



Arşiv Kaynak Tarama Dergisi Archives Medical Review Journal

Biyokimyasal Kemik Belirteçleri

Biochemical Bone Markers

Umut Kökbaş¹

¹Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı,
Nevşehir, Turkey

ABSTRACT

There are many biochemical bone markers with clinical importance that are used as a chorole with radiological techniques in the diagnosis, treatment and monitoring of osteopathies. Biochemical bone markers are considered as indicators of bone formation and resorption rates. Furthermore, when compared to radiological methods, biochemical bone markers gain importance due to their advantages such as easy sample collection, low test cost, applicability, short time intervals in monitoring bone diseases, and replicability. In this study, biochemical markers used in diagnosis and follow-up in osteopathies were evaluated.

Keywords: Bone formation, bone resorption, bichemical markers

ÖZET

Osteopatilerin teşhis, tedavi ve izlenmesinde radyolojik teknikler ile korole olarak kullanılmakta olan klinik öneme sahip birçok biyokimyasal kemik belirteci bulunmaktadır. Biyokimyasal kemik belirteçleri kemik oluşum ve rezorbsiyon hızlarının göstergesi olarak kabul edilirler. Ayrıca biyokimyasal kemik belirteçleri radyolojik yöntemler ile karşılaştırıldığında, örnek toplanmasının kolay olması, test maliyetinin düşüklüğü, uygulanabilirlik, kemik hastalıklarının izlenmesinde kısa zaman aralıkları ile yararlanabilme ve tekrarlayabilme gibi avantajları nedeniyle de önem kazanmaktadır. Bu çalışmada osteopatilerde teşhis ve izleminde kullanılmakta olan biyokimyasal belirteçleri değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kemik yapımı, kemik yıkımı, biyokimyasal belirteçler.

Giriş

Kemik matriksinin yapım ve yıkımının belirlenmesi, kemiği oluşturan veya rezorbe eden hücrelerin salgıladıkları enzimlerin aktivitelerinin ya da yine bu süreçte dolaşıma salınan kemik matriks bileşenlerinin serum veya idrarda ölçülmesi ile gerçekleştirilir. Kemiğin yapım ve yıkım belirteçleri aynı zamanda kemik

teçleri” veya “kemik rezorbsiyon ve formasyon belirteçleri” olarak da adlandırılırlar. (Tablo 1)¹ Osteoporoz ve diğer metabolik kemik hastalıkları için kemik yapım ve yıkım belirteçlerinin secimi ve yorumu yeni gelişen testlerin klinik kullanımındaki belirsizlikler nedeni ile oldukça karışıktır. Bu belirteçlerin ölçümü kemik yapım ve yıkımının eşzamanlı değerlendirilmesine olanak verir. Osteoporoz ve osteopeni gibi hastalıkların tanısı kemik kutlesinin ölçümü ile konulur (örneğin dual enerji x-ray absorptometri, DEXA)². Fakat tedavi ile kemik kutlesindeki anlamlı değişikliklerin bu yöntemlerle saptanabilmesi için 1 ile 3 yıl gereklidir. Bu süre biyokimyasal ölçümlerde 3 ile 6 aydır. Bu belirteçlerin kemik dongusunun belirlenmesinde süre avantajı yanında başka bazı avantajları da vardır. Bu avantajlar: 1) Noninvaziv olmaları, 2) Pahalı 3 olmamaları, 3) Pek çok kere tekrar edilebilme kolaylıkları, 4) Kemik hücre aktivitelerini gösterebilmeleri, 5) Gelecekteki kemik kaybı ve kırılma riskini göstermeleri, 6) Kemik yapım ve yıkımının arttığı hastalıkların patogenezinin anlaşılmasında, tedavisinin takibinde ve tanıya yardımcı olabilmesi şeklinde sıralanabilir. Ancak kemik yapım ve yıkım belirteçlerinin bazı dezavantajları da vardır Farklı duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaları, daha araştırma ve gelişmelerin devam etmesi, biyolojik değişkenliklerinin yüksek olmasından dolayı örneklemenin doğru ve uygun zamanda yapılamaması durumunda bir kez ölçümü yanıltıcı olabilmektedir³.



Kemik yapım ve yıkımı normalde denge halindedir. Bu denge sistemik hormonlar ve bölgesel mediatorler sayesinde gerçekleştirilir. Metabolik kemik hastalıklarında, mobilitenin artması ya da azalmasında ve ilaç tedavileri sırasında kemik döngüsündeki denge bozulabilmektedir. Son yıllarda metabolik kemik hastalıklarının artması ve önemli bir sağlık sorunu olmaya başlaması ile bu hastalıkların tanısında ve takibinde, klinik ve görüntüleme tekniklerinin yanısıra biyokimyasal belirteçler de önemli bir yer tutmaya başlamıştır. Bu belirteçler, non-invaziv, daha ucuz, tekrarlanması kolay, doğru uygulandığında ve yorumlandığında kemik hastalıklarının değerlendirilmesinde önemli bir yardımcı araçtır⁴.

Tablo 1. Kemik yapım ve yıkım belirteçleri.

Kemik Yapım Belirteçleri	Kemik Yıkım Belirteçleri
Serumda Total ve kemik spesifik ALP Osteokalsin Prokollajen Tip 1 karboksi ve amino terminal propeptitleri (PICP, PINP)	Serumda Tartarat dirençli asit fosfataz Kollajen çapraz bağlan: serbest piridinolin ve deoksipiridinolin Tip 1 kollajen telopeptit çapraz bağ (cross-link) yıkım ürünleri (CTX, NTX) Kemik sialoproteini İdrarda Kollajen çapraz bağları (cross-link): Piridinolin ve deoksipiridinolin Tip 1 kollajen telopeptit çapraz bağ (cross-link) yıkım ürünleri (CTX, NTX) Hidroksiprolin Galaktozil hidroksilizin Osteoklastik asit fosfataz

Kemik Yapım Belirteçleri

Total ve Kemik Spesifik Alkalen Fosfataz:

Alkaten fosfataz alkali pH' da organik ve inorganik substratlardan bir fosforik ester bağı hidroliz eden enzimler sistemi topluluğudur ve hucre zarında bolgeseldir⁵. Dort izoenzimi vardır: plesental, intestinal, germinal ve karaciğer-kemik-bobrek izoenzimleri. Dolaşımdaki ALP aktivitesinin %95'ini kemik, karaciğer ve bobrekten salgılanan ALP oluşturur. Bu uc izoenzim aynı gen lokusundan koken aldıkları halde posttranslasyonel sializasyon ve glikozilasyonlan farklıdır. Kemik ALP'sinin diğer izoenzimlerden ayrı ölçülebilmesinin nedeni bu sializasyon ve glikozilasyondaki farktır⁶.

