

PËRDORIMI I BETA CROSSLAP-IT SI NJË MARKER I RESORBIMIT TË KOCKËS TEK GRATË NË PERIUdhËN POSTMENOPAUIKE

*HYSI L., REXHA T.

Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i Biologjisë

e-mail: lorena.hysi@fshn.edu.al

Përmbledhje

Osteoporozë është një sëmundje sistematike, progresive e kockave që shkakton një reduktim sinjifikant në densitetin mineral të kockës. Krahas përdorimit të teknikave diagnostikuese si DEXA, risku për osteoporozë duhet të përcaktohet nëpërmjet kombinimit të matjes së densitetit mineral të kockës (BMD) dhe nivelit të markerëve të kockës në vitet e para të postmenopauzës në mënyrë që të mund të parandalohet osteoporozë. Qëllimi i këtij studimi ishte përcaktimi i nivelit të beta crosslapit, si një marker specifik dhe sensitiv i resorbimit të kockës tek gratë në periudhën postmenopauzike. Në studim janë përfshirë 72 gra në periudhën e postmenopauzës, moshë 44 deri 74 vjet dhe të ndara në dy grupe sipas moshës (44-57 dhe 58-74). Nëpërmjet plotësimit të një formulari janë marrë të dhëna për mënyrën e të ushqyerit, konsumin e duhanit, alkoolit etj. Densiteti mineral i kockës (BMD) u mat duke përdorur teknikën QUS (Quantitative ultrasound). U realizua mbledhja e serumeve dhe u përcaktua niveli i beta crosslapit nëpërmjet metodës së elektrokemiluminishencës (ECL), në aparatit Elecsys 2010. Niveli mesatar i beta crosslapit rezultoi 0.291 ± 0.205 ng/ml. Midis BMD dhe moshës ka një korrelacion negativ ($P=0.004$). Tek gratë me moshë më të madhe se 57 vjet niveli i beta crosslapit është më i lartë.

Abstract

Osteoporosis is a progressive systemic disease of the bone causing significant reduction in bone mineral density and micro architecture of bone tissue. Besides the diagnostic approaches i.e imaging techniques like DEXA, the risk of osteoporosis should be determined by a combination of measures that include BMD (bone mineral density) and level of bone markers in early postmenopausal years in order to prevent osteoporosis. Aim of this study was to evaluate the levels of beta crosslaps as a specific and sensitive marker of bone resorption in a group of Albanian postmenopausal women. For the purpose of this investigation, we used blood samples of 72 postmenopausal women aged 44 to 74 years, separated in two groups according to age (44-57 and 58-74). All subjects completed a questionnaire on life style factors. Bone density was scanned using Quantitative Ultrasound (QUS). Serum samples were collected and beta crosslaps levels were measured by electrochemiluminescence (ECL) using Elecsys 2010. Mean level of Serum beta crosslap was 0.291 ± 0.205 ng/ml. The Pearson correlation test indicated a negative correlation between age and BMD ($P=0.004$). In older women levels of beta crosslaps were higher.

Fjalëkyçe: markerë të resorbimit të kockës, osteoporozë, β -crosslap, kolagen.

Hyrje

Osteoporozja është një sëmundje sistematike, progresive e kockave që shkakton një reduktim sinjifikant në densitetin mineral të kockës. Të gjitha gratë përjetojnë një humbje të ngadalshme të masës kockore me kalimin e viteve dhe si pasojë një rritje të riskut për të pësuar fraktura (Watts. 1999).

Vitet e fundit krahas matjes së densitetit mineral të kockës (BMD) duke përdorur teknika të tilla si DEXA apo QUS është vënë re një rritje e përdorimit të markerëve të turnoverit të kockave kryesisht tek gratë në periudhën postmenopauzike. Përfitimi kryesor i përdorimit të këtyre markerëve është se në përgjigje të trajtimit vihen re ndryshime sinjifikative brenda pak muajve, ndërsa në BMD nuk vihen re ndryshime sinjifikante në më pak se 12 muaj (Garnero *et al.* 2001).

