

# Osteoporoz Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Göstergeler

## Biochemical Markers and Their Affecting Factors in Assessing Osteoporosis

Yeşim Tekin\*

A. Erkin Bozdemir\*\*

Burcu Barutçuoğlu\*\*

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

\*Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*Klinik Biyokimya Bilim Dalı

### ÖZET

Osteoporoz, kas-iskelet sisteminin en sık ve en ciddi hastalıklarından biridir. Dünya genelinde yaşlı populasyonun artmasına bağlı olarak osteoporoz büyüyen bir problem haline gelmiştir. Hastalığın başlangıcı sessiz ve sinsi olduğundan, tanı genellikle kırık gibi önemli hasarlardan sonra konulabilmektedir. Bu nedenle erken tanı için duyarlı ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi çok önem taşımaktadır. Serum ve idrarda bazı biyokimyasal kemik yapım ve yıkımına ait göstergeler geliştirilmiş olup, bunlar osteoporozda kemik kaybının, yapımının ve tedavi etkinliğinin takibinde kullanılmaktadır. Gelecekte biyokimyasal göstergeler kırık riskinin belirlenmesinde de önemli bilgiler sağlayabilecektir.

**Anahtar Sözcükler:** Osteoporoz, kırık, osteoblast, osteoklast

### ABSTRACT

Osteoporosis is one of the most common and serious disease of the musculoskeletal system. Due to the aging of the population osteoporosis is becoming a growing problem throughout the world. The onset of the disease is silent and insidious with the diagnosis often only being made after there is irreversible damage resulting from a fracture. Thus it is highly desirable to develop sensitive and reliable methods for the early diagnosis. Several serum and urine biochemical markers of bone resorption and formation have been developed and can be served for monitoring bone loss, bone reformation and the effectiveness of therapy in patients of osteoporosis. In the future biochemical markers may provide important information on fracture risks as well.

**Key Words:** Osteoporosis, fracture, osteoblast, osteoclast

### GİRİŞ

Osteoporoz; osteoklastlar tarafından gerçekleştirilen kemik yıkımı ile osteoblastlar tarafından gerçekleştirilen kemik oluşumunun dengesizliğine dayanan bir hastalıktır. Hem endojen hem de çevresel faktörleri içeren patofizyolojisi ile osteoporoz multifaktöriyel, yavaş seyirli ancak sürekli bir olaydır. Kemik

kütlesindeki azalma ve mikroartiküler dejenerasyon sonucu kemiklerde ağrı ve kırıklar meydana gelir (1,2).

Kemik yoğunluğunun ölçülmesinde kantitatif bilgisayarlı tomografi, radyografik absorpsiyometri, kantitatif ultrason, dual enerji x-ray absorpsiyometri (DEXA) gibi değişik yöntemler kullanılmakta olup DEXA'nın osteoporoz

tanısında altın standard olduğu yönünde fikir birliği bulunmaktadır (3).

Kemik yıkımı, osteoklastlar tarafından kemik yüzeyinin bölgesel olarak asiditesinin artırılması ve proteinazların salınması ile yürütülmektedir. Kemik yıkımında bir yandan kalsiyum ve fosfor açığa çıkarken bir yandan da osteoklastlar kemik tip 1 kollajenini parçalarlar. Kollajenin parçalanması ile açığa çıkan peptid dizileri serum ve idrarda ölçülerek tüm iskelet sisteminin kemik yıkım hızı tespit edilmeye çalışılmaktadır (4). Yeni kemik yapımı sırasında kollajen sentezi artmakta ve osteoblastik aktivite ile oluşan kemik matriks proteinleri açığa çıkmaktadır.

Osteoporoz tanısı kemik yoğunluğunun klinik olarak değerlendirilmesine, eşlik eden risk faktörlerine ve radyolojik ölçümlere dayanmaktadır. Tanının konmasından sonra hastaların seçimi ve tedaviye uyum ve cevabın değerlendirilmesi biyokimyasal göstergeler ile yapılmaktadır. Kemik yoğunluğu ölçümü ile kıyaslandığında, biyokimyasal parametreler kemik dönüşümünü daha hızlı yansıtmaktadırlar. Örneğin tedavinin etkisi biyokimyasal parametreler ile 4 haftada saptanmaya başlarken, kemik yoğunluğu ölçümü ile bu süre 6-12 aya kadar uzayabilmektedir.

Son on yılda, kemiğin yeniden yapılanma sürecini inceleyen bilimsel araştırmaların artması, osteoporozun tanı ve tedavisinde yeni yardımcı araçların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu araçlar ölçülen biyokimyasal parametrelerdir ve epidemiyolojik ve terapötik araştırmalarda çok etkili oldukları gösterilmiştir. Uzun süreli klinik çalışmalarda biyokimyasal parametreler ile beraber kemik dansitesi ölçümünün kemik kaybının göstergesi olarak en yüksek prediktif değer taşıyan yöntem olduğu öne sürülmüştür.

#### **KEMİKTE TIP 1 KOLLAJEN METABOLİZMASI**

Tip 1 kollajen, kemikte hidroksiprolin ve hidroksilizin içeren iki -1 ve bir -2 kollajen polipeptid olan prokollajenden oluşur. Prokollajen, osteoblasttan salınırken amino ter-

minal ve karboksi terminal uçları ekstraseküler endoproteinazlar aracılığı ile uzaklaştırılır. Tip 1 kollajenin amino ve karboksiterminal uçlarından koparılan bu propeptidler sırasıyla aminoterminal prokollajen propeptid (PINP) ve karboksiterminal prokollajen propeptidi (PICP) olarak isimlendirilmekte ve kemik yapımı sırasında kollajen sentezini yansıtmaktadırlar (4,5).

