

Dentin Matriks Protein Serum Düzeyi Üzerine Tüm Vücut Vibrasyonun Etkisi

Effect of Whole Body Vibration on The Serum Dentin Matrix Protein Level

Muharrem Çidem¹, İlhan Karacan¹, Mehmet Çidem², Saadet Pilten Güzel³, Murat Özkaya¹

¹Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi Ve Rehabilitasyon Kliniği, İstanbul

²Elektrik-elektronik Mühendisi, İstanbul

³Bağcılar Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Amaç: Dentin matriks protein (DMP) osteositlerde eksprese edilen ekstraselüler matriks ile ilişkili mekanosensitif bir fosfoproteindir. Bu araştırmanın amacı, genç erişkin sağlıklı erkeklerde DMP serum düzeyinin tüm vücut vibrasyon (TVV) ile değişip değişmediğini ortaya koymaktır.

Yöntem: Araştırmaya, 20-45 yaş arasında 8 sağlıklı gönüllü erkek denekler alındı. Deneklere TVV platformu üzerinde ayakta dik postürde dururken frekansı 35 Hz, tepe-tepe amplitüdü 2.2 mm, süresi 45 sn olan vibrasyon uygulandı. TVV öncesi bir kez ve vibrasyon seti sona erdikten sonra ikişer dakika ara ile 10 kez (TVV'dan hemen sonra, 2.dk, 4.dk, 6.dk, 8.dk, 10.dk, 12.dk 14.dk, 16.dk ve 18.dk) kan örneği alındı. Ölçümler bir araştırmacı tarafından, numunelere kör olarak yapıldı. Serum DMP düzeyi Human Dentin Matrix Protein ELISA kiti ile ölçüldü.

Bulgular: TVV öncesi serum DMP düzeyi 22.5 ± 5.8 ng/ml idi ve TVV uygulaması ile anlamlı değişim olmadığı saptandı ($F(2.2-13.3) = 1.45$ $P=0.271$).

Sonuç: Sonuç olarak, bu araştırma sağlıklı genç erişkin erkeklerde DMP serum düzeyinin erken dönemde (TVV sonrası ilk 18 dakikada) değişmediğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Dentin matriks protein, kemik, osteosit, vibrasyon.

Abstract

Objective: Dentin matrix protein (DMP) is a mechanosensitive phosphoprotein expressed in osteocytes and associated with the extracellular matrix. The aim of this study was to determine whether serum DMP levels were affected by applying whole-body vibration (WBV) in healthy young adults.

Method: Healthy eight volunteer men (20–45 years) were recruited for the study. WBV was applied to the experimental group at frequency of 35 Hz, 2.2 mm peak-to-peak amplitude and duration of 45 seconds while standing the upright posture on the platform. Serum DMP levels was measured before and on the first, second, sixth, eighth, tenth, twelfth, fourteenth, sixteenth ve eighteenth minute after vibration. A researcher was blind to the measurement of samples. Serum DMP level were measured by Human Dentin Matrix Protein ELISA kit.

Results: Serum DMP level before WBV was 22.5 ± 5.8 ng / ml and there was no significant change after WBV ($F(2.2-13.3) = 1.45$ $P = 0.271$).

Conclusion: In conclusion, the findings of this study reveals that serum DMP level in the healthy young adult men did not change in early period (first 18 minutes after WBV).

Keywords: Bone, Dentin matrix protein, Osteocyte, Vibration.

Giriş

Dentin matriks protein kemik ve diş dokusunda bulunan ekstraselüler matriks ile ilişkili mekanosensitif bir fosfoproteindir. Kemik dokusunda osteositlerde eksprese olur. Özellikle osteositlerin dentritik çıkıntılarının içinde bulunduğu kanaliküller matrikste bulunmaktadır. Mekanik yüklenme olduğunda dentin matriks protein ekspresyonu artmaktadır. Lakün ve kanaliküllerde mineralizasyon sürecini düzenleyerek kanaliküllerin açık kalmasını sağlar. Kanaliküller sıvı akımı, osteositlerin kemiğe binen mekanik yükü algılamaları açısından önemlidir. Kanaliküller duvarın tıkalılığı, kemiğe binen mekanik sinyallerin osteositler tarafından algılanması ve iletilmesinde önemli rol oynayabilir (1-6).

Tüm vücut vibrasyon (TVV) rehabilitasyon alanında, profesyonel sporcularda, fitness merkezlerinde artan bir popularite ile kullanılan bir

pasif egzersiz metodudur. Kemik ve nöromusküler sistem, denge üzerine olumlu etkileri bildirilmektedir (7-11).

