

DİZ OSTEOARTRİT HASTALARINDA SERUM SALUSİN-ALFA VE SALUSİN-BETA DÜZEYLERİ

Serum Salusin-Alpha and Salusin-Beta Levels in Patients with Knee Osteoarthritis

Seda SABAH ÖZCAN¹(0000-0002-8340-331X), Murat ÇAKIR² (0000-0002-2066-829X), Mehmet GÜMÜŞ³ (0000-0003-4608-2446X), Murat KORKMAZ³ (80000-0002-5920-0280X)

ÖZET

Giriş: Osteoartrit (OA), yaşlılarda yüksek prevalanslı majör kas-iskelet sistemi hastalığıdır. Eklem kıkırdığının ağrılı kaybı ile karakterize, poligenik ve çok faktörlüdür. Çalışmamızda diz osteoartrit hastalarında serum salusin- α ve salusin- β seviyelerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Serum örnekleri 38 sağlıklı ve 35 diz osteoartritli bireylerden elde edilmiştir. Serum örneklerinde ELISA yöntemi ile salusin- α ve salusin- β seviyeleri belirlenmiştir.

Bulgular: Serum salusin- α seviyesi OA grubunda (2569 ± 839 pg/ml), kontrol grubuna (3131 ± 1066 pg/ml) kıyasla anlamlı olarak azalmıştır ($p=0.0136$). Benzer şekilde serum salusin- β seviyesi de OA grubunda (708 ± 207 pg/ml) kontrol grubuna (1027 ± 448 pg/ml) oranla düşük olarak bulunmuştur ($p=0.0002$).

Sonuç: Serum salusin- α ve salusin- β düzeyleri birbirleriyle korele şekilde diz osteoartritli hastalarda azalmıştır. Diz OA hastalığında serum seviyesi düşük olan salusinlerin hangi moleküler mekanizmalar üzerinden OA hastalığı ile ilişkili olduğunun anlaşılması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Osteoartrit; salusin- α ; salusin- β ; serum; ELISA

ABSTRACT

Aim: Osteoarthritis (OA) is a major musculoskeletal disease with high prevalence in the elderly. It is characterised by the painful loss of articular cartilage and is polygenic and multifactorial. In this study, we aimed to investigate serum salusin- α and salusin- β levels in patients with knee osteoarthritis.

Materials and Methods: Serum samples were obtained from 38 healthy subjects and 35 knee osteoarthritis patients. Salusin- α and salusin- β levels were determined by ELISA in serum samples.

Results: Serum salusin- α levels were significantly decreased in the OA group (2569 ± 839 pg/ml) compared to the control group (3131 ± 1066 pg/ml) ($p=0.0136$). Similarly, serum salusin- β levels were lower in OA group (708 ± 207 pg/ml) than in control group (1027 ± 448 pg/ml) ($p=0.0002$).

Conclusion: Serum salusin- α and salusin- β levels decreased in patients with knee osteoarthritis, correlated with each other. Further investigations are needed to understand the molecular mechanisms associated with low serum levels of salusins in knee OA.

Keywords: Osteoarthritis; salusin- α ; salusin- β ; serum; ELISA

¹Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yozgat, 66200, Türkiye

²Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Yozgat, 66200, Türkiye

³Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Yozgat, 66200, Türkiye

Seda SABAH ÖZCAN, Dr. Öğr. Ü.
Murat ÇAKIR, Dr. Öğr. Üyesi
Mehmet GÜMÜŞ, Araş. Gör.
Murat KORKMAZ, Doç. Dr.

İletişim:

Dr. Öğr. Üyesi, Seda SABAH ÖZCAN Bozok Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yozgat, 66200, Turkey,
Telefon: +90 (354) 212 70 10 / 3182
e-mail: seda.sabah@yobu.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 19.09.2019

Kabul tarihi/Accepted: 11.05.2020

DOI: 10.16919/bozoktip.622173

Bozok Tıp Derg 2020;10(2):184-88
Bozok Med J 2020;10(2):184-88

GİRİŞ

Osteoartrit (OA) kırıkday kayı ve tahribatı ile karakterize olan ve toplumda sıklıkla gözlenen bir artropatidir [1]. Dünyada prevalansı gittikçe artan osteoartrit elli beş yaş üzeri bireylerin yaklaşık %25'inde gözlenmektedir [2]. Günümüzde osteoartrit, hareketli eklemleri içeren, makro ve mikro yaralanma ile başlayan ve ardından da maladaptif tamir yanıtının pro-inflamatuar yollar ile birlikte aktive olduğu hücre stresi ve ekstrasellüler matriks degradasyonu ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hastalık ilk olarak anormal eklem dokusu metabolizması nedeniyle moleküler düzensizlikler ile başlar. Ardından bu değişimi, kırıkday dejenerasyonu, kemik anatomisindeki değişiklikler, osteofit oluşumu, eklem inflamasyonu ve normal eklem fonksiyon kaybı ile anatomik ve fizyolojik düzensizlikler izler [3]. Son yapılan çalışmalarda, oksidatif stres ve reaktif oksijen türlerinin artışının osteoartrit ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [4, 5].