Farklı tip 1 kollajen moleküllerindeki hidroksilizin rezidülerinden, uçlarda bulunan üç tanesi piridinyum halkasını oluştururlar. Oluşan piridinyum çapraz bağları ile üç tane tip 1 kollajen birbirine bağlanarak tip 1 kollajenin yapısı sağlamlaşır. Üç hidroksilizin yan zincirleri birleşerek (hidroksilzilpiridinolin) piridinolin çapraz bağları (6) ve iki hidroksilizin yan zincirleriyle bir lizin yan zinciri birleşerek (lizilpiridinolin) deokspiridinolin çapraz bağları (7) oluşmaktadır.

Kemikte N-telopeptid bölgesindeki piridinyum çapraz bağları -1 ve -2 tip 1 kollajen polipeptidini birbirine bağlar (8). Diğer dokularda ise piridinyum çapraz bağları -1 ve -1 tip 1 kollajen polipeptidini birbirine bağlar (C-telopeptid). Bu nedenle N-telopeptid kemiğe özgüllüğü daha fazladır. Ek olarak kemik tip 1 kollajenindeki deokspiridinolin çapraz bağlarının üçte ikisi N-telopeptiddir (1). Normal şartlarda kemik döngüsü stabil seyrederken, kemik yıkımı sırasında salınan ürünler katabolizma için gösterge olarak kullanılabilir. Benzer şekilde anabolik fazdaki osteoblastların aktif olarak sentezlediği kollajen ve diğer proteinler de yeni yapılan matriksin göstergesi olarak kullanılabilir.

Yukarıda özetlenen kemik döngüsünün biyokimyasal göstergeleri idrarda ve serumda ölçülebilmektedir. Osteoklastlar kemik yıkımında, osteoblastlar ise yeni kemik oluşumunda görev almakta, bu sırada bir takım son ürünler serbestleşmektedir. Bu son ürünler kemik yapım ve yıkım göstergeleri olmak üzere iki ana grup altında incelenmektedir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Kemik döngüsü göstergeleri (5,9).

İsim	Kısaltma	Kaynak
<b>Kemik Yapımı Göstergeleri</b>		
Kemik spesifik Alkalen Fosfat	BSAP	Osteoblast
Osteokalsin	OC	Osteoblast
Tip I kollajen amino-terminal propeptidi	PINP	Kollajen
Tip I kollajen karboksi-terminal propeptidi	PICP	Kollajen
<b>Kemik Yıkımı Göstergeleri</b>		
Tip I kollajen N-telopeptid çapraz bağları	NTx	Kollajen
Tip I kollajen C-telopeptid çapraz bağları	CTx	Kollajen
Tartarata dirençli asid fosfat	TRAP	Osteoklast
Hidroksiprolin ve Hidroksilizin	Hyp, Hyl	Kollajen
Serbest ve total Piridinolin	Pyr	Kollajen
Serbest ve total Deoksipiridinolin	DPD	Kollajen

Kemik yapımını belirleyen 4 gösterge vardır ve genellikle düzeyleri serumda ölçülmektedir. Tip I kollajen karboksiterminal propeptidi (PICP) ve Tip I kollajen karboksiterminal propeptidi (PINP), kollajen sentezinin yan ürünleridir. Osteokalsin, kemik matriks proteini olup, kemik spesifik alkalen fosfat ise osteoblastlara ait bir enzimdir. Bu yan ürünlerin serum düzeyleri osteoblastik aktiviteyi göstermekte, böylelikle kemik yapımının belirlenmesini sağlamaktadır (10).

Kemik yıkımını belirleyen 6 gösterge kullanılmaktadır. Hidroksiprolin, piridinolin ve deoksipiridinolin kollajen yıkım ürünleridir, karboksi-terminal ve amino-terminal telopeptidler, tip I kollajenin çapraz bağlı telopeptidleridir, tartarata dirençli asid fosfat ise osteoklastlara özgü bir enzimdir. Hidroksiprolin düzeyi idrarda, tartarata dirençli asid fosfat ise serumda ölçülebilirken, diğer göstergeler hem serumda hem de idrarda ölçülebilmektedir (10).

### **KEMİK YAPIM GÖSTERGELERİ**

Kemik yapım göstergeleri, osteoblast gelişiminin değişik evrelerinde direkt veya indirekt olarak aktif osteoblastlardan üretilmektedir. Bu göstergeler osteoblast fonksiyonu ve kemik oluşumu hakkında değişik durumların belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Tüm

kemik yapım gösterge düzeyleri serum ve plazmada ölçülmekte ve biyolojik diurnal varyasyonlardan daha az (%8-12) etkilendiğinden yıkım testlerine göre üstünlük sağlamaktadırlar. Yeniden yapılanma döngüsünde kemik sentezi süreci yıkımdan sonra gerçekleştiğinden yapım göstergeleri ancak 12-16 hafta sonra artış göstermektedir. Tip I kollajen kemik dışı dokularda da bulunduğu için PINP ve PICP yalnızca kemiğe özgü değildir.

**Alkalen Fosfat (ALP):** ALP, Osteoid formasyonu ve mineralizasyonunda önemli rolü olan bir enzimdir. Tüm serum ALP havuzu birkaç dimerik izoformdan oluşmakta ve bu izoformlar barsak, plasenta, kemik, karaciğer ve böbrekten köken almaktadır. Normal karaciğer fonksiyonu olan bir erişkinde serum ALP aktivitesinin %50'si karaciğer, %50'si ise kemik kökenlidir (4). Bu iki ana izoformu ayırt etmek için birçok yöntem (ısı denatürasyonu, presipitasyon, selektif inhibisyon, immunassay) geliştirilmiştir. Tüm bu yöntemler, kemik ALP'si ve karaciğer ALP'si arasında %15-20 oranında çapraz reaksiyon geliştirebilir. Son zamanlarda geliştirilen immunoradyometrik ve enzim immunassay yöntemleri ile serumda kemik ALP ölçümü yaygınlaşmıştır (11). Klinik açıdan incelendiğinde, serum kemik ALP izoenziminin ELISA ile ölçümü daha yüksek özgüllüğe sahiptir ve

osteoporoz için tanısal hassasiyeti arttırmıştır (12,13).