Genç erişkin kadınlarda yaptığımız bir araştırmada, sadece osteositlerde eksprese olan mekanosensitif sklerostin protein plazma düzeyinin TVV sonrası 10.dakikada arttığı saptandı (12). Kemiğin, mekanik yüklenmeye dinamik yanıtı değerlendirme olanağı sunan bu değişim, daha sonra yapılan araştırmalarda temel veri olarak kullanılmıştır (13,14). Dentin matriks proteini serum düzeyinin mekanik yüklenme ile değişimi varsa, ileride yapılabilecek bazı araştırmalar için önemli bir bilimsel veri olabilir. Bu araştırmanın amacı, genç erişkin sağlıklı erkeklerde dentin matriks protein serum düzeyinin TVV ile değişip değişmediğini ortaya koymaktır.



Materyal ve Metod

Etik kurul onayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesinden alındı. Araştırmaya, 20-45 yaş arasında sağlıklı gönüllü erkek denekler alındı. Dışlama kriterleri, TVV'yi tolere edeme- me, ön koldan kan alamama veya gross hemo- liz idi. Deney sırasında yapılacak işlemler de- neklerle ayrıntılı olarak açıklandı ve bilgilendi- rilmiş onam alındı.

Vibrasyonun serum dentin matriks protein düzeyi üzerine etkisinin araştırıldığı bu pros- pektif araştırmada, serum dentin matriks pro- tein düzeyi tek kör olarak ölçüldü.

Katılımcılar

Araştırmaya hastanemizde çalışan ve dahil edilme kriterlerine uyan 8 sağlıklı denek alındı. Deneklerin yaş ortalaması 31.8 ± 5.8 yıl, boy ortalaması 1.78 ± 3.8 cm ve vücut ağırlığı orta- laması 78.3 ± 8.2 kg idi.

TVV Uygulaması

Deneklerden TVV platformu üzerinde ayakta dik posturde durması, elleri ile TVV cihazı tu- tamalarına tutunması istendi. Deneklerin ayakları çıplak idi ve vibrasyon platformu ile deneklerin ayakları arasında TVV cihazının sün- geri konmadı.

TVV için senkron vibrasyon uygulayan POWERPLATE Pro5 [Amsterdam, The Nether- lands] cihazı kullanıldı. Vibrasyon frekansı 35 Hz, tepe-tepe amplitüdü 2.2 mm, süresi 45 sn idi. TVV bir kez uygulandı.

Kan Alma

Tüm deneklerin sağ antekubital venine IV kanül takıldı. Deneklerden TVV platformu hemen yanında bulunan hasta muayene masasında otururken TVV öncesi kan alındı. Otuz saniye sonra denekler ayağa kaldırıldı ve TVV platfor- mu üzerinde ayakta dik dururken vibrasyon uygulandı. Vibrasyon seti sona erdikten hemen sonra denekler hasta muayene masasına otu- rularak kan örneği alındı. TVV sonrası ikişer dakika ara ile (TVV'dan hemen sonra, 2.dk,

4.dk, 6.dk, 8.dk, 10.dk, 12.dk 14.dk, 16.dk ve 18.dk) 10 kez ikişer mililitre kan örneği alındı.

Kan örnekleri serum separatör tüplerinde top- landı. Tüplere denek kimlik bilgisini ve kan ör- neğinin alındığı zamana bilgisini içeren kodlar yazıldı. Yarım saat içinde 1000xg ile 15 dk sant- rifüj yapıldı. Serum örnekleri ependorf tüplere alınarak, -80 derecede saklandı.

Serum Dentin Matriks Protein Düzeyi Ölçümü

Ölçümler bir araştırmacı tarafından, numunele- re kör olarak yapıldı. Serum dentin matriks protein düzeyi Human Dentin Matrix Protein ELISA kiti (CusabioÔ, Catalog No: CSBE13029h, Newark, DE, USA) ile ölçüldü.

Ölçümler üretici firmasının bilgilendirme pro- pektüsüne göre yapıldı. Minimum ölçülebilen seviye 0.312 ng/ml olup, deneklerimizin hiçbi- rinde ölçülen dentin matriks protein düzeyi bu seviyenin altında değildi. Human Dentin Matrix Protein ELISA kitinin ölçüm-içi kesinlik (CV) değeri 8%den azdır.

İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler için aritmetik ortalama ve standart sapma hesaplandı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smir- nov testi ile teyit edildi. Serum Dentin matriks düzeyinin TVV sırasında değişimi General Li- near Model Tekrarlı Ölçümler Varyans analizi ile test edildi.

P değeri <0.05 ise anlamlı kabul edildi. İstatis- tikel analizler PASW for Windows programın- da yapıldı.

Bulgular

Serum dentin matriks düzeylerinde TVV uygu- laması ile anlamlı değişim saptanmadı ($F(2.2-13.3)= 1.45$ $P=0.271$). Ölçüm sonuçları Tablo 1 de verilmiştir.