2003 yılında insan embriyosundan keşfedilen salusin- α ve salusin- β sırasıyla 28 ve 20 aminoasitten oluşmuştur. Salusinlerin vücutta birçok dokuda yaygın olarak eksprese edildiği gösterilmiştir. Salusinlerin vasküler düz kas hücreleri ve fibroblastlarda proliferasyona neden olduğu bilinmektedir [6]. Salusinler sıçan kardiyomiyositlerinde hipertrofi ve büyümeyi artırır [7]. Aynı zamanda bu hücrelerde antiapoptotik etkisi olduğu gösterilmiştir [8]. Salusinlerin metabolik sendrom, akut böbrek yetmezliği gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir [9-11]. Yapılan çalışmalarda salusinlerin inflamasyon ve oksidatif stres ilişkili olduğu gösterilmiştir [9, 12, 13]. Salusin- β 'nın Nükleer faktör- κ B (NF- κ B) sinyaliyle inflamasyonu hızlandırdığı da rapor edilmiştir [14]. Çalışmamızda, oksidatif stres, inflamasyon ve anjiyogenez ile ilişkili olduğu bilinen osteoartrit hastalığında serum salusin- α ve salusin- β seviyelerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza, 2018-2019 yılları arasında diz ağrısı şikayeti ile Bozok Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji polikliniğine başvuran 46-78 yaş aralığında 35 kadın diz OA hastası dahil edilmiştir. Çalışma için Bozok Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan onay alındı (Etik kurul karar no: 2017-

KAEK-189_2018.05.30_05). Diz OA hastalarının yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksi (VKİ) verileri tespit edildi. Diz grafileri normal eklem aralığı evre 0, en şiddetli radyolojik hasar ise evre 4 olmak üzere toplam 5 evrede sınıflandırma yapan Amerikan Romatoloji Koleji kriterleri ve Kellgren Lawrance skoruna göre radyolojik olarak evrelendi [15, 16]. Bilateral diz osteoartriti olan ve Kellgren Lawrence evrelemesi her iki dizde aynı olan (evre 5) hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Sistemik inflamatuvar ve otoimmün hastalık, kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık, migren, ateroskleroz, diyabet mellitus, tümöral ve infeksiyöz hastalığı olanlar çalışma dışı bırakılmıştır. Kontrol grubu olarak ise, diz grafileri çekilen ve OA tanısı konmayan, hastanemizde rutin laboratuvar incelemesi yapılan sağlıklı, yaş ve cinsiyet uyumlu 38 kişi değerlendirildi. Kontrol grubuna ait demografik veriler ayrıca kayıt edilmiştir.

Biyokimyasal analizler

Hastalara ait kan örnekleri 12-16 saatlik açlıktan sonra, sabah ön kol veninden vakumlu biyokimya tüplerine alındı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar en geç 1 ay içinde çalışılmak üzere -20° C'de saklandı. Hastalara ait rutin olarak istenen, lökosit, netrofil, lenfosit, C- reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı, kan glukozu, trigliserid ve total kolesterol verileri hastanemiz bilgi sisteminden elde edilmiştir.

Serum salusin- α ve salusin- β seviyelerinin belirlenmesi Salusin- α ve salusin- β serum düzeyleri, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi (Elabscience, Biotechnology Inc, Houston, Texas, USA) ile ölçüldü. Absorbans okumaları 450 nm filtrede ELISA okuyucusunda (Spectramax, Molecular Devices, CA, USA) gerçekleştirildi. Salusin- α için sensitivite değeri 46.88 pg/ml iken Salusin- β için 18.75 pg/ml'dir. Sonuçlar pg/ml olarak verilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Verilerin analizi için SPSS 20 paket programı kullanıldı. Nicel veriler Shapiro-Wilk testi normallik testine göre normal dağılım gösterip göstermediği saptandı. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında bağımsız t testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırmalarında ise Mann-Whitney U testi

kullanıldı. Normal dağılım gösteren verilerin korelasyon analizinde pearson korelasyon analizi, normal dağılım göstermeyen verilerin korelasyon analizinde ise spearman korelasyon analizi kullanıldı. Nicel verilerin tanımlanmasında aritmetik ortalama \pm , standart sapma (SD) kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