**Prokollajen Tip 1 Propeptidler:** Tip I kollajen kollajenin öncül formudur. Osteoblastlar tarafından tip 1 kollajen sentezi sırasında amino (-N) ve karboksi (-C) propeptidleri ekstrasellüler endopeptidazlar tarafından koparılmaktadır. Serum Tip 1 kollajen karboksi-terminal propeptid (PICP) ve amino-terminal propeptid (PINP) düzeyleri, kemikte osteoblastlar ve bağ dokusundaki fibroblastlarda sentezlenen yeni kollajen sentezindeki değişiklikleri yansıtır (14,15). Plazma total ALP aktivitesi ile serum PICP konsantrasyonu arasında iyi bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Menapozda serum PICP düzeyi %20 oranında artış göstermektedir. Ancak DEXA ile ölçülen sonraki kemik kayıp hızı ile ilişki göstermemektedir. PICP'nin dezavantajı kemik dışı dokularda da gözlenebilmesi ve kemik karaciğer fonksiyon bozukluğu ile tirotoksikoz durumlarında metabolik klirensinin değişimidir.

Her iki propeptid de (PICP, PINP) spesifik poliklonal immunassay yöntemleri ile ölçülebilir. Serum PICP düzeyleri ile kemik oluşumu arasında orta derecede bir korelasyon mevcuttur. PINP'in trimer yapısının ölçümü ise osteoporozda kemik yapımının belirlenmesinde daha duyarlı bir göstergedir (13).

**Osteokalsin (OC):** Osteokalsin, osteoblastlar, odontoblastlar ve az miktarda da hipertrofik kondrositlerden sentezlenen, küçük, hidroksiapatit bağlayan, kemik matriksinde yer alan ve kollajen kaynaklı olmayan bir protein olup sentezi K vitaminine bağımlıdır (16). Proteinin kalsiyum bağlama özelliğini sağlayan üç tane gamma-karboksiglutamik asid (Gla) kalıntısı mevcuttur. Osteokalsin sentesi 1,25-OH Vitamin D3 ile uyarılır. Serum osteokalsin değerinin pubertedeki hızlı iskelet büyümesi ile ilişkisi kuvvetlidir. OC'nin görevi tam olarak bilinmemekle birlikte negatif feedback mekanizması ile kemiğin yeniden yapılandırılmasında görev aldığı düşünülmektedir. Serum Serum osteokalsini

yaşa bağlı olan ve menapozdan sonra kemik döngüsündeki osteoblastik aktiviteyi yansıtır. OC'si spesifik olarak osteoblast fonksiyonunu gösterir, serum düzeyleri kemik yapımı ile koreledir. Ancak peptid hızlı bir şekilde yıkılır ve sağlam peptid yapıları ile OC fragmanları dolaşımında birlikte bulunur. OC fragmanlarının heterojenitesi bu spesifik göstergenin klinik kullanımında kısıtlamalara neden olmaktadır. Sağlam molekülü ve OC fragmanlarını birlikte ölçen yöntemlerin daha stabil olacağı düşünülmektedir. Osteokalsin yapım ve yıkımın dengede olduğu olgularda kemik dönüşüm hızını, dengenin bozulduğu olgularda ise yapımı gösteren değerli bir biyokimyasal parametredir (17).

## KEMİK YIKIM GÖSTERGELERİ

Kemik yıkımının biyokimyasal göstergelerinin ölçümü osteoporoz ve metabolik kemik hastalığı olan kişilerin değerlendirilmesinde yararlıdır. Bunlar osteoporoz hastalarının tanısında kemik dansitometri ölçümünün yerini alamazlar ancak kemik yıkım göstergeleri tedaviye yanıtı belirlemede kemik dansitometrisine göre daha erken etkilenmektedir. Yüksek riskli hastalarda veya çoklu kırığı olan olgularda tedavi başlangıcından sonra yıkım göstergeleri ile izlem, tedavi protokolünün takibi açısından değerlidir. Kemik yıkımını belirleyen testlerin düzeylerinde tedaviden 3-4 hafta sonra %40-50 oranında düşüş gözlenmekte, kemik dansitometrik ölçümler ise tedavi başarısı hakkında ancak 1 yıl sonra bilgi verebilmektedir.

Kemik yıkım göstergelerinin birçoğu kemik kollajen yıkım ürünleridir ancak kemik siyaloproteini ve osteoklast kökenli enzim olan tartarat dirençli asid fosfataz gibi kollajen dışı bazı proteinler de keşfedilmiştir.