Normal karaciğer fonksiyonu olan hastalarda ALP kemik formasyonu için iyi bir belirtedir. Ama karaciğer hastalıklarında durum değişebilmektedir. Bu durumda kemik ALP ölçümü total ALP ölçümüne tercih edilmelidir. Kemik ALP ölçümü osteomalazi hastalarında mineralizasyondaki bozukluk nedeniyle, 1,25 (OH)2D3' un anormal düzeylerinde veya tedavisinde yanıtıcı olabilir. Bu tür olaylarda kemik spesifik ALP tayini yerine prokollajen peptidlerin ölçümü çok daha iyi bir göstergedir. Serumda kemik ALP aktivitesi mineralizasyon ve kemik yapımının göstergesidir. Demineralizasyon durumlarında yüksek düzeydedir. ALP aktivitesi fizyolojik olarak çocukluk, ergenlik ve yaşlılıkta yükselir. Paget hastalığı, hiperparatiroidizm, hipotiroidizm, raşitizm, 5 osteomalazi, renal osteodistrofi ve hepatobilyer hastalıklarda enzim aktivitesi artmıştır.

Konjenital eksikliğinde otozomal dominant hipofosfatazya gelişir⁷. ALP aktivitesi yaş, cinsiyet, menopoza ve ergenlik dönemlerinden etkilenir. önceleri kemik ALP ölçümünde ısı inaktivasyonu, wheat-germ lesitin presipitasyonu ve immünelektroforez teknikleri kullanılmaktaydı. Analitik duyarlılık ve Özgüllüğün düşüklüğü, ekonomik ve güvenilir olmayışları nedeni ile rutine uygulanamamıştır. Yakın zamanda kemik ALP'sine spesifik monoklonal antikorlar geliştirilmiş ve immunassay olarak rutine girmiştir. Bireyler arası ve birey içi varyasyonu düşüktür, uzun yan omru (1-2 gün) nedeniyle diurnal varyasyondan etkilenmez, günün herhangi bir saatinde ölçüm yapılabilir. Yiyecek alımından etkilenmez⁸.

Osteokalsin:

Osteokalsin, diğer adıyla GLA proteini kemik dokusuna spesifik, osteoblast, odootoblast ve kondroblastlar tarafından sentezlenen, polipeptit zincirinde uc glutamik asidin posttranslasyonel karboksilasyonu ile oluşmuş, γ -karboksi glutamik asid içeren, 49 amino asitli, kemik matriksinin kollajen dışı bir proteindir. Spesifik olarak 17, 21 ve 24 amino asitler glutamik asitdir. Osteokalsinin karboksile olmamış bir fraksiyonu vardır ki bu hidroksiapatite bağlanmaz. Bu fraksiyon yaşla birlikte artar, γ - karboksilasyon vitamin K'ya bağlıdır. 1,25(OH)₂D₃ osteokalsin sentezini uyarır. Primer ve sekonder hiperparatiroidizm, osteoporoz, Paget hastalığı, kemik metastazları ve renal osteodistrofilerde serum seviyeleri artar. Hipoparatiroidi, hipotiroidi, Cushing sendromu, multiple myelom, malign hiperkalsemi, glukokortikoid tedavisin ve östrojen kullanımında ise serum düzeyi düşer⁹.

Serum osteokalsini osteoblastik aktivitenin özel bir göstergesidir. Osteoblastlarca sentez edilen osteokalsin hücre dışı matrikse katılır. Sentezlenen molekulun %10-25'i dolaşıma verilir. Dolaşıma katılan miktar kemik yapımını yansıtır. Dolaşımda intakt molekul (1-49 aa) %49, geniş N-terminal fragmanı (1-43 aa) %40, ve uc küçük fragman (1-19, 20-43, 29-49 aa) %34 oranında bulunurlar¹⁰.

Osteokalsinin diürenal ritmi vardır. En düşük değerine 17:00 civarlarında, en yüksek değerlerine ise 04:00 civarında ulaşır. Diürenal varyasyon %30 civarındadır. Menstrual döngüde de salınımında farklılık olur ve luteal fazın sonunda pik yapar. Gebeliğin 1. trimestirinde düşer, 3. trimestirde yükselir ve postpartum dönemde yüksek kalır. Osteokalsin serum düzeyi siyah ırkta beyaz ırka göre daha düşüktür. Serum düzeyleri yaş ve cinsiyete göre de değişkenlik gösterir. Puberte ve adolesan dönemde yüksek düzeydedir. Erkeklerde kadınlara oranla daha yüksektir. Kadınlarda 4. Dekattan sonra artmaya başlar oysa erkeklerde 30-60 yaşlarında sabit kalır. Kadınlardaki artış 5. ve 6. dekatlarda yaklaşık iki kat kadardır. Artışın nedeni postmenopozal östrojen eksikliğidir, östrojen tedavisinden sonra serum düzeyi normale döner. Osteokalsin düzeyleri perinatal dönemde beslenmeden etkilenir. Anne sütü alanlarda inek sütü alanlara göre daha yüksek seyredir. Monoklonal antikor kullanılarak yapılan sandviç immünassay yöntemi ile osteokalsinin farklı fragmanları ölçülebilmektedir¹¹.

