

Tedavi Uygulanmamış Postmenopozal Kadınlarda Free Deoksipiridinolin Düzeyinin Araştırılması

Dr. İnci Küçükercan, Dr. Hatice Gözaydın, Dr. Gülcan Baloğlu, Dr. Asuman Orçun

Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü

Özet

Postmenopozal kemik kaybı derecesinin öngörülmesinde, biyokimyasal belirteçlerin yararlılığı hâlâ tartışılmaktadır. Bu konu ile ilgili, kemik resorpsiyon belirteci olarak yeni kullanılmaya başlanan, idrar Free Deoksipiridinolin (Free DPD) düzeyini, tedavi uygulanmamış postmenopozal 52 kadında çalıştık. Kemik mineral kaybı derecesini, Dual Enerji X-ray Absorbtimetri Yöntemi ile belirledik. Hasta grubunu, Kemik Mineral Dansitometresi (BMD) sonucuna göre, Normal – Osteopenik – Osteoporotik olarak 3'e ayırdık. Ayrıca premenopozal, 30 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu oluşturduk. Çalışmamızda sağlıklı kontrol olgularında Free DPD düzeyi 2.95 ± 0.90 nM DPD/mM Kreatinin olarak, hasta grupta ise 5.91 ± 1.38 nM DPD/mM Kreatinin olarak bulundu ($p < 0.001$). 3 hasta grubunun Free DPD değerlerini birbirleriyle karşılaştırdığımızda, aralarında anlamlı bir fark ($p < 0.0001$) bulunmuştur. Bu bulgulara dayanarak, kemik mineral kaybındaki artma derecesi ile idrar Free DPD düzeyindeki artma arasında anlamlı bir ilişki olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Serbest deoksipiridinolin, osteoporoz

Abstract

Free Deoxyypyridinoline Levels in Untreated Postmenopausal Patients

Biochemical markers in predicting the intensity of postmenopausal bone loss is still being argued. Related with the subject, we examined a newly introduced bone resorption marker, urine free deoxyypyridinoline, in 52 postmenopausal, non-medicated women. We used dual energy X-ray absorptiometry for bone mineral density measurements according to patients' results obtained by bone mineral densitometry (BMD). We classified patients into three groups as normal, osteopenic and osteoporotic. We worked on 30 premenopausal healthy women as our control group. The free DPD levels of healthy controls is found as 2.95 ± 0.90 nm Dpd/mM creatinin, while patients' group had a free DPD level of 5.91 ± 1.38 nM Dpd/mM creatinin ($p < 0.001$). Comparison of three subgroups of patients among themselves showed significant different levels of urine free DPD ($p < 0.0001$). According to these results we can say that bone mineral density loss is significantly related with urine free DPD levels.

Keywords: Free deoxyypyridinoline, osteoporosis

Giriş

Free DPD, iyi tanımlanmış bir kemik resorpsiyon belirtecidir ve üriner ekskresyonu, kemik resorpsiyonunda ortaya çıkan değişiklikler hakkında bilgi sağlar (1-5).

Kemik devamlı, yeniden oluşum (remodeling)

olarak isimlendirilen metabolik bir süreç içindedir. Bu süreç, osteoklastlar aracılığı ile kemik resorpsiyonu ve osteoblastlar aracılığı ile kemik formasyonu olarak bir denge halindedir. Resorpsiyonun formasyondan fazla meydana gelmesi, kemik kitle kaybı ile sonuçlanır. Kemiğin yapısında bulunan Tip 1 kollajen, fibrillerden oluşur. Her

bir fibril, karboksi ve amino terminal uç içermektedir. Tip 1 kollajen bu sonlanma noktaları ile yanındaki fibrilin helical bölümüne piridinium çapraz bağı ile bağlanır. Buradaki amino ve karboksi non-helikol sonlanmalar, sırası ile N-telopeptid (NTX) ve C-telopeptid (CTX) olarak isimlendirilir (5). Tip 1 kollajenin yapısal rijiditesini piridinolin (Pvd) ve DPD'den oluşan 2 piridinium çapraz bağı sağlar (1).