### Tip 1 Kollajen N- Telopeptid (NTx) ve Tip 1

**Kollajen C- Telopeptid (CTx):** Komşu kollajen molekülleri arasında oluşan çapraz bağlar, kemik tip 1 kollajeninin stabilize etmekte ve sağlamlaştırmaktadır (18). Çapraz bağlar tip 1 kollajenin aminoterminal ucu ile diğer

moleküldeki pridinolini birbirine bağlamaktadır. Kemik yıkımı sırasında kollajene çapraz bağlarla bağlı telopeptidler olarak isimlendirilen amino- ve karboksi-terminal fragmanları dolaşıma salınmakta ve idrarla atılmaktadır (1). NTx'in artmış konsantrasyonları, aşırı kemik yıkımını göstermektedir. Osteoporoz tedavisinin takibinde, düzeyleri erken evrede etkilendiğinden kullanımı artmıştır. NTx son zamanlarda başta osteoporoz olmak üzere geniş bir kemik hastalığı grubunda kemik yıkım oranını saptayan bir test olarak kabul edilmektedir. NTx'in klinikte kullanım alanları, kemik yıkımı fazla olan osteoporozlu bireylerin saptanarak tedavi planlanması, takibi ve tedavide kullanılan ilaçların doz ayarlanması olarak sıralanabilir. NTx osteoporoz için tanısal bir test olarak değil, tedavi öncesi bazal değeri alınmakta ve sonra tedavi takibi ve değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. İdrar veya serumda NTx ve CTx immunassay yöntemi ile ölçülürler (8). Yapılan çalışmalarda, bifosfonat kullanan hastalarda idrar NTx düzeyi ölçümünün, kemik yıkımı için DPD'den daha iyi bir belirleyici olduğunu göstermiştir. NTx değerleri tedavi başlangıcında anormal ise 4-8 hafta sonra ölçümün tekrarlanması tavsiye edilmektedir. Tedavi ile istenen etki sağlandığında NTx'in 6-12 ayda bir tekrar edilmesi önerilmektedir (13,19,24).

#### **Tartarat Dirençli Asid Fosfataz (TRACP):**

TRACP aktif kemik yıkımı sırasında osteoklastlardan salınan bir enzimdir. Artmış enzim aktivitesi birçok dokudan kaynaklanabilmektedir. Kan alımı sırasında oluşabilecek hemolizden etkilendiğinden yoğun dikkat gösterilmesi gerekmektedir. Tartarat dirençli asid fosfataz TRACP- 5a ve 5b olmak üzere iki alt forma sahiptir. Sadece TRACP-5b karakteristik olarak osteoklastlara özgüdür. Günümüzde TRACP-5b ölçümü için çeşitli immunassay yöntemleri geliştirilmiştir ve osteoklast aktivitesini gösteren spesifik bir gösterge olduğu düşünülmektedir (2).

**Hidroksiprolin:** Hidroksiprolin (Hyp), vücutta tüm kollajende bulunan temel aminoasid

olup, olgun kollajen molekülündeki aminoasid içeriğinin %12-14'ünü oluşturmaktadır. Kollajen prolin açısından oldukça zengin bir moleküldür. Prolin post-translasyonel hidrosilasyon ile hidroksiproline dönüştürülür. Serbest hidroksiprolinin yaklaşık %90 kadarı kemik kaynaklı olup karaciğer tarafından metabolize edilmektedir (18). Kemik yıkımı sırasında Hyp'nin sadece %10'u idrara geçer. Böylelikle idrar hidroksiprolini toplam kollajen yıkımının sadece %10'unu yansıtmaktadır. Ek olarak idrar Hyp'i kemik yıkımını gösteren, idrarla en uzun süre atılan göstergelerden biridir, ancak idrar Hyp'i yeni oluşan kollajenden, kompleman yıkımından, kemik dışındaki dokulardan veya diyetten de etkilenir. Günümüzde, kollajen döngüsünün nonspesifik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. İdrar hidroksiprolini kolorimetrik yöntemle veya HPLC ile ölçülebilmektedir (19).

**Hidroksilizin:** Hidroksilizin kemik yıkımı sırasında metabolize olmadan salınır ve idrarla tamamı atılmaktadır. Hidroksilizin, diyetten etkilenmediğinden kemik kollajen yıkım hızını hidroksiproline göre daha doğru olarak göstermektedir. Hidroksilizin glikozidleri, kemik kollajenin iç kısımlarını oluşturur ve iki formda bulunur: deri kollajeni içinde bulunan Glikozil-galaktozil-hidroksilizin (Glc-Gal-Hyl) ve kemik kollajeninde bulunan galaktozil-hidroksilizin (Gal-Hyl). Gal-Hyl, Glc-Gal-Hyl'in yaklaşık iki katıdır ve kemik kollajen yıkım göstergesidir. Bu iki komponent kollajen yıkımı sırasında dolaşıma salınır ve HPLC yöntemi ile idrarda ölçülebilir. Bu iki glikozidin oranı dokuya spesifiktir ancak bunların kemik yıkımında gösterge olarak kullanılmasındaki dezavantajlar, HPLC yönteminin pahalı olması yanısıra uygun immunassay yönteminin bulunmamasıdır (20,21).

#### **Pridinolin (PYD) ve Deokspiridinolin (DPD):**

Pyd ve Dpd, lizin ve hidroksilizinin post-translasyonel modifikasyonu ile açığa çıkan ürünler olup temel görevleri ekstrasellüler matriks dokuda bulunan olgun kollajen molekülünün stabilizasyonunu sağlamaktır. Piridi-

nolinler hidroksilizin rezidüleri arasındaki çapraz bağlardan, deoksipiridinolinler lizin rezidüleri arasındaki çapraz bağlardan kaynaklanır. Kemik bu çapraz bağların temel kaynağıdır. Fakat %10'undan azı aorta, diş, tendon ve diğer bağ dokularından da açığa çıkmaktadır (1). Piridinolin ve deoksipiridinolin, fibriler kollajenin ekstrasellüler matürasyonu sırasında sentezlenmekte ve olgun kollajenin yıkımı sırasında salınmaktadırlar. İdrar ile atımları osteoklastik kemik yıkımını göstermekte olup, diet ile alınan kalsiyum ve kollajenden etkilenmemektedir. Her iki belirteç, idrarda kalsiyum ve hidroksiprolin atılımı ile karşılaştırıldığında, kemik rezorpsiyonunun daha hassas göstergesidir. PYD kırıkta, kemik, ligamentler ve damarlarda bulunurken DPD sadece kemik ve dentinde bulunur. Deoksipiridinolinin kemik dokusuna spesifitesinin yüksek olması, kemik yıkımı ile doğru orantılı ve kemik kitlesi ile ters orantılı olması nedeniyle klinik kullanımda tercih edilen bir göstergedir (22,23).