Markerët e turnoverit të kockave në përgjithësi klasifikohen si: markerë të formimit të kockës dhe markerë të resorbimit, duke reflektuar respektivisht aktivitetin e osteoblasteve dhe osteoklasteve. Më shumë se 90% e matriksit organik të kockës konsiston në kolagjenin e tipit I, i cili sintetizohet kryesisht në kockë (Burgeson. 1988). Gjatë metabolizmit normal të kockës kolagjeni i tipit I i maturuar degradohet dhe fragmentet e vogla kalojnë në qarkullimin e gjakut, për tu ekskretuar më pas nëpërmjet veshkës (Seibel., Woitge. 1999). Në kushtet e një resorbimi të lartë fiziologjik ose patologjik (për shembull tek të moshuarit ose si rezultat i osteoporozës) kolagjeni i tipit I degradohet në një shkallë shumë të lartë dhe si pasojë në gjak grumbullohen sasi të madhe të fragmenteve të kolagjenit.

Produkte të degradimit janë dhe telopeptidet N dhe C, që derivojnë nga rajoni aminoterminal (NTX) dhe karboksiterminal (CTX) dhe përdoren zakonisht si markerë të resorbimit të kockës (Cundy *et al.* 2008; Kasperk., Ziegler. 1998). Telopeptidi CTX njihet edhe me emrin β -crosslap, përfaqëson një oktapeptid, që përmban acidin aspartik dhe glicinën, të cilat paraqiten mjaft të ndjeshme ndaj izomerizimit. Për pasojë ekzistojnë katër izoforma të telopeptidit αL , βL , αD dhe βD .

Duke përcaktuar këta markerë të resorbimit të kockës mund të zbulohet dhe aktiviteti i osteoklasteve. Fragmentet më me rëndësi të kolagjenit tipi I janë telopeptidet C terminalë të β izomerizuar (β -CTx). (Bonde *et al.* 1994; Fledelius. 1996). Këta telopeptidë janë shumë specifikë për degradimin e kolagjenit tipi I në kockë. Nivele të larta të telopeptideve C-terminal të izomerizuara janë vënë re në serum të pacientëve me resorbim të lartë të kockës. Nivelet në serum kthehen në vlera normale vetëm gjatë terapisë antiresorbuese (Bonde *et al.* 1995; Ravn *et al.* 1996; Rosenquist *et al.* 1998; Christgau *et al.* 1998). Përcaktimi i telopeptideve C-terminalë në serum rekomandohet për monitorimin e efikasitetit të terapisë antiresorbuese, në osteoporozë ose në sëmundje të tjera të kockave (Seibel, 1998).

Qëllimi i këtij studimi ishte përcaktimi i nivelit të beta crosslapit, si një marker specifik dhe sensitiv i resorbimit të kockës tek gratë në periudhën

postmenopauzike dhe ndryshimet që pëson niveli i tij në varësi të moshës dhe densitetin mineral të kockës.

Materiali dhe metoda

Në studim janë përfshirë 72 femra, të moshës 44-74 vjeç, të ndarë në dy grupe në varësi të moshës: grupi i parë 44-57 vjeç dhe grupi i dytë 58-74 vjeç. Zgjedhja e personave të marrë në studim është bërë në mënyrë të rastësishme dhe mbledhja e serumeve është realizuar gjatë periudhës Maj 2013-Shkurt 2014.

Nëpërmjet plotësimit të një formulari janë marrë të dhëna për moshën, mënyrën e të ushqyerit, aktivitetin fizik, konsumin e duhanit, alkoolit, kanë pësuar apo jo fraktura në moshë të rritur etj. Është matur pesha dhe gjatësia.

Matja e nivelit të beta crosslapit (β -CTx) në serumin e individëve të marrë në studim është realizuar duke përdorur teknikën e Elektrokemioluminiscencës (ECL), në aparatit Elecsys 2010, nga Roche Diagnostic. Kjo teknikë është specifike për fragmentet e izomerizuara të kolagjenit të tipit I. Specificiteti i analizës garantohet nëpërmjet përdorimit të dy antitropave monoklonalë që njohin oktapeptidet β -8AA (EKAHD- β -GGR).

Është përcaktuar densiteti mineral i kockës (BMD) duke përdorur teknikën QUS (Quantitative ultrasound).

Përpunimin statistikor i të dhënave është realizuar duke përdorur programin SPSS Versioni 19. Të dhënat janë shprehur si mesatare \pm SD (deviacionin standart). Vlera të $P < 0.05$ konsiderohen statistikiisht sinjifikante.