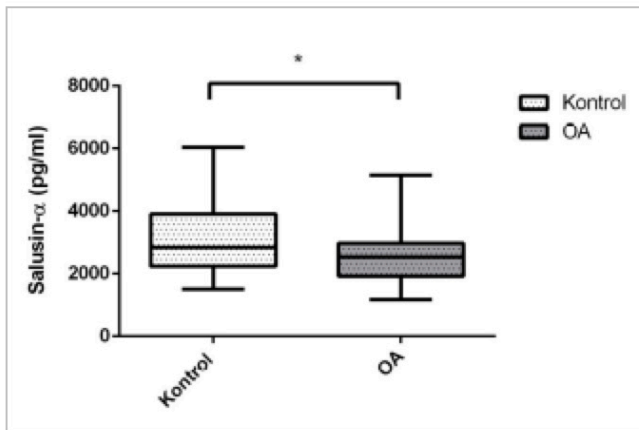
Tüm veriler için istatistiksel analiz sonuçları tablo 1’de verilmiştir. Serum salusin- α seviyesi OA grubunda (2569 \pm 839 pg/ml), kontrol grubuna (3131 \pm 1066 pg/

ml) kıyasla anlamlı olarak azalmıştır ($p=0.0136$). Benzer şekilde serum salusin- β seviyesi de OA grubunda (708 \pm 207 pg/ml) kontrol grubuna (1027 \pm 448 pg/ml) oranla düşük olarak bulunmuştur ($p=0.0002$) (Şekil1-2). İki grup arasında yaş, cinsiyet, boy, kilo ve ve şikâyet süreleri açısından anlamlı bir fark yoktu (Tablo 1). VKİ değerlerinin, kontrol grubuna (28.8 \pm 3.3) göre OA grubunda (30.5 \pm 4.2) anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p < 0.046$). Yapılan korelasyon analizlerinde, salusin- α ve salusin- β ile OA hastalık evresi ve diğer tüm parametreler arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı.

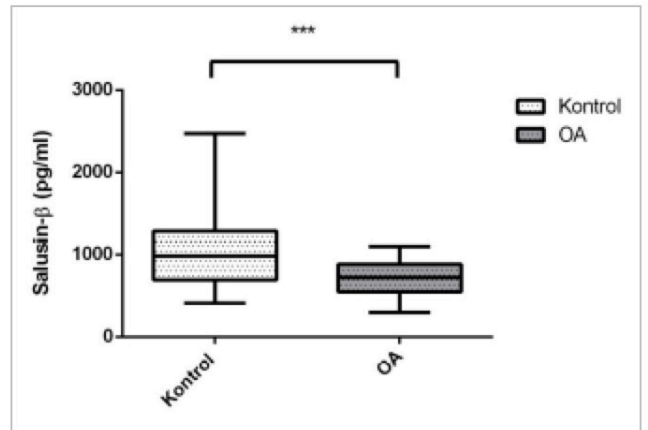
Tablo 1. Hasta ve kontrol grubuna ait klinik ve laboratuvar verileri

Değişkenler	Kontrol (n= 38)	OA (n= 35)	P değeri
Yaş	55 \pm 7	60 \pm 10	0.9
VKİ (kg/mm ²)	28.8 \pm 3.3	30.5 \pm 4.2	0.046*
AKŞ (mg/dL)	93 \pm 8,9	96 \pm 12.6	0.244
Lökosit (mm ³)	6.5 \pm 1.1	7.2 \pm 2.1	0.081
Lenfosit (mm ³)	2.7 \pm 4.5	2.9 \pm 4.4	0.833
Nötrofil (mm ³)	3.8 \pm 1.5	4.2 \pm 0.9	0.125
CRP (mg/dl)	2.74 \pm 2.4	3.08 \pm 1.7	0.501
TG mmol/L	132 \pm 62	147 \pm 53	0.306
LDL-c mmol/L	120 \pm 39	128 \pm 25	0.288
HDL-c mmol/L	57 \pm 14	57 \pm 16	0.930
Total kolesterol mmol/L	204 \pm 36	215 \pm 31	0.209
ESH (mm/h)	15 \pm 7	21 \pm 13	0.23