Kemikten üç Pyd molekülüne karşılık bir Dpd salınmaktadır. Dpd kemik için oldukça özgün olup kemik döngüsü ile oldukça iyi korelasyon göstermektedir (18). Pyd eklem kırıkta ve ligamentler ve tendonlar gibi yumuşak dokularda da bulunmaktadır. Besinlerle alınan Pyridinium çapraz bağları emilime uğramamakta veya metabolize edilmemektedir. PYD ve DPD, ters-faz iyon-eşli HPLC yöntemi ile ölçülmektedir. İdrarda PYD ve DPD'nin %40'ı serbest formda %60'ı ise peptide bağlı formda bulunur ve serbest formları doğrudan immunassay yöntemleri ile ölçülebilmektedir (13,24).

Kemik yıkımı paterni ile pyd ve dpd idrar düzeyleri benzer sirkadyen ritme sahip olup sabaha karşı 02:00 ile 05:00 arasında en yüksek düzeydedir. Bu nedenle sabah ilk, ikinci idrarında veya 24 saatlik idrarda ölçümü önerilmektedir. İdrar sonuçları kreatinine oranlı olarak verilmelidir. İdrar pyd ve dpd düzeylerinde gün içinde %75'e varan değişiklikler görüldüğünden önemli tedavi değişikliği öncesinde ölçümleri tekrarlanma-

lıdır. Serum örneklerinde pyd ölçümü yapılacak ise kan örnekleri sabah saat 10:00'dan önce alınmasına dikkat edilmelidir (1).

Pyd ve Dpd'nin menapoz sonrası atılımı artmakta ve bu durum hormon replasman tedavisinin kemik metabolizması üzerindeki etkisini yansıtmaktadır. Klinik uygulamada kemik kaybı riskine sahip kişilerin belirlenmesi, metabolik kemik kaybı hastalıklarının belirlenmesi ve tedavinin izlenmesinde kullanılmaktadırlar (18).

**Kemik Siyaloproteini (BSP):** Kemik non-kollajen matriksinin %5-10'unu oluşturur. Aktif osteoblast ve odontoblastların temel sentetik ürünleridir. BSP hücre-matriks adezyonunda ve mineralize dokuların ekstrasellüler matrikslerinin organizasyonunda önemli rol oynar. Serumda BSP ölçümleri için çeşitli immunassay yöntemleri geliştirilmiştir. Bifosfonat tedavisi sonrası serum düzeylerinin hızla azaldığı saptanmıştır, bu da proteinin kemik yıkımı ile bağlantılı olduğunu düşündürmektedir ancak günümüzde osteoporozla ilişkisini tam olarak açıklayabilecek bilgi yoktur (2,13).

**Osteoprotegerin (OPG):** 'Osteoklastogenezis inhibe edici faktör' de denir. Sitokin ailesinin yeni bir üyesidir. 380 aa.'den meydana gelen bir glikoproteindir. OPG, osteoklast diferansiyasyon faktörüne bağlanmak için NF- $\kappa$ B reseptör aktivatörü (RANK) ile yarışır. Böylece osteoklast olgunlaşmasını in vivo ve in vitro olarak inhibe eder. Yapılan çalışmalarda serum OPG düzeylerindeki değişimlerin yüzdesi, idrar DPD düzeyleri ile kuvvetli pozitif korelasyon göstermiştir. Bu korelasyon, dolaşımdaki OPG düzeylerindeki değişikliğin, osteoklastik kemik rezorpsiyonu ile yakından ilişkili olduğunu desteklemektedir. Ancak kadınlarda serum OPG'si hakkında ayrıntılı bilgiye henüz ulaşılammıştır (25).

#### **KEMİK KÜTLESİNİN TAKİBİ**

Postmenapozal kadınlar, mineral kaybının normal (normal kemik döngüsü) ve hızlı (hızlı kemik döngüsü) olduğu iki ana grup oluş-

turmaktadır. Hızlı kemik döngüsüne sahip hastalarda idrar ve kandaki göstergelerin düzeyleri daha yüksek bulunmaktadır. Bazı çalışmalar bu hastalarda görülen hızlı kemik kaybının biyokimyasal göstergeler ile belirlenebileceğini desteklemektedir. 67 üniteden yüksek NTx düzeyleri saptanan hastaların, eğer tedavi edilmezlerse, 17.3 kat yüksek kemik mineral kaybı riskine sahip oldukları belirtilmiştir (26). Benzer şekilde postmenopozal kadınların 4 yıl süreyle izlendiği bir çalışmada normal biyokimyasal göstergelere sahip hastaların %1'inde kemik mineral kaybına karşılık, yüksek düzeylere sahip hastalarda 3-5 kat yüksek miktarda kemik mineral kaybı görülmüştür (27). Böylelikle biyokimyasal kemik göstergeleri hızlı kemik mineral kaybı olan hastaların belirlenmesinde kullanılabilir. Hızlı kemik kaybı olan hastalar, tedaviye iyi yanıt verdiklerinden bu hastaların önceden ayrılması, özellikle önem taşımaktadır. Yüksek kemik göstergesi düzeylerinin her zaman kemik kaybı ile birlikte görülmediği, büyüme çağına ve paratiroid hormon tedavisi sırasında da karışımıza çıkabileceği unutulmamalıdır.