Prokollajen Tip I Karboksi ve Amino-terminal Propeptit (PICP, PINP)

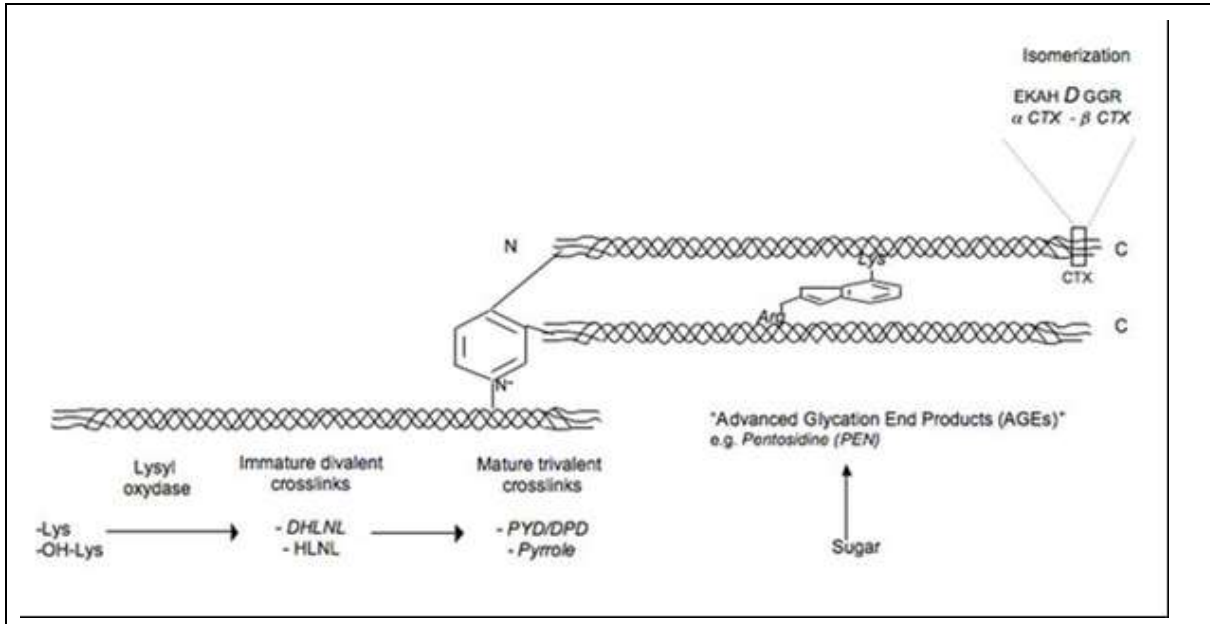
Prokollajen I, kollajen I'in öncü molekuludur. Prokollajen I'in karboksi ve aminoterminal uzama peptitlerinin uçlarından hücre dışı spesifik bir endoproteinaz tarafından ayrılma gerçekleştirilir. Bu peptitler dolaşıma katılır ve Tip I kollajenin sentez hızının ve kemik yapımının göstergesi olarak kabul edilir¹¹.

Serum konsantrasyonlarının artması kemik yapımının yıkıma göre azaldığını gösterir. Uygun tedavi yapıldığında (kalsitonin, bifosfanat gibi) prokollajen I düzeyleri azalır. Bu belirteçler kemik yanında cilt, tendon, gingiva, kalp kapağı, büyük damarlar ve barsaklarda da bulunduğu için kemik yapımının spesifik bir belirteci olmadığı düşünülür. Diürenal varyasyonu vardır, sabaha doğru pik yapar. Yiyecek alımından etkilenmez. Menopoz sonrası, yeni doğan, puberte ve Paget hastalığında serum düzeyleri artar, ölçümünde spesifik immünassay kullanılır¹².

Kemik Yıkım Belirteçleri

Kollajen Çapraz Bağları: Piridinolin (DVD) ve Deoksipiridinolin (DPD)

Tip I kollajen molekülleri hücre dışında N ve C propeptitlerin enzimatik kesilmeleri sonucu prokollajen molekulundan oluşur. Olgunlaşmamış kollajen molekülleri molekul içi ve moleküller arası kovalent ve çapraz bağların oluşması ile olgun fibrilleri meydana getirirler. Lizil oksidaz enzimi lizin ve hidroksilizinlerin ϵ -amino gruplarını deamine eder ve böylece aktif aldehid grupları oluşturur. Sonuçta uc aminoasit yan zincirleri reaksiyona girerek 3-hidroksipiridinium halkalarını oluştururlar. Oluşan çapraz bağlar ya iki hidroksilizin ve bir lizin yan zincirinin reaksiyonu ile oluşan 7 deoksipiridinolin, ya da uc hidroksilizin yan zincirlerinin reaksiyonları ile oluşan piridinolindir¹².



Şekil 2.6. Kollojen çapraz bağları¹³.

Piridinolin ve deoksipiridinolin 3-hidroksipiridinium turevleridir. Tip I kollajenin yapısında bulunan bu çapraz bağlar (cross-link) kollajenin hücre dışı maturasyonu sırasında oluşur ve yapıyı stabilize ederler. Olgun kollajen fibrillerinin arasında bulunan bu bağlar, fibrillerin proteolitik olarak yıkılması ve çapraz bağ içeren bileşenlerin salınması sonucunda oluşurlar (Şekil 2.3)¹³. Yıkım osteoklastlar tarafından gerçekleştirilir. PYD esas olarak kemik, kırık ve daha az miktarlarda diğer bağ dokularında bulunurken DPD sadece kemik Tip I kollajenin yapısında bulunur. DPD çapraz bağları kollajendeki tüm çapraz bağların %21'ini oluşturur. İnsanda PYD/DPD oranı 2/3'tür. Her iki belirteç de hücre dışına salınmış kollajenin posttranslasyonel modifikasyonu ile oluştuğundan ve hücre dışı matriks ile birleştiğinden kollajen sentezinde tekrar kullanılmazlar. DPD ve PYD vücutta metabolize edilmezler, idrarla serbest formda (%40) ve peptite bağlı olarak (%60) atılır¹³.

DPD ve PYD idrar düzeyleri osteoporoz, Paget hastalığı, malign hiperkalsemi, hipertiroidi, osteomalazi ve hiperparatiroidizm gibi hastalıklar yanı sıra çocuklarda ve menopozda da artar; östrojen tedavisinde ve hipoparatiroidizmde azalır. İdrarla atılmadan önce vücutta metabolize olmadıklarından ve barsaktan emilimleri olmadığından yiyeceklerden etkilenmezler, gıda kısıtlamasına gerek kalmaz. DPD ve PYD sirkadian ritim gösterirler, gece pik yaparlarken, sabah 08:00-11:00 arası düşmeye başlar, öğleden sonra en düşük seviyelere (%30 azalır) ulaşır. Hem idrar hem de serumda ölçüm yapılabilir. İdrarda ölçüm 24 saatlik idrarda veya anlık idrarda yapılır. 24 saatlik idrar toplama gucluğu ve saklanması sorularından dolayı sabah 08:00 - 11:00 arasında alınan anlık idrar örneklerinde de çalışlabilmektedir, sonuçlar idrar kreatininine göre düzeltilerek rapor edilebilmektedir, ölçümler immünassay ve HPLC (referans yöntem) yöntemleriyle yapılır. Piridinolin ve deoksipiridinolin preparatif kromatografiden sonra HPLC'de ters fazlı kolonlarda iyon eşli ajanlar kullanılarak ayrılır¹⁴.

