al. Functional effects of prebiotic fructans in colon cancer and calcium metabolism in animal models. *Biomed Res Int* 2017;2017:9758982.
61. Bryk G, Coronel MZ, Lugones C, et al. Effect of a mixture of GOS/FOS® on calcium absorption and retention during recovery from protein malnutrition: experimental model in growing rats. *Eur J Nutr* 2016;55(8):2445-2458.
62. Jafarnejad S, Djafarian K, Fazeli MR, Yekaninejad MS, Rostamian A, Keshavarz SA. Effects of a multispecies probiotic supplement on bone health in osteopenic postmenopausal women: a randomized, double-blind, controlled trial. *J Am Coll Nutr* 2017;36(7):497-506.
63. Ding K, Hua F, Ding W. Gut microbiome and osteoporosis. *Aging Dis* 2020;11(2):438-447.
64. Lambert MNT, Thybo CB, Lykkeboe S, et al. Combined bioavailable isoflavones and probiotics improve bone status and estrogen metabolism in postmenopausal osteopenic women: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2017;106(3):909-920.
65. Liu JH, Chen CY, Liu ZZ, et al. Extracellular vesicles from child gut microbiota enter into bone to preserve bone mass and strength. *Adv Sci (Weinh)* 2021;8(9):2004831.
66. Redondo-Lopez V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev Infect Dis* 1990;12(5):856-872.
67. Martin DH. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. *Am J Med Sci* 2012;343(1):2-9.
68. Wang W, Hao J, An R. Abnormal vaginal flora correlates with pregnancy outcomes: A retrospective study from 737 pregnant women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2022;272:64-68.
69. Kim D-E, Kim J-K, Han S-K, Jang S-E, Han MJ, Kim D-H. Lactobacillus plantarum NK3 and Bifidobacterium longum NK49 alleviate bacterial vaginosis and osteoporosis in mice by suppressing NF-κB-Linked TNF-α expression. *J Med Food* 2019;22(10):1022-1031.