Tüm veriler ortalama ve \pm standart sapma olarak verilmiştir. Anlamlılık düzeyi: * $P < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. VKİ: Vücut kitle indeksi; CRP: C-Reaktif Protein; ESH, Eritrosit Sedimentasyon Hızı; AKŞ, Açlık kan şekeri; TG, Trigliserid; LDL-c, Low-Density Lipoprotein Kolesterol; HDL-c, High-Density Lipoprotein Kolesterol



Şekil 1. Serum salusin- α seviyesi



Şekil 2. Serum salusin- β seviyesi

TARTIŞMA/SONUÇ

En yaygın eklem hastalığı olan OA; Ağrı ve hareket kısıtlılığına neden olarak yaşam kalitesini önemli şekilde azaltan bir hastalıktır. OA; ellerde, kalçalarda ve omurgada görülse de en çok dizlerde görülmektedir. İlerleyen yaşla birlikte görülme sıklığı artan OA'nın, kadınlarda görülme sıklığı erkeklere göre daha fazladır [17, 18].

Subkondral kemik ve kıkırdak arasındaki etkileşim, hem mekanik hem de biyokimyasal bozukluklarla OA gelişimine neden olur [19]. Osteoblastlar interlökin 6 (IL-6), IL-1, tümör nekroz faktör (TNF- α), tümör büyüme faktörü (TGF β 1), NF- κ B ligand reseptör activatorü (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) moleküllerini eksprese ederler [20]. OA gelişiminde yüzeysel kıkırdak fibrilasyonu, yüzeysel bozukluklar ve vertikal fissürler morfolojik olarak gözlenen ilk değişikliklerdir [21]. Artiküler kıkırdak avasküler doku olduğundan kıkırdaktaki vaskülarizasyon oksidatif hasarı da içerir. Anjiyogenezde rol oynayan sinyal proteinlerinden biri de kan damar oluşumuyla lökosit girişine neden olarak inflamasyon gelişimine sebep olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü'dür (VEGF) [22, 23]. Temporomandibular ekleme enjekte edilen VEGF, matriks metallo proteaz 9 ve 13 ün artışına neden olarak, kıkırdak kaybı ve OA gelişiminin başlamasına sebep olmaktadır [24].

Kıkırdak ve kemik patofizyolojisinde oksidatif stres, inflamasyon ve anjiyogenez önemli role sahiptir. Kıkırdak gelişiminde rolü olan vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A) artan yaş ile birlikte osteoartritik değişimlerde yeniden gözlenmeye başlar [25, 26]. Ayrıca yapılan çalışmalarda, vasküler kanalların oluşumu, kemik ve kıkırdak arasındaki iletişimi kolaylaştırır. VEGF-A ekspresyon artışının OA patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [23, 27]. Salusinlerin de vasküler düz kas hücrelerinin ve fibroblastların proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Salusinler ayrıca hücre içine kalsiyum girişini arttırarak büyüme faktörleri ile ilgili genlerin ekspresyonunu arttırırlar [6].Yapılan bir çalışmada Salusin- β 'nin anjiyogenez baskıladığı gösterilmiştir [28]. Tüm bu veriler göz önüne alındığında, osteoartrit hastalarında salusinlerin azalışının VEGF artışına neden

olabileceği düşünülebilir. VEGF ayrıca makrofajları aktive edebilir [29]. Eklemlerde makrofajlar aktive olduğunda daha fazla VEGF üretimine neden olarak anjiyogenez uyarırlar [30]. VEGF aynı zamanda kıkırdak vaskülarizasyonuna neden olarak OA gelişiminde gözlenen osteofit oluşumuna neden olur [31].

Özetle, çalışmamızda serum Salusin- α ve salusin- β seviyelerinin diz OA hastalarında azaldığı bulunmuştur. Diz OA hastalığında serum seviyesi düşük olan salusinlerin hangi moleküler mekanizmalar üzerinden OA hastalığı ile ilişkili olduğunun anlaşılması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca salusinlerin azalışının VEGF'ye bağlı olarak gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek için OA gelişiminde VEGF ve salusinlerin rolünün araştırılması gerekmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