Tip 1 Kollajen N-Telopeptit ve C-Telopeptit Çapraz Bağ Yıkım Ürünleri (NTX, CTX)

Kollajen molekülünün çapraz bağları, amino ve karboksiterminal telopeptit denilen bölgesindedir. Kollajenin yıkım ürünleridir. Sadece yeni üretilen kollajenden köken alırlar. NTX kemiğe daha spesifiktir. Hem idrar hem de serumda ölçüm yapılabilir. Karboksiterminal telopeptitin α ve β formları (α-CTX, β-CTX) vardır¹¹.

Kemik dongusunun arttığı durumlarda serum ve idrar düzeyleri artar, östrojen tedavisinde kemik dongusu azalacağından düzeyleri düşecektir. İdrar NTX derişimi postmenopozal kadınlarda piridinolin ile paralellik gösterir. Diurnal varyasyonları vardır. Sabaha karşı en yüksek, öğleden sonraları en düşük düzeydedir. Bu yüzden kan örnekleri sabah alınmalıdır. İdrar ölçümleri 24 saatlik idrar ya da kreatinine göre düzeltilerek sabah ve ikinci idrarda yapılır. CTX serum ölçümü diyetten etkilenir örnekler açlıkta alınmalıdır. CTX düzeyleri bobrek fonksiyonlarından etkilenir. Ölçümünde direk immunassay yöntemleri kullanılır^{15, 16}.

Hidroksiprolin ve Hidroksilizin Glikozidleri

Kollajen sentezinin posttranslasyonel modifikasyonu evresinde intraselluler olarak oluşur. Hidroksiprolin (Hyp) kollajenin amino asid içeriğinin %12-14'ünü oluşturur. Hyp'nin yaklaşık %90'ı kemik kollajeninin yıkımında açığa çıkar. İdrarla atılan Hyp, total Hyp havuzunun %10'udur. Karaciğerde metabolize olur ve idrarla vücuttan atılır. İdrarda bağlı ve serbest formları kolorimetrik olarak ve HPLC yöntemleriyle ölçülebilir¹⁷. Deri gibi diğer bazı dokularda da bulunduğu için kemiğe spesifik bir belirteç değildir. Et ve diğer kollajen içeren gıdalardan etkilendiği için ölçüm öncesi özel 9 diyet uygulanmalıdır. Ölçüm 24 saatlik idrarda veya sabah açlık idrarında yapılır. Bu dezavantajlarından dolayı idrar Hyp ölçümünün yerini daha spesifik belirteçler almıştır. Yüksek kemik dongusuyla seyreden durumlarda, menopoz ve pubertede, Paget hastalığı, osteomalazi, hiperparatiroidi, hipertiroidi, multiple myelom, renal osteodistrofi ve kemik metastazlarında yüksek seyredir¹⁸.

Hidroksilizin iki glikozile formda bulunur: Glikozil-galaktozil-hidroksilizin (GGHL) ve galaktozil hidroksilizin (GHL). GGHL deride daha baskınken, GHL kemiğe daha spesifiktir. Hidroksilizin kollajen yıkımında kana salınır, metabolize edilmeden idrarla atılır, diyetten etkilenmez. HPLC ile ölçümü yapılır¹⁹.

Tartarat Dirençli Asit Fosfataz (TRAP)

Asit fosfataz lizozomal kaynaklı bir enzimdir. Beş izoformu vardır: prostat, kemik, dalak, trombosit, eritrosit ve makrofajlarda bulunur. Bu izoformlardan Beş izoform 5 dışındakiler tartarat ile inhibe edilir. Bu yüzden izoform 5'e tartarat dirençli asit fosfataz denilmiştir. TRAP'ın iki alt grubu vardır: sialik asit içeren bant 5a ve sialik asit içermeyen bant 5b. Bant 5b alt grubu kemikte osteoklastlarca sentezlenir ve salınır. Bu altgrup yiyeceklerden etkilenmez. Osteoporoz, Paget hastalığı, multiple myelom ve kemik metastatik hastalıklarında serum seviyeleri yükselir^{17,20}.

Kemik Sialoproteini (BSP)

Odontoblast ve osteoblastlarca sentezlenen, 70-90 kD ağırlığında fosforile bir glikoproteindir. Non-kollajenoz kemik matriksinin %5-10'unu oluşturur. Hücre adezyon molekulu olarak davranır. Osteoblast ve osteoklastların matrikse tutunmalarında, hidroksiapatit kristallerinin oluşumu, kemik rezorpsiyonunun artması ve kemik mineralizasyonunda önemli görevleri vardır. Kemik sialoproteini kemik yıkımına özgüdür. Serumda ölçümü için poliklonal immunassay yöntemleri geliştirilmiştir. Puberte, menopoz sonrası, osteoporoz, hiperparatiroidi, Paget hastalığı, multiple myelom ve metastatik kemik hastalıklarında serum düzeyleri yüksektir²¹.

Kemik yapım ve yıkım belirteçlerinin hiçbirisi bir hastalığa özgü değildir, ama altta yatan sebepten bağımsız olarak iskelet metabolizmasındaki değişiklikleri yansıtabilir. Fakat bazıları belirli bir kemik hastalığında, hastalığı tayin etmede diğerlerinden daha duyarlı olabilir. Örneğin serum osteokalsini osteoporozdaki kemik değişikliklerini¹⁰ göstermede alkalen fosfatazdan daha duyarlı olduğu halde, kemiğin Paget hastalığında tam tersidir. Bu bileşiklerden bazıları hem kemik oluşumu hem de kemik yıkımını yansıtabilir (idrarda hidroksiprolini). Bazı kemik belirteçleri kemikten başka dokularda da bulunabilir, bu nedenle iskelet dışı nedenlerden de etkilenebilir. Osteoporozlu hastalarda kemik dongusunun değerlendirilmesinde kemik yıkım belirteçleri daha değerlidir. Günümüzde geçerli olan tedavi şekli antirezorptif tedavidir. Kemik yıkım belirteçleri bu tedaviye daha erken yanıt verebilmektedir. Tedavi ile %30- 60 azalma olduğu bildirilmiştir. Antirezorptif tedaviye yanıtın en iyi göstergesinin telopeptitler, daha az olarak total piridinolin ve en az olarak da serbest piridinolin olduğu bildirilmiştir^{22,23}.