### ARTMIŞ KIRIK RİSKİNİN BELİRLENMESİ

Kemik göstergeleri ile belirlenen hızlı kemik döngüsünün artmış kırık riski ile birlikteliği yönünde kanıtlar mevcuttur. Bazı retrospektif ve prospektif çalışmalar ile bu durum incelenmiş, yüksek idrar CTx atılımı ile belirlenen hızlı kemik döngüsü olan olgu-

ların, artmış kalça kırık riskini yansıtabileceği bildirilmiştir (28). Hochberg ve ark. yaptıkları meta-analiz çalışmasında tedavinin izlendiği 18 klinik çalışmada, yıkım göstergelerinde saptanan %70'lik azalmanın non-vertebral kırık riskinde %40, %50'lik azalmanın kırık riskinde %44 oranında azalma ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Umut veren kanıtlara rağmen kemik göstergelerinin kırık belirlemedeki değerleri henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır (23,29).

Kemik yapım ve yıkım göstergeleri kolorimetrik, ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), RIA (Radio Immuno Assay), AAS (Atomic Absorption Spectrometry), HPLC (High Performance Liquid Chromatography) gibi yöntemlerle ölçülebilmektedir. Tablo 2' de bu parametrelerin ölçüm yöntemleri, özgüllüğü ve kullanım sıklığı özetlenmiştir.

### PREANALİTİK DEĞİŞKENLİK

Bütün kimyasal analitler gibi kemik turnover göstergeleri de bazı kısıtlamalara sahiptir. Bazı göstergeler termodegradasyon, U.V radyasyon ve hemolizden etkilenmektedir (Tablo 3). Bu nedenle örneklerin uygun koşullarda alınması ve saklanması sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir (21).

### KONTROL EDİLEMİYEN FAKTÖRLER

**Yaş ve renal fonksiyon:** Biyokimyasal göstergelerin düzeyleri çocuklarda, özellikle puberte döneminde 2-10 kat daha yüksektir. Puber-

**Tablo 2.** Kemik döngüsü biyokimyasal göstergeleri ve ölçüm yöntemleri (12).

Gösterge	Yöntem	Özgüllük	Kullanım Yaygınlığı
Total ALP	Kolorimetrik	(-)	(++++)
Kemik ALP	ELISA	(+++)	(++)
PICP/ PINP	RIA	(+++)	(++)
Osteokalsin	RIA, ELISA	(+++)	(+++)
Hyp	Kolorimetrik	(+)	(++)
Total Piridinolin	HPLC	(++)	(+)
Serbest DPD	ELISA	(+++)	(+++)
NTx	ELISA	(+++)	(+++)
CTx	ELISA	(++)	(++)

**Tablo 3.** Preanalitik değişkenliği oluşturan faktörler (21).

Kontrol edilemeyen faktörler	Kontrol edilebilen faktörler
<sup>a</sup> Yaş	<sup>a</sup> Sirkadiyen ritm
<sup>a</sup> Renal fonksiyon	<sup>a</sup> Menstrasyon
<sup>a</sup> Cinsiyet	<sup>a</sup> Mevsim
<sup>a</sup> Gebelik ve laktasyon	<sup>a</sup> Diyet
<sup>a</sup> Menapoz	<sup>a</sup> Egzersiz
<sup>a</sup> Mevcut kırık	<sup>a</sup> Referans aralıkları
<sup>a</sup> Mevcut kronik hastalık	

teden sonra azalmaya başlar ve 4. dekattan sonra normal seviyelere düşerler. Erkeklerde yaş ile değişkenlik, takip eden yıllarda pek gözlenmez. Kadınlarda ise menapozla birlikte ciddi bir artış gözlenir. Kadınlarda perimenapozal dönemde kemik döngüsünün değişip değişmediği şüphelidir ancak menapozla birlikte göstergeler yükselir ve yaşla birlikte değişiklik gözlenmez. İleri dekatlarda renal fonksiyonun bozulmasına bağlı olarak özellikle osteokalsin seviyelerinde ve piridinolin gibi böbrekten atılan göstergelerde artış görülür ve kreatinin klirensi 30 mL/dk altına düştüğünde bu durum göz önünde bulundurulmalıdır (13).

**Cinsiyet:** Göstergeler genel olarak 3. ve 4. dekattaki erkeklerde, kadınlara nazaran yüksek seyredir. Fakat yaşlı erkeklerde postmenapozal kadınlara göre daha düşüktür.

**İrk:** Çocuklarda ve genç erişkinlerde kemik yıkım göstergeleri siyah ırkta daha düşük bulunmuştur. OC siyah ırkta %20 daha düşüktür ancak kadınlarda bu fark menapoza kadar belirgin değildir (30).

**Kırıklar:** Kırığın ilk 4 haftasında kemik yıkım ve yapım ürünleri %20- 50 oranında artar ve 6 ay ile 1 yıl yüksek kalır. Bu nedenle hastalar değerlendirilirken son 1 yıl içinde kırığı olup olmadığı sorgulanmalı ve farkedilemeyen vertebra kırıkları açısından değerlendirilmelidir (30).

**Gebelik ve laktasyon:** Gebelik ve laktasyon sırasında anne iskeleti, gelişen fetüs veya infanta kalsiyum sağlayabilmek için büyük bir yük altındadır. 16. haftadan sonra kemik yıkım

ürünlerinde kademeli bir artış meydana gelir ve ilerleyen zaman içinde kemik yapımında artış olur. Bu duruma zıt olarak serum OC seviyeleri düşer. Bunun nedeni OC'nin plasental klirensi veya artmış renal atılımı olabilir. 3. trimesterde veya doğumdan sonra OC seviyelerinde hafif bir yükselme görülebilir. Term gebelikte, gebelik öncesi duruma göre kemik yıkım göstergelerinden NTx %200 oranında ve kemik yapım göstergelerinden PINP %60 oranında artar. Doğumdan sonra idrar NTx ve CTx seviyeleri düşer ancak PYD gibi, kemiğe özgüllüğü daha az olan göstergelerde artış görülebilir. Bu durum uterusun eski haline dönmesine bağlı olabilir. Laktasyonun ilk aylarında hem kemik yıkım göstergeleri hem de kemik yapım göstergeleri artar. Laktasyon bittiğinde göstergeler premenapozal seviyelerine geri döner (13).