Tablo 1. Serum dentin matriks düzeylerinin vibrasyon ile değişimi (n=8) (ng/ml)

Serum örneği	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standard sapma
TVV öncesi	13.1	30.7	22.5	5.8
TVV sonrası 0.dk	12.4	37.0	23.0	9.0
TVV sonrası 2.dk	12.1	27.5	19.9	5.1
TVV sonrası 4.dk	14.6	36.7	21.0	7.5
TVV sonrası 6.dk	13.4	36.6	20.9	7.4
TVV sonrası 8.dk	12.3	50.8	23.1	12.6
TVV sonrası 10.dk	11.9	48.1	21.7	11.5
TVV sonrası 12.dk	8.9	42.5	20.9	11.1
TVV sonrası 14.dk	11.6	31.4	19.3	7.2
TVV sonrası 16.dk	9.9	44.9	19.9	11.8
TVV sonrası 18.dk	11.5	18.8	15.4	2.5

Tartışma

Dentin matriks proteini mekanosensitif bir proteindir. Kemik dokusuna mekanik yüklenme uygulandığı In vitro deneylerde, dentin matriks protein düzeyinin kemik dokusunda arttığı gösterilmiştir (1,5). Bu araştırmada TVV ile kemik dokusu üzerine mekanik yüklenme yapılarak, dentin matriks protein serum düzeyinin değişimi incelenmiştir. Ölçüm ve analizler dentin matriks protein serum düzeyinin erken dönemde (TVV sonrası ilk 18 dakikada) değişmediğini göstermektedir.

Osteositler, birbiri ile dentritik uzantılarla bağlantı kurarak kemik matriks içinde geniş bir mekanosensitif bir ağ oluştururlar. Osteosit gövdesi lakün içinde, dentritik uzantıları ise kanaliküller içinde bulunur. Kemik üzerine mekanik yüklenme olduğunda, kanaliküler duvarlarda esneme olur. Bu esneme intrakanaliküler sıvı basıncının artmasına ve kanaliküler sıvı akımına neden olur. Bu sıvı akımı osteositik dendritik uzantıları uyararak osteositlerin, kemiğe binen mekanik yükün büyüklüğünü algılamasını sağlar. Mekanotransdüksiyon olarak tanımlanan bu süreç, sclerostin, dentin matriks proteini gibi bir dizi moleküllerin ekspresyonu tetikler. Bu proteinler laküner ve kanaliküler matriks mineralizasyon sürecini etkileyerek, matriksin sertliğini ve mekanik yüklenme sırasında laküner ve kanaliküler duvarın esneme kapasitesini düzenlerler (1,15-19).

Daha önce genç erişkin sağlıklı kadınlarda yaptığımız bir araştırmada, plazma sklerostin düze-

yinde, TVV sonrası 10.dakika anlamlı artış olduğu saptandı (12). Literatürde serum dentin matriks protein düzeyinin TVV ile değişip değişmediğini konu edinen bir yayına rastlanmamıştır. Bu araştırmamızda dentin matriks protein serum düzeyinin erken dönemde (TVV sonrası ilk 18 dakikada) değişmediği saptandı. Bu sonucun birçok farklı yorumu yapılabilir. Birincisi mekanik yüklenme sırasında dentin matriks protein düzeyinde değişim, sclerostin farklı olarak, sadece kemik dokusunda ortaya çıkabilir fakat serum düzeyinde anlamlı bir değişim olmayabilir. İkincisi, bu araştırmada serum dentin matriks protein düzeyi TVV sonrası en geç 18.dakikada ölçülmüştür. Serum düzeyinde değişim daha geç ortaya çıkıyor olabilir. Üçüncüsü, mekanik uyarım yapmak üzere 35 Hz frekanslı ve 2.2 amplitüdü TVV uygulandı. Erkeklerin kemik dokusu kadınlardan daha tıkHz bir yapıda olduğu düşünülürse, kemikte osteositleri uyarabilmek için daha güçlü vibrasyon uyarısına gereksinim olabileceği öne sürülebilir. Tüm bu olası durumlar nedeniyle sunulan araştırmamızda dentin matriks protein serum düzeyinde TVV ile değişim saptanmamış olabilir. Yorum konusu olan bu olası durumlar aynı zamanda bu araştırmanın zayıf yönleri olarak değerlendirilebilir.

Sonuç olarak, bu araştırmanın bulguları, sağlıklı genç erişkin erkeklerde dentin matriks protein serum düzeyinin erken dönemde (TVV sonrası ilk 18 dakikada) değişmediği söylenebilir. Fakat dentin matriks protein serum düzeyinin meka-



nik uyarım ile değişmediğini kesin olarak belirleyebilmek için, farklı frekans ve amplitüdlere TVV uygulamasının yapılacağı ve dentin matris protein serum düzeyinde geç değişikliklerin izleneceği yeni araştırmaların yapılması önerilebilir.