Kemik Yapım ve Yıkımını Etkileyen Faktörler

Kemikğin yeniden yapılanması aktivasyon, yıkım ve yapım sırası ile gerçekleşir. Kemik yıkımı, matriksin yıkımı ve mineral bolumunun çözünmesi, yapımı ise matriksin sentezi ve mineralizasyonudur. Bu olaylar zinciri bazı hormon ve büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir (Tablo 2)²⁴.

Tablo 2. Kemik yapım ve yıkımında rol oynayan faktörler²⁴

Paratiroid Hormon	Platelet kökenli büyüme faktör (PDGF)
Vitamin D	Fibroblast büyüme faktör (FGF)
Kalsitonin	İnsulin benzeri büyüme faktör (IGF-I,II)
Tiroid Hormonları	Transforming büyüme faktör (TGF- β , 1,2,3)
Büyüme Hormonları	Kemik morfojenik protein
Glutokortikoidler	Prostaglandin E2 (PGE2)
İnsulin	İnterlokün-1 (IL-1)
Cinsiyet Hormonları	Tumor nekrozis faktörler (TNF- α , β)
	Koloni stimüle edici faktör (CSF)

Paratiroid Hormon

PTH paratiroid bezi esas hücrelerinde sentez edilir, depolanır ve salgılanır. Prepro-PTH olarak sentezlenir. PTH'ın pre ve pro formlarının enzimatik yıkımından sonra, golgi aygıtında modifikasyona uğrar. İntakt PTH 84 amino asitli ve N-terminal bölgesindeki ilk 34 amino asiti tam aktiviteden sorumludur²⁵. Kalsiyumun en önemli düzenleyicisidir. Bunu kemik, ince barsaklar ve böbrek üzerindeki etkileri ile yapar. PTH'ın kemikteki hedef hücrelerinin osteoblast olmasına karşın en çok etkilenen hücreler osteoklastlardır. Ama etkisi indirekt yoldadır çünkü osteoklastlar üzerinde reseptörleri tesbit edilememiştir. Osteoklastlara etkisi doza bağlıdır. Yüksek konsantrasyonlarda kemik formasyonunu inhibe ettiği halde, düşük dozlarda formasyon aktive edilir²⁶. Böbreklerde proksimal tubule etki ederek fosfatın reabsorpsiyonunu azaltır, distal tubule etkileyerek de kalsiyum reabsorpsiyonunu artırır. Bu etkilerini cAMP ile hücre içi kalsiyum miktarının artması, fosfolipaz C' nin uyarılması ve fosfotidilinositol hidrolizi ile gerçekleştirir. Böbreklerde 1- α hidroksilaz enzimini aktive ederek 1-25 vit D3' un yapımını artırır. 1-25 vit D3' de ince barsaklardan kalsiyum ve fosfat emilimini artırır. Net etki serum kalsiyum derişiminin artırılması şeklindedir²⁷.

PTH ölçümü, hiperkalsemi ve hipokalseminin ayırıcı tanısında, renal yetmezlikli hastalarda, kemik ve mineral metabolizması bozukluklarında paratiroid değerini değerlendirmek amacıyla yapılır. PTH ve kalsiyum ölçümü birlikte yapılmalıdır Kalsiyum sonucu olmadan PTH sonucunu yorumlamak yanlışlıklara neden olabilir.

Biyolojik olarak aktif intakt PTH'nın yarılanma omru 5 dakikadır. Paratiroid bezinden intakt PTH yanında, inaktif orta bölge veya karboksil amino asit içeren PTH fragmanları (34-84, 37-84 aa.) da salgılanır. Bunların yarı omurleri bir dakika kadardır Renal yetmediklerde yarı omurleri ve serum düzeyleri önemli ölçüde artar. İmmunreaktif PTH'ın %5-25'i intakt, %75-95'i inaktif formlardır²⁸.

Ölçümde önceleri RIA kullanılmakta ve yanlış yüksek sonuçlara neden olmaktadır. Çünkü bu yöntemle C-terminal, N-terminal ve orta bölge birlikte ölçülmekteydi. Daha sonraları C-terminal bölgeye spesifik antikorların üretilmesi ile immunokemiluminometrik yöntemlerin gelişmesiyle bugün daha özgül ve duyarlı ölçüm yapılabilmektedir²⁹.

Ölçümlerde serum tercih edilir. PTH kararlı olmadığından serum hemen ayrılmalı, ya hemen çalışılmalı ya da dondurulmalıdır. Serum düzeyleri oda ısısında birkaç saat, buzdolabında bir günden sonra düşmektedir³⁰.

Vitamin D

Kolekalsiferol (vitamin D₃) ve ergokalsiferol (vitamin D₂) vitamin D'nin ana metabolitleri olarak sınıflandırılır. Kolekalsiferol doğal ve deride 7-dehidrokolesterolun güneş ışığı ile etkileşimi sonucu oluşur³¹. Ergokalsiferol ise sentetik veya mayalarda yapılan ergokalsiferolun (provitamin D₂) radyasyona maruz kalması ile oluşmaktadır. İnsanlarda iki form da aktiftir. Vitamin D olarak yazılımında her iki form kastedilir. Vitamin D karaciğerde 25- hidrosilaz ile 25-hidroksivitamin D'ye, bobrek ve plasentada ise 1-hidroksilaz ile 1,25(OH)₂D₃'ye metabolize olur. Metabolik olarak aktif form 1,25(OH)₂D₃'dir. Alternatif olarak inaktif şekli olan 24,25(OH)₂D₃ ise 24- hidroksilazdan sentezlenir. Dolaşımında en fazla bulunan form 25(OH)D₃'dir (yaklaşık 1,25(OH)₂D₃'nin 1000 katı). 1,25(OH)₂D₃ ve 25(OH)D₃ dolaşımında vitamin D-bağlayıcı proteine bağlı olarak bulunur. 1,25(OH)₂D₃'nin %0.4'u, 25(OH)D₃'nin ise %0.03'u serbest haldedir^{28,31}.