**İlaçlar:** Osteoporoz ve diğer metabolik kemik hastalıklarında uygulanan, hormon replasman tedavisi, bifosfonatlar, östrojen reseptör modulatorleri gibi kemik yıkımını önleyen tedaviler kemik döngü göstergelerini %70'e kadar düşürür. Kortikosteroid tedavisi serum OC seviyelerini anlamlı derecede düşürür, ancak diğer göstergeleri etkilemez. Antikonvülzan tedaviler ve gonadotropin serbestleştirici hormon agonistlerinin kullanılması göstergeleri yükseltir, tiazid grubu diüretikler ise düşürür (20).

**Kronik hastalıklar:** Bazı metabolik kemik hastalıklarında kemik döngü göstergelerinin düzeyleri hastalıkla uyumlu olmayabilir. Örneğin, Paget hastalığında serum total ve kemik ALP'ı büyük oranda yükselirken, serum OC seviyeleri hafif yükselir. Karaciğer, böbrek hastalıkları gibi kemik dışı hastalıklarda, kemik göstergelerinin seviyeleri, iskelet dışı üretim veya uygunsuz metabolizma ortaya çıkabilir (17).

**İmmobilizasyon:** Yatak istirahati kemik yıkım göstergelerinde hızlı bir yükselmeye neden olabilmektedir. PYD ve DPD'in idrarla atılımı yatak istirahatinin 2. gününde anlamlı olarak artar ve bir hafta sonunda bu artış %40'a kadar yükselebilir. Kemik yapım gös-

tergeleri ise yatak istirahati sırasında değişmez. Yaşlılarda, immobilizasyonun derecesi ile idrar Hyp seviyelerindeki artış koreledir; hasta tekrar mobilize olduğunda yıkım göstergeleri eski seviyelerine düşerler, paradoksal olarak PİCP yükselebilir (13,19).

### KONTROL EDİLEBİLİR FAKTÖRLER

**Sirkadiyen ritm:** Kemik göstergelerinin çoğu gece yükselmektedir. Göstergelerin seviyeleri saat 02:00-08:00 arası en yüksek seviyede iken saat 13:00-23:00 arası hızlıca düşer. Kemik yıkım göstergelerinin günlük değişimi, kemik yapım göstergelerine göre daha belirgindir. Kemik yıkım göstergelerinin klinik açıdan değerlendirilmesinde sirkadiyen değişikliklerden kaynaklanan etkileri azaltmak için örneğin alınma saatine dikkat edilmelidir (13).

**Menstrasyon:** Kemik yapım göstergeleri luteal fazda, foliküler faza göre %10-15 daha yüksek olabilir ancak menstrasyonun bu göstergeler üzerindeki etkisi az olduğu için gözardı edilebilir.

**Mevsim:** Kemik döngüsü göstergelerinin mevsimsel değişimi evrensel bir bulgu olmamakla birlikte kış ve bahar aylarında OC'nin arttığı, ALP'ın düştüğü gösterilmiştir. Kemik göstergelerinde meydana gelen mevsimsel değişiklikler özellikle kısa dönemli tedavilerinde önemli olabilir (2).

**Egzersiz:** Egzersizin kemik göstergeleri üzerine etkisi iki şekilde olabilir: Uzun süreli düzenli egzersiz ve akut egzersiz. Uzun süreli egzersiz yapan sporcularda PİCP ve İCTP düzeyleri, aynı yaştaki sedanter yaşayanlara göre %18-20 daha düşük bulunmuştur. Ancak diğer göstergeler açısından fark yoktur. Subakut egzersizde ise kemik yapım göstergelerinde artış ve kemik yıkım göstergelerinde azalma gözlenmiştir. Egzersizin akut etkisi ile kollajen yapımında artış olduğu düşünülmektedir. Bu artış 24 saat sürmekte ve en fazla 72 saat içinde kaybolmaktadır. Bu nedenle hastalardan örnek alınmadan önce, egzersiz hikayesi sorgulanmalı ve hastalar

örnek alınmadan önce 24 saat süresinde egzersiz yapmaması konusunda uyarılmalıdır (13,17).

**Diyet:** Kemik yıkımının nonspesifik bir göstergesi olan Hyp dışındaki göstergeler diyetten etkilenmemektedir. Hyp ölçümü için hastadan bir gecelik açlık sonrası örnek alınması gerekir, diğer göstergeler için böyle bir uygulamaya gerek yoktur (19).

**Referans aralıkları:** Her laboratuvar kendi referans aralığını saptamalıdır. Yaş, cinsiyet, menapozal durum göz önüne alınmalı, örnekler standardize edilmiş zamanlarda ve koşullarda alınarak, referans aralıkları buna göre belirlenmelidir (21).

### SONUÇ

Osteoporoz altında yatan ve kemik döngüsünde rol oynayan hücrel olayların daha ayrıntılı olarak anlaşılması, kemik yapımı ve yıkımında kullanılan bir takım biyokimyasal göstergelerin öne çıkmasını sağlamıştır. Yakın geçmişte kemik döngüsü, kemik histomorfometri veya nükleer tıp teknikleri gibi pahalı ve invazif yöntemlerle ortaya konabilmekteydi. Ancak güncel birçok biyokimyasal gösterge, günümüzde, özellikle kemik yıkımı göstergeleri olmak üzere, kemik kütle kaybı ve kırık riskinin belirlenmesinde tek başına oldukça değerli bilgiler sağlamaktadır.