Kaynaklar

1. Yang W, Lu Y, Kalajzic I, Guo D, Harris MA, Gluhak-Heinrich J, Kotha S, Bonewald LF, Feng JQ, Rowe DW, Turner CH, Robling AG, Harris SE. Dentin matrix protein 1 gene cis-regulation: use in osteocytes to characterize local responses to mechanical loading in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 2005;280:680-90.
2. Kalajzic I, Braut A, Guo D, Jiang X, Kronenberg MS, Mina M, Harris MA, Harris SE, Rowe DW. Dentin matrix protein 1 expression during osteoblastic differentiation, generation of an osteocyte GFPtransgene. *Bone* 2004;35:74-82.
3. Toyosawa S, Kanatani N, Shintani S, Kobata M, Yuki M, Kishino M, Ijuhin N, Komori T. Expression of dentin matrix protein 1 (DMP1) during fracture healing. *Bone* 2004;35:553-61.
4. Toyosawa S, Shintani S, Fujiwara T, Ooshima T, Sato A, Ijuhin N, Komori T. Dentin matrix protein 1 is predominantly expressed in chicken and rat osteocytes but not in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001;16:2017-26.
5. Gluhak-Heinrich J, Ye L, Bonewald LF, Feng JQ, MacDougall M, Harris SE, Pavlin D. Mechanical loading stimulates dentin matrix protein 1 (DMP1) expression in osteocytes in vivo. *J Bone Miner Res* 2003;18:807-17.
6. Wu H, Teng PN, Jayaraman T, Onishi S, Li J, Bannon L, Huang H, Close J, Sfeir C. Dentin matrix protein 1 (DMP1) signals via cell surface integrin. *J Biol Chem* 2011;286:29462-9.
7. Cochrane DJ. Vibration exercise: the potential benefits. *Int J Sports Med* 2011;32:75-99.
8. Delecluse C, Roelants M, Verschueren S. Strength increase after whole-body vibration compared with resistance training. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1033-41.
9. Di Giminiani R, Manno R, Scrimaglio R, Sementilli S, Tihanyi J. Effects of individualized wholebody vibration on muscle flexibility and mechanical power. *J Sports Med Phys Fitness* 2010;50:139-51.
10. Sitjà-Rabert M, Rigau D, Fort Vanmeerghaeghe A, Romero-Rodríguez D, Bonastre Subirana M, Bonfill X. Efficacy of whole body vibration exercise in older people: a systematic review. *Disabil Rehabil* 2012;34:883-93.
11. Wilcock IM, Whatman C, Harris N, Keogh JW. Vibration training: could it enhance the strength, power, or speed of athletes? *J Strength Cond Res* 2009;23:593-603.
12. Cidem M, Karakoc Y, Ekmekci H, Kucuk SH, Uludag M, Gün K, Karamehmetoglu SS, Karacan I. Effects of whole body vibration on plasma sclerostin level in healthy women. *Turk J Med Sci* DOI:10.3906/sag-1302-88
13. Karamehmetoglu SS, Karacan I, Cidem M, Kucuk SH, Ekmekci H, Bahadir C. Effects of osteocytes on vibration-induced reflex muscle activity in postmenopausal women *Turk J Med Sci* DOI:10.3906/sag-1305-3
14. Cidem M, Karacan I, Dıraçoğlu D, Yıldız A, Küçük SH, Uludağ M, Karakoç Y, Gün K, Özkaya M, Karamehmetoğlu ŞS "Effects Of Whole-Body Vibration Exercise On Muscle Strength & Reflex Myoelectrical Activity: Bone Myoregulation Reflex as a Potential Neuromuscular Mechanism" IOF Regional – 2nd Middle East & Africa Osteoporosis Meeting 6th Pan Arab Osteoporosis Congress PAOC'6. Jordan (2012)
15. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, Torrisi V, Lindner B, Mangiafico RA, Pulvirenti I, Hawa G, Tringali G, Fiore CE. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2248-53.
16. Lombardi G, Lanteri P, Colombini A, Mariotti M, Banfi G. Sclerostin concentrations in athletes: role of load and gender. *J Biol Regul Homeost Agents* 2012;26:157-63.
17. Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, Mantila SM, Gluhak-Heinrich J, Bellido TM, Harris SE, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem* 2008;283:5866-75.
18. Chen JH, Liu C, You L, Simmons CA. Boning up on Wolff's Law: mechanical regulation of the cells that make and maintain bone. *J Biomech* 2010;43:108-18.
19. Sample SJ, Behan M, Smith L, Oldenhoff WE, Markel MD, Kalscheur VL, Hao Z, Miletic V, Muir P. Functional adaptation to loading of a single bone is neuronally regulated and involves multiple bones. *J Bone Miner Res* 2008;23:1372-81.