Rezultate dhe diskutime

Në studim u përfshinë 72 gra të moshës 44 deri 74 vjeç, që ishin në periudhën e postmenopauzës, pra ndërprerje e ciklit menstrual më shumë se një vit, në përputhje me përkufizimin e Organizatës Botërore të Shëndetësisë (WHO, 1981). Mosha mesatare e individëve të marrë në studim ishte 56.8 ± 6.33 vjeç. (Tabela 1) Karakteristikat kryesore dhe rezultatet e marra nga kryerja e analizave janë pasqyruar në Tabelën 1.

Tabela 1. Vlerat e parametrave të marrë në studim.

BMI – Indeksi trupor. BMD – Densiteti mineral i kockës

	N	Minimum	Maximum	Mesatarja	Deviacioni Standart
Mosha (vjeç)	72	44	74	56.86	6.338
Pesha (kg)	72	45	102	71.95	11.587
Gjatesia (cm)	72	144	175	159.38	6.188

BMI(kg/m ²)	72	18.15	39.43	28.35	4.299
BMD (T-score)	72	-3	-0.10	-1.76	0.673
Betacrosslaps (ng/ml)	72	0.02	1.28	0.291	0.205
Ca (ng/ml)	72	8.20	10.10	9.14	0.466

Niveli mesatar i Beta crosslapit rezultoi 0.291 ± 0.205 . Kufijtë e vlerave të këtij markeri tek gratë në postmenopauz janë $0.104-1.008$ ng/ml. Niveli i β -CTX në serum në publikime të ndryshme jepet me vlera të ndryshme. Vlera e referencës është ajo e raportuar nga Garnero *et al.* në 429 gra në postmenopauz (mosha 45-80 vjeç) dhe është 0.556 ± 0.226 ng/ml (Garnero *et al.* 2001). Kjo vlerë nuk përputhet me rezultatin e gjetur nga ne. Në një tjetër studim të realizuar në Suedi niveli i β -CTX ishte 0.312 ± 0.186 ng/ml (Lenora *et al.* 2007), një vlerë e afërt me mesataren e gjetur në studimin tonë (0.291 ± 0.205). Ndyshimet në vlera mund ti detyrohen karakteristikave të veçanta të grave të përfshira në studim si psh. mosha, pesha, duhanpirja, aktiviteti fizik etj.

Duke marrë në konsideratë BMD u vu re një lidhje midis vlerave të BMD dhe moshës ($P=0.004$) ashtu siç shihet dhe në Tabelën 2. Me rritjen e moshës vihet re një ulje e BMD dhe si pasojë rritje të riskut për të pësuar frakturë. Humbja e masës kockore tek gratë është më e shpejtë në vitet e para pas menopauzës. Kjo bën që gratë në postmenopauz të jenë më të predispozuar për të pësuar frakturë. Humbja e shpejtë e masës kockore i detyrohet rënies së menjëhershme të nivelit të estrogjenit gjatë menopauzës, mungesa e të cilit shkakton një rritje në aktivitetin e osteoklasteve dhe si pasojë rritje të turnoverit të kockës. Gjithashtu me kalimin e viteve osteoblastet nuk e mbushin plotësisht hapësirën e resorbuar, kjo mund të vijë si pasojë e reduktimit të numrit të osteoblasteve (Mosekilde, 2000).

Reth moshës 40 vjeç fillon rënia e densitetit mineral të kockës me 0.3-0.5% në vit. Ndërsa humbja e përshpejtuar e masës kockore fillon në menopauz me 2-3% në vit dhe progreson me tej (Riggs., Melton. 1986).