1,25(OH)₂D₃'nin dolaşımdaki konsantrasyonları başlıca Paratiroid hormon ve fosfat tarafından düzenlenir. PTH 1,25(OH)₂D₃ sentezini artırır, fosfat ise azaltır. Kalsiyum ise düşük seviyelerde PTH salınımını uyarak 1,25(OH)₂D₃ sentezini dolaylı olarak artırır. Yüksek düzeylerde 1,25(OH)₂D₃ osteoklastlara etki ederek kemik yıkımını artırır, kalsiyum ve fosfatın serbestleşmesini sağlar. Fizyolojik düzeylerde primer etkisi osteoklastları aktive etmek değildir. Kemik iliğinde ana hücrelere etki ederek osteoklast yapımını artırır. Bu etki düşük kalsiyum düzeylerinde, PTH urerinden olur⁷.

Klinik olarak sadece 25(OH)D₃ ve 1,25(OH)₂D₃ ölçümünün değeri vardır. 1,25(OH)₂D₃ güneş ışığına yetersiz maruz kalmada, diyetle yetersiz alımında, şiddetli karaciğer hastalığı, nefrotik sendrom, metabolizmasının arttığı durumlarda (antikonvulzan ilaçlar) ve emiliminin azaldığı durumlarda serum düzeyleri düşer. 1,25(OH)₂D₃ ise primer hiperparatiroidizm, lenfoma, granulomatoz hastalıklar, vitamin D bağımlı raşitizm Tip II ve intoksikasyonlarında serum düzeyleri artar. Bobrek yetmezliği, hiperfosfatemide hipomagnezemi, hipoparatiroidizm, vitamin D bağımlı raşitizm Tip I ve malignensiye bağlı hiperkalsemi serum düzeyi azalır. 25(OH)D₃ serum düzeyleri yaz ve sonbaharda yüksek, kış ve bahar aylarında düşüktür. 1,25(OH)₂D₃ çocuklarda yetişkinlerden ve buyumunun çok aktif olduğu dönemlerde yüksektir³².

Vitamin D metabolitlerinin ölçümü; kromatografi kullanan ölçümler için plazma tercih edilse de tipik olarak serum kullanılır. Oda ısısında ve +4°C'de kararlıdır, ölçüm gecikecek ise serum dondurulmalıdır. Serumda vitamin D metabolitleri ışığa duyarlı değildir³³.

Ölçümü için radyoimmünassay (RIA), yarışmalı protein bağlama ölçümleri (CPBA), yarışmalı reseptör ölçümleri ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi yöntemler kullanılır. Serum düzeyleri; 1,25(OH)₂D₃ 15-60 pg/ml, 25(OH)D₃ 10-15 ng/ml'dir^{7,34}.

Kalsitonin

Kalsitonin tiroid bezinin parafollükuler veya C hücrelerinden salgılanan 32 amino asitli bir polipeptittir. Salınımı başlıca dolaşımdaki serbest kalsiyum tarafından düzenlenir. Normal kalsiyum düzeylerinde hipokalsemik etkisi gözlenmez Artmış Serum kalsiyumu kalsitonin salınımını uyarır. Kalsitonin farmakolojik dozlarda osteoklastik kemik yıkımını engelleyerek, serum kalsiyum ve fosfat düzeylerini azaltır. Osteoklastlarda spesifik olarak kalsitonin reseptörü bulunur. Bobrek tubüllerinden kalsiyum, fosfat, magnezyumun ve diğer iyonların reabsorpsiyonunu azaltır. Bobreklerde 1-hidroksilazı aktive ederek 1,25(OH)₂D₃ yapımını uyarak kalsiyum emilimi üzerine de etkilidir³⁵.

Tiroid bezinin Medullar Tiroid Kanseri'nde [MEN IIa ve MEN IIb (Multiple Endokrin Neoplazi) ailesine ait tumordür], intestinal, bronşiyal, gastrik karsinomlarda ve özellikle akciğerin küçük hücreli tumorunda, melanoma, feokromasitoma, pankreas ve meme kanserlerinde, akut ve kronik bobrek yetmezliklerinde yüksek düzeydedir. Serumda kalsitonin ölçümü RIA, iki yonlu işaretli antikor yöntemi (IRMA) ve enzim-bağımlı immunosorbent ölçüm (ELISA) ile yapılmaktadır. Kalsitoninin referans aralığı yonteme bağlı olarak oldukça değişkenlik gösterir. Erkeklerde serum kalsitonin bazal seviyesi 25 pg/ml veya daha az, kadınlarda 20 pg/ml veya daha azdır^{34,36}.

Diğer Faktörler

Glukokortikoidler: Kemikte etkileri doza bağlıdır. Yüksek derişimlerde osteoblastlar üzerine direk inhibitor etkilidir. Kollajen sentezini yavaşlatırlar. İntestinalkalsiyum emilimini az alttıklarından, hipokalsemiye yanıt olarak artan PTH'nın etkisi ile osteoklastik aktivitenin artmasına neden olurlar. Fizyolojik düzeylerde osteoblastik etki ederler. Düşük düzeylerde kemik kollajen yapımını arttırlar^{25,34}.

Büyüme Hormonu: Kemik yapımını arttırıcı etkisi vardır. Uzunlamasına (lineer) buyumeye etkilidir. Kemik üzerine etkisi direk ve indirek yollarla olur. Direk etkisi IGF I üzerindedir³⁴.

İnsülin: Fizyolojik düzeylerinde direk kollajen yapımını arttırır. Daha yüksek düzeylerde somatomedin reseptorleri üzerinden indirek yolla kemik yapımını arttırır.

Tiroid Hormonları: Yüksek düzeylerde kemik yapım ve yıkım hızını arttırarak hiperkalsemiye neden olurlar. Rezorpsiyonu direk uyarır. Buyumeyi hızlandırır. Tiroid hormonları bu etkilerini somatomedin ve diğer buyume faktorlerin yapımını direk arttırarak gerçekleştirir³⁷.