DPD yalnızca Tip 1 kollajende bulunduğundan, hem Tip 1 hem de Tip 2'de bulunan Pvd'den daha spesifiktir. DPD, Tip 1 kollajenin diğer majör rezervuarı olan deride bulunmadığından; aorta, dentin, tendon vb. dokularda bulunan DPD'nin idrara ihmal edilebilir miktarda çıkmasından ve vücutta metabolize olmadan atıldığından, idrar düzeyi tamamen kemik resorpsiyon hızını gösterir (2,4,5). Osteoklastik degradasyon DPD ve Pvd'nin hem serbest hem de peptid bağı formlarının ekskresyonu ile sonuçlanır. Üriner çapraz bağ havuzunun yaklaşık %45'i serbest iken kalan fraksiyon peptid bağı formudur (1). DPD diyetten etkilenmez. Sirkadien ritm gösterir. Pik değere genellikle gece ulaşılır, en düşük düzey öğleden sonra görülür. 24 saatlik idrarda çalışmak bu sorunu ortadan kaldırır. Ancak uygulama kolaylığı nedeniyle, sabah ilk ya da ikinci idrar örneğinde de, saat 10.00'da alınmak koşulu ile, 24 saatlik idrar değerlerine yakın sonuçlar elde edilmiştir (2,4).

Osteoporoz tanı kriterleri, kemik dansite ölçümüne göre belirlenir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) normal kemik kitlesini, azalma ve artmasını şöyle tarif etmiştir (6):

(YAM: Young Adult Mean; Genç Erişkin Ortalaması)

Normal kemik dansitesi: $YAM \pm 1 SD$

Artmış kemik kaybı veya osteopeni:
 $1 - 2.5 SD < YAM$

Osteoporoz: $2.5 SD < YAM$

Kemik dansite ölçümü, son derece klinik önemi olan bir yöntem olmasına rağmen, tedavi etkinliğini güvenilir olarak en aşağı 2-3 yıl geçmeden gösteremediği için, uygulamada belli bir kısıtlama oluşturur. Bu nedenle metabolik durumu daha hızlı gösteren biyokimyasal belirteçler önem kazanmıştır (5,7-10). Free DPD, bu önemli biyokimyasal belirteçlerden biridir. Biz bu çalışmamızda, postmenopozal kadınlarda idrar Free DPD düzeyini ve BMD sonuçları ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

2001 Ağustos-Aralık tarihleri arasında Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Doğum ve Fizik Tedavi Polikliniğine başvuran, minimum 45, maksimum 69 yaşlarında postmenopozal 52 kadın hastayı, kesitsel olarak çalışmaya dahil ettik. Seçilen hastalar hormon replasman tedavisi veya antiresorptiv kemik tedavisi hiç uygulanmamış kişilerden seçilmiştir. Tüm hastalara Dual Enerji X-Ray Absorbtometri yöntemi ile kemik mineral dansitometresi çekilmiştir. Hastalar kemik dansitometre sonucuna göre; normal ($YAM \pm 1 SD$), osteopenik ($1 - 2.5 SD < YAM$) ve osteoporotik ($2.5 SD < YAM$) olarak 3 gruba ayrılmıştır (6). Normal grubun ort. menopoz yaşı 3.8 yıl (1 yıl - 9 yıl), osteopenik grubun 10.2 yıl (1 yıl - 25 yıl), osteoporotik grubun 14 yıldır (3 yıl - 28 yıl). Hastaların Body Mass Index'leri ortalama 27.3 ± 4.2 'dir.

Tablo 1. Normal ve hasta grup Free DPD/Kreatinin (nmol/mmol) karşılaştırılması

	Kontrol Grubu $X \pm SD$ N: 30	Hasta Grubu $X \pm SD$ N: 52	p
Free DPD/Cr	2.95 \pm 0.90	5.91 \pm 1.38	p<0.001

Tüm hastalardan 24 saatlik idrar toplanmıştır. İdrar numunelerinde herhangi bir koruyucu madde kullanılmamıştır (2,4,11). Numuneler laboratuvara ulaştıktan sonra hemen ayrılıp -20 derecede dondurulmuştur.

Kontrol olgularının yaş ortalaması 32±4 olup, kemik dansitometre sonuçları normal olan 30 sağlıklı kadın seçilmiştir. Kontrol grubunun 24 saatlik idrar ortalama±SD Free DPD/kreatinin düzeyleri 2.95±0.90 nmol/mmol olarak bulunmuştur.

Free Deoksipridinolin, Bio-DPC'nin Immulite One cihazında, Prilinks-D kiti (Cat.no: LKPD1) kullanılarak, kompetitif immunassay yöntemi ile çalışılmıştır. İdrar kreatininini ise Roche'un Hitachi 911 cihazında sarkozin oksidaz yöntemi (Cat. no: 1775642) ile çalışılmıştır. Dondurulmuş örnekler çözüldükten sonra santrifüj edilmiş ve oda ısısına getirildikten sonra çalışılmıştır.

Normal – hasta grup kıyaslamasında Mann-Whitney testi kullanılmıştır. Kemik dansitometri sonuçlarına göre 3 gruba ayırdığımız hasta grubu, kendi arasında Kruskal-Wallis nonparametrik Anova testi ile değerlendirilmiştir. Hasta gru-

bun Free DPD sonuçlarının yaş ile korelasyonu Pearson Korelasyon analizi ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Kontrol grubu ile hasta grubun karşılaştırılması sonucu, aralarındaki fark ileri derecede anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$).