1. Abramson, S.B., et al., Nitric oxide and inflammatory mediators in the perpetuation of osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep*, 2001. 3(6): p. 535-41.
2. Peat, G., R. McCarney, and P. Croft, Knee pain and osteoarthritis in older adults: a review of community burden and current use of primary health care. *Ann Rheum Dis*, 2001. 60(2): p. 91-7.
3. Kraus, V.B., et al., Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015. 23(8): p. 1233-41.
4. Li, D., G. Xie, and W. Wang, Reactive oxygen species: the 2-edged sword of osteoarthritis. *Am J Med Sci*, 2012. 344(6): p. 486-90.
5. Henrotin, Y., B. Kurz, and T. Aigner, Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: friends or foes? *Osteoarthritis Cartilage*, 2005. 13(8): p. 643-54.
6. Shichiri, M., et al., Salusins: newly identified bioactive peptides with hemodynamic and mitogenic activities. *Nat Med*, 2003. 9(9): p. 1166-72.
7. Yu, F., et al., Salusins promote cardiomyocyte growth but does not affect cardiac function in rats. *Regul Pept*, 2004. 122(3): p. 191-7.
8. Xiao-Hong, Y., et al., Salusins protect neonatal rat cardiomyocytes from serum deprivation-induced cell death through upregulation of GRP78. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006. 48(2): p. 41-6.
9. Cakir, M., et al., Protective effects of salusin-alpha and salusin-beta on renal ischemia/reperfusion damage and their levels in ischemic acute renal failure. *Biotech Histochem*, 2017. 92(2): p. 122-133.
10. Cital, C., et al., Brain, liver, and serum salusin-alpha and -beta alterations in Sprague-Dawley rats with or without metabolic syn-

drome. *Med Sci Monit*, 2014. 20: p. 1326-33.

11. Kimoto, S., et al., Serum levels and urinary excretion of salusin-alpha in renal insufficiency. *Regul Pept*, 2010. 162(1-3): p. 129-32.

12. Xu, T., et al., Salusin-beta contributes to vascular inflammation associated with pulmonary arterial hypertension in rats. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016. 152(4): p. 1177-87.

13. Zhao, M.X., et al., Salusin-beta contributes to oxidative stress and inflammation in diabetic cardiomyopathy. *Cell Death Dis*, 2017. 8(3): p. e2690.

14. Koya, T., et al., Salusin-beta accelerates inflammatory responses in vascular endothelial cells via NF-kappaB signaling in LDL receptor-deficient mice in vivo and HUVECs in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012. 303(1): p. H96-105.

15. Altman, R., et al., Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum*, 1986. 29(8): p. 1039-49.

16. Kellgren, J.H. and J.S. Lawrence, Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis*, 1957. 16(4): p. 494-502.

17. Hunter, D.J. and G.H. Lo, The management of osteoarthritis: an overview and call to appropriate conservative treatment. *Rheum Dis Clin North Am*, 2008. 34(3): p. 689-712.

18. Kacar, C., et al., The prevalence of symptomatic knee and distal interphalangeal joint osteoarthritis in the urban population of Antalya, Turkey. *Rheumatol Int*, 2005. 25(3): p. 201-4.

19. Funck-Brentano, T. and M. Cohen-Solal, Crosstalk between cartilage and bone: when bone cytokines matter. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011. 22(2): p. 91-7.

20. Lorenzo, J., M. Horowitz, and Y. Choi, Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev*, 2008. 29(4): p. 403-40.

21. Pritzker, K.P., et al., Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006. 14(1): p. 13-29.

22. Pufe, T., et al., The splice variants VEGF121 and VEGF189 of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor are expressed in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*, 2001. 44(5): p. 1082-8.

23. Pfander, D., et al., Vascular endothelial growth factor in articular cartilage of healthy and osteoarthritic human knee joints. *Ann Rheum Dis*, 2001. 60(11): p. 1070-3.

24. Shen, P., et al., Injecting vascular endothelial growth factor into the temporomandibular joint induces osteoarthritis in mice. *Sci Rep*, 2015. 5: p. 16244.

25. Haywood, L., et al., Inflammation and angiogenesis in osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2003. 48(8): p. 2173-7.

26. Murata, M., K. Yudoh, and K. Masuko, The potential role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in cartilage: how the angiogenic factor could be involved in the pathogenesis of osteoarthritis? *Osteoarthritis Cartilage*, 2008. 16(3): p. 279-86.

27. Yuan, Q., et al., Elevated VEGF levels contribute to the pathogenesis of osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014. 15: p. 437.

28. Masumura, M., et al., Anti-salusin-beta antibody enhances

angiogenesis after myocardial ischemia reperfusion injury. *Expert Opin Ther Targets*, 2013. 17(9): p. 1003-9.

29. Barleon, B., et al., Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood*, 1996. 87(8): p. 3336-43.

30. Haywood, L., et al., Inflammation and angiogenesis in osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 2003. 48(8): p. 2173-2177.

31. Hashimoto, S., et al., Development and regulation of osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 2002. 10(3): p. 180-187.