Cinsiyet Hormonları: Puberte döneminde buyumenin ani hızlanmasını düzenlerler. Puberte sonrası ise epifizyal buyume plaklanm kapanmasını sağlayarak uzun kemiklerin buyumesinin sonlandırılmasında rol oynarlar. Bölgesel ve sistemik faktörler: IGF I ve IGF II buyume hormonuna bağımlıdır. IGF I Tip I kollajen, osteokalsin ve matriks sentezini uyarır. Hem kemikte hem de karaciğerde sentezlenir. Yaşlanma ile birlikte serum seviyeleri düşer. PG E2 kemik yıkımının güçlü bölgesel bir uyarıcısıdır. Yüksek düzeylerde kollajen sentezini inhibe eder. IL-1 monosit, makrofaj ve kemik iliği stromal hücrelerinden sentezlenir, kemik yıkımını arttırlar. Osteoklastların güçlü bir uyarıcısıdır. TNF makrofajlardan salgılanan kemik yıkımı yapan bir faktördür. CSF makrofaj, T-lenfosit, epitelyal hücreler ve stroma hücrelerinden salınır, kemik yıkımını arttırır³⁴.

Sonuç

Kemik dokunun biyokimyasal incelemesinde kemik yapımı ve yıkımı bir bütün olarak değerlendirilmektedir. Bu butune bakılırken izlenecek parametreler hastanın içinde bulunduğu duruma göre seçilmelidir. Zira hastanın yaşam biçimi, yaşı, cinsiyeti, kullandığı ilaçlar ve sahip olduğu hastalıklar da parametre seçiminde önemli rol oynamaktadır. Değerlendirme sonucunda elde edilecek veriler hastanın teşhis ve tedavi sürecinde etkin müdahalelerde bulunmaya olanak sağlayacaktır. Tüm bu veriler ışığında yapılacak değerlendirmeler bireysel tedaviye olanak sağlayan kişiselleştirilmiş tıp için önem arz etmektedir.

Kemik parametrelerinin takibi biyokimyasal kemik belirteçlerinin yanı sıra radyolojik yöntemlerle de desteklenmesi gerekmektedir ancak biyokimyasal kemik belirteçlerinin 15 düzenli izlemi potansiyel kemik kaybının erken dönem habercisi olarak kullanılabilir. Radyolojik teknikler sadece mevcut bulunan durumu gösterebilmekteyken biyokimyasal kemik belirteçleri ileri zamanlı tahmine olanak sağlamaktadır. Erken tespit kemik kaybının önüne geçebilmek için önem arz etmektedir.

Kaynaklar

1. Silvent J, Nassif N, Helary C, Azais T, Sire JY, and Guille MM. Collagen osteoidlike model allows kinetic gene expression studies of non-collagenous proteins in relation with mineral development to understand bone biomineralization, PLoS One. 2013; 8:e57344.
2. Lopez-Larramona G, Tenias Burillo JM, and Lucendo Villarin AJ. The Association between Nutritional Screening Via The Conut Index And Bone Mineral Density In Chronic Liver Disease of Various Etiologies, Hepatol Res. 2014;
3. Murtezani A, Nevzati A, Ibraimi Z, Sllamniku S, Meka VS, and Abazi N. The Effect of Land versus Aquatic Exercise Program on Bone Mineral Density and Physical Function in Postmenopausal Women with Osteoporosis: a Randomized Controlled Trial, Ortop Traumatol Rehabil. 2014;16:319-25.
4. Minisola G, Iuliano A, and Prevete I. Emerging therapies for osteoporosis, Reumatismo. 2014;66:112-24.
5. Wang Y, Bishop NM, Taatjes DJ, Narisawa S, Millan JL, and Palmer BM. Sexdependent, zinc-induced de-phosphorylation of phospholamban by tissue nonspecific alkaline phosphatase in the cardiac sarcomere, Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2014;
6. Liu J, Nam HK, Campbell C, Gasque KC, Millan JL, and Hatch NE. Tissue nonspecific alkaline phosphatase deficiency causes abnormal craniofacial bone development in the Alpl mouse model of infantile hypophosphatasia, Bone. 2014;67C:81-94.
7. Dahlman I, Gerdhem P, and Bergstrom I. Vitamin D status and bone health in immigrant versus Swedish women during pregnancy and the post-partum period, J Musculoskelet Neuronal Interact. 2013;13:464-9.