Tabela 2. Lidhja midis Moshës dhe BMD

		BMD	Mosha
BMD	Korrelacioni Pearson	1	-.337**
	Sig. (2-tailed)		.004
	N	72	72
Mosha	Korrelacioni Pearson	-.337**	1
	Sig. (2-tailed)	.004	
	N	72	72

Tabela 2. Lidhja midis Moshës dhe BMD

	BMD	Mosha
BMD		
Korrelacioni Pearson	1	-.337**
Sig. (2-tailed)		.004
N	72	72
Mosha		
Korrelacioni Pearson	-.337**	1
Sig. (2-tailed)	.004	
N	72	72

** . Korrelacioni është sinjifikant me $p < 0.01$.

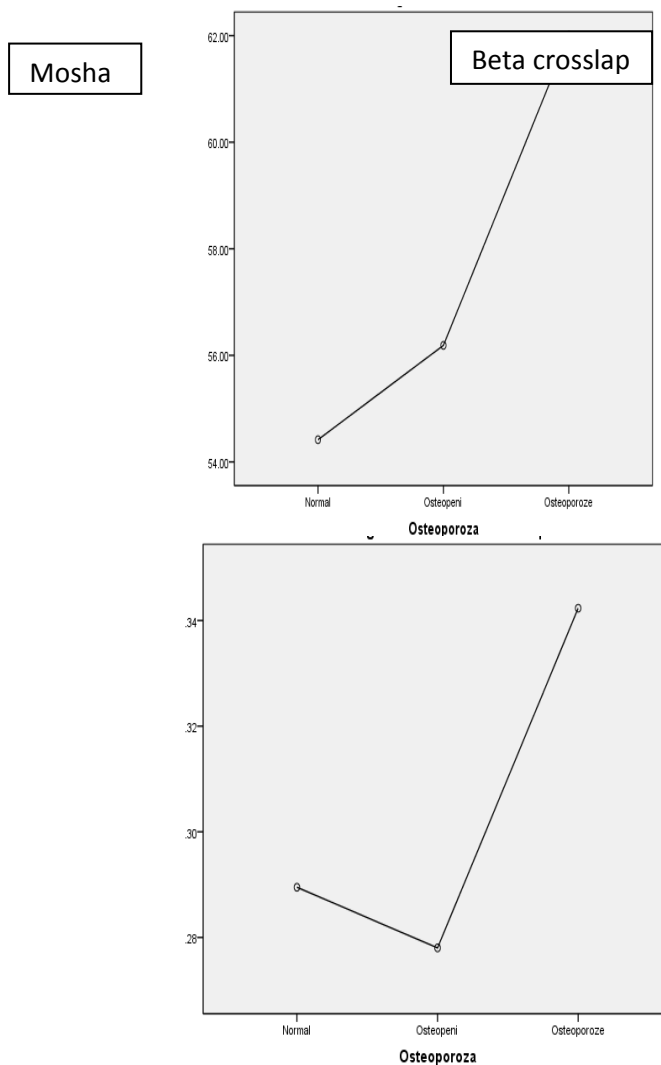
Për të parë lidhjen e mundshme midis nivelit të beta crosslapit dhe moshës ne bëmë një ndarje të individëve në studim në dy grupe: grupi I 44-57 vjeç dhe grupi II 58-74 vjeç. Edhe pse me ndryshime jo shumë të mëdha vihet re një rritje e vlerave të beta crosslapit (CTX) tek gratë me moshë më të madhe se 57 vjet dhe ulje e BMD. (Tabela 3). Ky rezultat mbështetet dhe nga studime të tjera siç është ai i Jovcevska *et al.* ku niveli i beta crosslapit në serum ishte më i lartë tek gratë më të vjetra në moshë. Kjo mund të shpjegohet me rritjen e aktivitetit të osteoklasteve si pasojë e rënies së nivelit të estrogjenit dhe resorbim të lartë të kockës, që do të thotë më shumë produkte të degradimit të kolagenit tipi I dhe nivel më të lartë të beta crosslapit.

Tabela 3. Ndryshimi i vlerave të BMD dhe Beta crosslapit në varësi të moshës

	Mosha 44-57 (n=43)	Mosha 58-74 (n=29)
BMD (T-score)	-1.64	-1.94
Beta crosslap (ng/ml)	0.271	0.321

Duke përdorur testin e Studentit (t-test) mund të themi se ky ndryshim në vlerat e BMD është sinjifikant ($P=0.05$), ndërsa për CTX $P>0.05$. Kjo mund të shpjegohet me numrin e vogël të rasteve të marra në studim.