Hasta grup BMD sonuçlarına göre 3 gruba ayrılmıştır (5,6). Bu 3 grup arasında, Free DPD sonuçlarına göre anlamlı bir değişkenlik elde edilmiştir ($p<0.0001$). Bu ilişkinin *post hoc* analizi sonucu, özellikle sağlıklı grubun osteoporotik gruptan önemli bir farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p<0.001$). Sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

BMD sonuçlarını geçerli kabul ederek Free DPD testinin osteoporoz göstergesi olarak sensitivite, spesifite, (+) ve (-) prediktif değerleri araştırdık. Referans grubun +/- 1 SD'si cutoff kabul edildiğinde, sensitivite %96, spesifite %79, cutoff +/- 2 SD alınırsa sensitivite ve spesifite sırasıyla %77 ve %100 olmaktadır. Cutoff + 2 SD alındığında, (+) prediktif değer %100, (-) prediktif değer %80 olmaktadır (Tablo 3).

Tablo 2. Sağlıklı, Osteopenik ve Osteoporotik grupların ortalama ± SD değerleri ile bunların tek tek birbirinden farklılığının istatistiksel olarak değerlendirilmesi			
	Sağlıklı (n: 12)	Osteopenik (n: 18)	Osteoporotik (n: 22)
Ort±SD	4.61±0.87	5.77±1.52	6.73±0.80
Sağlıklı		Ort. fark -12.667 p>0.05	Ort. fark -25.091 p<0.001
Osteopenik			Ort.fark -12.424 p<0.05
(Normal Grup: YAM±1 SD, Osteopenik Grup: 1-2.5 SD <YAM, Osteoporotik Grup: 2.5 SD<YAM)			

Tablo 3. Kontrol grubunun Free DPD sonuçlarının 1 SD ve 2 SD üst sınırı cutoff kabul edildiğinde, hasta grubun BMD sonuçlarına göre sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktivitesi				
	Sensitivite	Spesifite	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer
1 SD	96	79		
2 SD	77	100	100	80

Hasta grupta Free DPD/yaş korelasyonunu araştırılmış ve yaş ile anlamlı bir artış saptanmıştır ($r=0.6564$, $p<0.0001$).

Tartışma

Kemik turnover belirteçlerinden rezolüsyon belirteçleri, formasyon belirteçlerine göre osteoporotik kemik kaybını ve fraktür riskinde artmayı daha iyi gösterir (12,13). Rezolüsyon belirteçleri üzerine yapılan çeşitli araştırmalarda da özellikle Free DPD'nin CTX ve NTX'e göre daha avantajlı olduğunu ileri sürenler vardır (4,14,15). Buradan yola çıkarak, Free DPD'nin idrar düzeyinin kemik resorpsiyonunu göstermede daha sensitif olmasına dayanarak (2,4,5) postmenopozal 52 kadında idrar Free DPD düzeyini araştırdık. Hormon replasman tedavisi, bifosfonat veya kalsitonin tedavisi alan postmenopozal kadınlarda idrar Free DPD düzeyi azaldığından, hasta grubu tedavi almayan kadınlardan seçtik (4,16).

Philip D. Ross ve arkadaşları seçtikleri hasta grubunu (n: 354) ortalama 13 yıl periyodik olarak BMD çekerek takibe almışlar ve sonunda hızlı ve yavaş kemik kaybı gösteren grup olarak 2'ye ayırmışlardır. Free DPD/Cr düzeyleri ortalaması, hızlı kemik kaybı gösteren grupta %17 yüksek bulunmuştur (8). Bizim çalışmamızda hasta grupta BMD sonuçları osteopenik ve osteoporotik çıkanların Free DPD/Cr ortalaması, normal çıkanlardan %34 yüksek bulunmuştur.

Sonuçlar birbirini destekler yönde olup, aradaki fark örneklemin sayısal farklılığından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca Philip D. Ross ve arkadaşlarının çalışma türleri 13 yıllık prospektik bir çalışma iken bizim çalışmamız kesitseldir.

Siebel ve arkadaşları 150 hasta ve 126 sağlıklı kontrol olgusunda yaptıkları çalışmada hasta grubu 3'e ayırmışlardır: Osteoporozu olup östrojen tedavisi alanlar, osteoporozu olup tedavi almamışlar ve postmenopozal sağlıklı kadınlar. Tüm olguların Osteocalcin (Ocn), Tartarat-rezistan Asit Fosfataz (TRAP), Hidroksiprolin (HP), idrar kalsiyumu, total PYD ve total DPD testleri

yapılmıştır. Bu 3 grup, hem kendi aralarında hem de kontrol grubu ile kıyaslanmış; yalnızca 2. ve 3. grubun kontrol grubu ile kıyaslanmasında total DPD, total PYD ve idrar kalsiyumu açısından anlamlı bir fark bulunmuştur. Siebel ve arkadaşları kemik turnover'ini en iyi gösteren belirteç olarak total DPD'yi göstermişlerdir (17).