Kemik döngüsünü inceleyen biyokimyasal testlerin klinikte etkin olarak kullanımında, en uygun biyokimyasal testin, ölçüm tekniğinin (hassaslık ve özgüllük), en uygun örnekleme yönteminin seçimi ve sonuç yorumunun iyi yapılması oldukça önem taşımaktadır.

Güncel literatürlerde belirtildiği gibi biyokimyasal göstergeler ve kalsiyum desteği ile kırık riski arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmektedir. Ancak osteoporoz konusunda yaşanan hızlı gelişmelere rağmen kemik metabolizması hastalıklarının değerlendirilmesinde kullanılan birçok gösterge halen araştırma aşamasındadır.

Sonuç olarak günümüzde kullanılan biyokimyasal göstergeler yalnız kemiğe spesifik olmadığından tek başına osteoporoz tanısında kullanılamamaktadır. Ancak düzeyleri erken dönemde değiştiğinden tedavinin izlenmesinde oldukça yararlıdır.

#### KAYNAKLAR

1. Hammett-Stabler CA. The use of biochemical markers in osteoporosis. *Clin Lab Med* 2004; 24(1): 175-97.
2. Sallafi F, Silveri F. Development and validation of the osteoporosis prescreening risk assessment (OPERA) tool to facilitate identification of women likely to have low bone density. *Clin Rheumatol* 2005; 24(3): 203-11.
3. Geusens PMM. Review of Guidelines for testing and treatment of osteoporosis. *Curr Osteopor Rep* 2003; 1: 59-65.
4. Ebeling PR, Akesson K. Role of biochemical markers in the management of osteoporosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2001; 15(3): 385-400.
5. Siebel MJ. Biochemical markers of bone remodeling. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003; 32: 83-113.
6. Horgan DJ, King NL, Kurth LB, Kuypers R. Collagen crosslinks and their relationship to the thermal properties of calf tendons. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1990; 281: 21-26.
7. Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP. Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high performance liquid chromatography. *Annals of Biochemistry* 1984; 137: 380-388.
8. Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *Journal of Bone and Mineral Research* 1992; 7: 1251-1258.
9. Miller PD, Hochberg MC, Wehren LE, Ross PD, Wasnich RD. How useful are measures of BMD and bone turnover? *Curr Med Res Opin* 2005; 21: 545-53.
10. Hannon RA, Eastell R. Biochemical markers of bone turnover and fracture prediction. *J Br Menopause Sec* 2003; 9: 10-5.
11. Garnero P, Delmas PD. Assessment of the serum levels of the bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993; 77: 1046-1053.
12. Rosen CJ, Tenenhouse A. Biochemical markers of bone turnover. A look at laboratory tests that reflect bone status. *Postgrad Med* 1998; 104(4): 101-2, 107-10, 113-4.
13. Delmas PD, Eastell R. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis; *Osteoporos Int* 2000; Suppl. 6: S2-17.
14. Melkko J, Niemi S, Risteli L, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clinical Chemistry* 1990; 36: 1328-1332.
15. Melkko J, Kauppila S, Niemi S ve ark. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen. *Clinical Chemistry* 1996; 42: 947-954.
16. Price PA. Vitamin K-dependent formation of bone Gla protein and its function. *Vitamines and Hormones* 1985; 42: 65-107.
17. Nelson HD, Helfand M. Screening for postmenopausal osteoporosis. *Agency for Healthcare Research and Quality*, 2002.
18. Hristova EN, Henry JB. Metabolic Intermediates, Inorganic Ions and Biochemical Markers of Bone Metabolism. In: *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th Ed. Syracuse (NY): W.B. Saunders; 2001: 204.
19. Prentice A. Diet, nutrition and prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr* 2004; 7(1A): 227-43.
20. Kleerekoper M. Biochemical markers of bone turnover: Why theory, research, and clinical practice are still in conflict; *Clinical Chem* 2001; 47(8): 1347-9.
21. Chaki O, Yoshikata I. The predictive value of biochemical markers of bone turnover in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1537-44.
22. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy M-C, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* 1996; 11: 641-649.
23. Eyre DR. The specificity of collagen cross-links as markers of bone and connective tissue degradation. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 1995; 66: 166-170.
24. Davies MD, Bliziotis M. Osteoporosis: Risk factor, Diagnosis and Therapy. *Lab Med* 1998; 29(7): 418-421.
25. Erdoğan E, Aslan E. Intima-media thickness of the carotid arteries is related to serum osteoprotegerin levels in healthy postmenopausal women; *Neuro Res* 2004; 26(6): 658-61.
26. Srivastava AK, Vliet EL, Lewiecki EM, Maricic M, Abdelmalek A, Gluck O, Baylink DJ. Clinical use of serum and urine bone markers in the management of osteoporosis. *Curr Med Res Opin* 2005; 21(7): 1015-26.
27. Eastell R, Barton I, Hannon RA, Chines A, Garnero P, Delmas PD. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res* 2003; 18(6): 1051-6.

28. Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, Marcelli C, Grandjean H, Muller C, Cormier C, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. J Bone Miner Res 1996; 11(10): 1531-8.
29. 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.
30. Garnero P, Sornay-Rendu E. Biochemical markers of bone turnover and the risk of fractures in post-

menopausal women. J Bone Miner Res 2000; 15: 1526-36.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. A. Erkin Bozdemir  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Klinik Biyokimya Bilim Dalı  
35100 Bornova, İzmir  
Tel : 0.232 390 43 16  
Faks: 0.232 343 82 71  
E-posta: ahmeterkin@yahoo.com

---