8. Gallo S, Comeau K, Sharma A, Vanstone CA, Agellon S, Mitchell J, Weiler HA, and Rodd C. Redefining normal bone and mineral clinical biochemistry reference intervals for healthy infants in Canada, *Clin Biochem*. 2014;
9. Kumchev EP, Stanchev VL, Yaneva MP, Botushanova AD, Dimitrova RH, and Dimitrakov DJ. Assessment of serum osteocalcin level in pre-dialysis patients with chronic renal failure, *Folia Med (Plovdiv)*. 2000;42:14-8.
10. Christensen JD, Lungu AO, Cochran E, Collins MT, Gafni RI, Rother KI, Gorden P, and Brown RJ. Bone Mineral Content in Patients With Congenital Generalized Lipodystrophy Is Unaffected by Metreleptin Replacement Therapy, *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;jc20141353.
11. Lumachi F, Santeufemia DA, Del Conte A, Mazza F, Tozzoli R, Chiara GB, and Basso SM. Carboxy-terminal telopeptide (CTX) and amino-terminal propeptide 16 (PINP) of type I collagen as markers of bone metastases in patients with non-small cell lung cancer, *Anticancer Res*. 2013;33:2593-6.
12. Tokuda T, Hasegawa J, Matsuda A, and Hagino H. Bone mineral density in residents of care facilities for the aged and effect of pharmacotherapy, *Yonago Acta Med*, 2014;57:45-52.
13. Shetty R, Nagaraja H, Jayadev C, Shivanna Y, and Kugar T. Collagen crosslinking in the management of advanced non-resolving microbial keratitis, *Br J Ophthalmol*, 2014;98:1033-5.
14. Mertens ME, Hermann A, Buhren A, Olde-Damink L, Mockel D, Gremse F, Ehling J, Kiessling F, and Lammers T. Iron Oxide-labeled Collagen Scaffolds for Non-invasive MR Imaging in Tissue Engineering, *Adv Funct Mater*, 2014;24:754-62.
15. Xia S, Fan X, Huang Z, Xia L, Xiao M, Chen R, Xu Y, and Zhuo C. Dominance of CTX-M-Type Extended-Spectrum beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* Isolated from Patients with Community-Onset and Hospital-Onset Infection in China, *PLoS One*, 2014; 9:e100707.
16. Greiner C, Cavalier E, Remy B, Gabriel A, Farnir F, Gajewski Z, and Carstansen B. Biochemical markers of bone turnover during pregnancy in horses: a longitudinal study, *Pol J Vet Sci*. 2012;15:793-5.
17. Anai T, Urata K, Mori A, Miyazaki F, and Okamoto S. Transient osteoporosis of the hip in pregnancy associated with generalized low bone mineral density--a case report, *Gynecol Obstet Invest*. 2013;76:133-8.
18. Bogers SH, Rogers CW, Bolwell CF, Roe WD, Gee EK, and McIlwraith CW. Impact of race training on volumetric bone mineral density and its spatial distribution in the distal epiphysis of the third metatarsal bone of 2-year-old horses, *Vet J*, 2014;
19. Zhu K, Whitehouse AJ, Hart PH, Kusel M, Mountain J, Lye S, Pennell C, and Walsh JP. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone mass in offspring at 20 years of age: a prospective cohort study, *J Bone Miner Res*. 2014;29:1088- 95.
20. Osteoporosis drugs linked to jawbone destruction. *J Calif Dent Assoc*, 2014;42:435.
21. Lee SY, Auh QS, Kang SK, Kim HJ, Lee JW, Noh K, Jang JH, and Kim EC. Combined effects of dentin sialoprotein and bone morphogenetic protein-2 on differentiation in human cementoblasts, *Cell Tissue Res*. 2014;357:119-32.
22. Kovacheva M, Zepp M, Berger SM, and Berger MR. Sustained conditional knockdown reveals intracellular bone sialoprotein as essential for breast cancer skeletal metastasis, *Oncotarget*. 2014;
23. Wisniewska K, Piorkowska A, Kasprzyk J, Bronk M, and Swiec K. Clonal distribution of bone sialoprotein-binding protein gene among *Staphylococcus aureus* isolates associated with bloodstream infections, *Folia Microbiol (Praha)*. 2014;
24. Graziano A, D'aquino R, Laino G, and Papaccio G. Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration, *Stem Cell Rev*. 2008;4:21-6.
25. Chao Huang D, Fang Yang X, Ochietti B, Fadhil I, Camirand A, and Kremer R. Parathyroid hormone-related protein: potential therapeutic target for melanoma invasion and metastasis, *Endocrinology*, 2014; en20131803.
26. Alqahtani A, Parsyan A, Payne R, and Tabah R. Parathyroid hormone levels 1 hour after thyroidectomy: an early predictor of postoperative hypocalcemia, *Can J Surg*. 2014;57:237-40.
27. Zhang Y, Kumagai K, and Saito T. Effect of parathyroid hormone on early chondrogenic differentiation from mesenchymal stem cells, *J Orthop Surg Res*, 2014;9:68.
28. Chung IH, Kim HJ, Chung S, and Yoo EG. Vitamin D deficiency in Korean children: prevalence, risk factors, and the relationship with parathyroid hormone levels, *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;19:86-90.
29. Jia HB, Ma JX, Ma XL, Yu JT, Feng R, Xu LY, Wang J, Xing D, Zhu SW, and Wang Y. Estrogen alone or in combination with parathyroid hormone can decrease vertebral MEF2 and sclerostin expression and increase vertebral bone mass in ovariectomized rats, *Osteoporos Int*. 2014;
30. Katikaneni R, Ponnappakkam T, Matsushita O, Sakon J, and Gensure R. Treatment and prevention of chemotherapy-induced alopecia with PTH-CBD, a collagentargeted parathyroid hormone analog, in a non-depilated mouse model, *Anticancer Drugs*. 2014;25:30-8.
31. Aspray TJ, Bowring C, Fraser W, Gittoes N, Javaid MK, Macdonald H, Patel S, Selby P, Tanna N, and Francis RM. National Osteoporosis Society Vitamin D Guideline Summary, *Age Ageing*. 2014;
32. Harvey NC, Javaid MK, Inskip HM, Godfrey KM, and Cooper C. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone-mineral content in offspring, *Lancet*. 2013;382:766.
33. O'brien KO, Donangelo CM, Ritchie LD, Gildengorin G, Abrams S, and King JC. Serum 1,25-dihydroxyvitamin D and calcium intake affect rates of bone calcium deposition during pregnancy and the early postpartum period, *Am J Clin Nutr*. 2012;96:64-72.
34. Moller UK, Streyms S, Mosekilde L, Heickendorff L, Flyvbjerg A, Frystyk J, Jensen LT, and Rejnmark L. Changes in calcitropic hormones, bone markers and insulin-like growth factor I (IGF-I) during pregnancy and postpartum: a controlled cohort study, *Osteoporos Int*. 2013;24:1307-20.
35. Binkley N, Bone H, Gilligan JP, and Krause DS. Efficacy and safety of oral recombinant calcitonin tablets in postmenopausal women with low bone mass and increased fracture risk: a randomized, placebo-controlled trial, *Osteoporos Int*, 2014;
36. Yun H, Delzell E, Saag KG, Kilgore ML, Morrissey MA, Muntner P, Matthews R, Guo L, Wright N, Smith W, Colon-Emeric C, O'connor CM, Lyles KW, and Curtis JR. Fractures and mortality in relation to different osteoporosis treatments, *Clin Exp Rheumatol*. 2014;

37. Rosa BV, Blair HT, Vickers MH, Dittmer KE, Morel PC, Knight CG, and Firth EC. Moderate exercise during pregnancy in Wistar rats alters bone and body composition of the adult offspring in a sex-dependent manner, PLoS One. 2013;8:e82378.

Correspondence Address / Yazıřma Adresi

Umut Kökbaşı
Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı
Nevşehir, Turkey
e--mail: umutkokbas@gmail.com

Geliř tarihi/ Received: 19.07.2020**Kabul tarihi/Accepted:** 20.04.2021