De la Piedra C. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada DPD'nin osteoporoz göstergesi olarak sensitivitesini %79, spesifitesini %100 bulmuşlardır (18). Bizim çalışmamızda kontrol grubu + 2 SD cutoff alındığında sensitivite %77, spesifite %100 olarak bulunmuştur. De la Piedra ve arkadaşları çalışmaları sonucunda, DPD'nin osteoporoz için yüksek tanı doğruluğu göstermesine rağmen, diğer birçok hastalık ve koşulda düzeyi arttığından tek başına osteoporoz tanısında kullanılamayacağı sonucuna varmışlardır. Ancak DPD'nin değerli bir rezolüsyon belirteci olması nedeniyle bu konudaki araştırmaların devam edeceğini söylemişlerdir.

Çalışmamızda Free DPD düzeyinin yaş ile korele bir şekilde arttığını gördük. Postmenopozal kadınlarda yapılan birçok çalışmada, kemik turnover belirteçlerinin hem ortalama değerden daha yüksek olduğu, hem de yaş ile arttığı gösterilmiştir (9,14,15).

Son yıllarda kemiğin metabolik durumunu BMD'den daha hızlı gösteren biyokimyasal belirteçlere ilgi artmıştır. Çalışmamızda bu belirteçlerden Free DPD düzeyini, postmenopozal hiç tedavi almamış kadınlarda BMD sonuçları ile karşılaştırdık. Bulgularımıza dayanarak, kemik mineral kaybındaki artma derecesi ile idrar Free DPD düzeylerindeki artma arasında anlamlı bir ilişki olduğunu söyleyebiliriz.

Kaynaklar

1. Ganero P, Delmas PD. Clinical usefulness of markers of bone remodelling in osteoporosis. *Osteoporosis: diagnosis and management*. 1998; 79-101.
2. Ju H-SJ, Leung S, Brown B, et al. Comparison of analytical and biological variability of three bone resorption assays. *Clin. Chem* 1997;43:1570-6.

3. Roux JP, Arlot ME, Gineyts E, et al. Automatic – interactive measurement of resorption cavities in transiliac bone biopsies and correlation with deoxyypyridinoline. *Bone* 1995;17:153-6.
4. Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1997;12:59-65.
5. Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: An overview. *Clin Biochemistry* 1997;Vol 30(No. 8):573-93.
6. Consensus Development Conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993;94: 646-50.
7. Consensus Development Statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos.Int* 1997;7:1-6.
8. Ross PD and William Knowlton. Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers. *J Bone Miner Res* 1998;Vol 13(Number 2):297-302.
9. Miller PD, Baran DT, Bilezikian JP, et al. Practical clinical application of biochemical markers of bone turnover. *Journal of Clinical Densitometry* 1999;Vol 2(N o 3):323-42.
10. Arnaud CD. Osteoporosis: using 'bone markers' for diagnosis and monitoring. *Geriatrics* 1996;51(Apr):24-30.
11. Garnero P, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, et al. Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the ofely study. *J Bone Miner Res* 1999;Vol 14(Number 9):1614-21.
12. Garnero P, Hausherr E, Chapuy M-C, et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the epidos prospective study. *J Bone Miner Res* 1996;11:1531-8.
13. Van Daele PLA, Seibel MJ, Burger H, et al. Case-control analysis of bone resorption markers, disability, and hip fracture and hip fracture risk: The Rotterdam study. *Br Med J* 1996;312:482-3.
14. Melton LJ, Khosla S, Atkinson EJ, et al. Relationship of bone turnover to bone density and fractures. *J Bone Miner Res* 1997;12:1083-91.
15. Ganero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, et al. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J.Bone Miner Res* 1996;11:337-49.
16. Ganero P, Gineyts E, Arbauld P, et al. Different affects of biphosphonate and estrogen therapy on free and peptide-bound bone cross-links excretion. *J Bone Miner Res* 1995;14:641-9.
17. Seibel MJ, Cosman F, Shen V, et al. Urinary hydroxyypyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption and estrogen efficacy in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1993;8:881-9.
18. De La Piedra C, Traba ML, Cabrera CD. New biochemical markers of bone resorption in the study of postmenopausal osteoporosis. *Clin Chim Acta* 1997;265:225-34.