Në varësi të BMD individët e marrë në studim i klasifikuam në: normal, osteopeni dhe osteoporozë. Kur vlera T-score është nga -1 deri 1 individët konsiderohen normal, për vlera -1 deri -2.5 kemi osteopeni dhe për vlera më të vogla se -2.5 kemi osteoporozë. Duke përdorur analizën e variancës (ANOVA) vumë re se grupi me osteoporozë ishte dhe ai me moshë më të madhe, me $P=0.05$ dhe $F= 5.797$, me dy shkallë lirie. Gjithashtu grupi me osteoporozë ka dhe vlera më të larta të beta crosslapit, pasi resorbimi i kockës është më i lartë, si pasojë dhe sasia e kolagenit të degraduar është më e madhe.

Grafiku 1. Ndryshimi i moshës dhe nivelit të beta crosslapit midis tre grupeve**Përfundime**

Mosha mesatare e individëve të marrë në studim ishte 56.8 ± 6.33 vjeç. Niveli mesatar i beta crosslapit rezultoi 0.291 ± 0.205 . Midis BMD dhe moshës ka një korrelacion negativ ($P=0.004$). Me rritjen e moshës vihet re një ulje e BMD dhe si pasojë rritje të riskut për të pësuar frakturë. Gjithashtu tek gratë me moshë më të madhe se 57 niveli i beta crosslapit është më i lartë. Matja e nivelit të beta crosslapit në serum të grave që janë në postmenopauz mund të shërbejë si një mënyrë efektive për të parandaluar osteoporozën.

Literatura

Bonde M, Qvist P, Fledelius C. (1994): Immunoassay for Quantifying Type I Collagen Degradation Products in Urine Evaluated. Clin Chem 40(11):2022-2025

- Bonde M, Qvist P, Fledelius C. (1995): Applications of an Enzyme Immunoassay for a New Marker of Bone Resorption (CrossLaps): Follow-up on Hormone Replacement Therapy and Osteoporosis Risk Assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 80:864-868
- Burgesson RE. (1988): New collagens, new concepts. *Ann Rev Cell Biol* 4:551-577
- Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P. (1998): Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products from type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem* 44(11):2290-2300
- Cundy T, Reid IR, Grey A. (2008): Metabolic bone disease. In: *Clinical Biochemistry. Metabolic and Clinical Aspects*. Marshall JW, Bangert S. 2nd ed. London, New York, Oxford: Churchill Livingstone, Elsevier Edinburgh: 629-59
- Fledelius C, Johnsen A, Cloos P. (1996): Identification of a β -isomerized aspartyl residue within the c-terminal telopeptide $\alpha 1$ chain of type I collagen. Possible relation to aging of bone. *J Bone Miner Res*;11(Suppl.1) Abstract No. 113
- Garnero P, Borel O, Delmas PD. (2001): Evaluation of a fully automated serum assay for C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen in osteoporosis. *Clin Chem* 47:694-702
- Jovcevska JM, Stratrova S, Gjorgovski I, Gruev T, Kotevska M, Ivanovska DJ. (2009): Bone turnover markers realations to postmenopausal osteoporosis. *Journal of Molecular Biology* 28:161-165
- Kasperk C, Ziegler R. (1998): Bone and mineral metabolism. In: *Clinical Laboratory Diagnostics. Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. Thomas L. ed. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 215-30
- Lenora J, Ivaska KK, Obrant KJ, Gerdhem P. (2007): Prediction of bone loss using biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int* 18:1297-305
- Mosekilde L. (2000): Age-related changes in bone mass, structure, and strength – effects of loading. *Z Rheumatol* : 59(Suppl 1):1-9
- Ravn P, Clemmesen B, Riis BJ. (1996): The Effect on Bone Mass and Bone Markers of Different Doses of Ibandronate: A New Bisphosphonate for Prevention and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis. A 1-year, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Dose-Finding Study. *Bone* 19(5):527-533
- Riggs, L.S., Melton, L.J. (1986): Involutional Osteoporosis. *N. Eng. J. Med.* 314; 1676-1686
- Rosenquist C, Fledelius C, Christgau S. (1998): Serum CrossLaps One Step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen. *Clin Chem* 44(11):2281-2289
- Seibel MJ, Woitge WH. (1999): Biochemical markers of bone metabolism - Part I: Basic principles. *Clin Lab* 45:237-56
- Seibel MJ. (1998): Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels: Klinische Wertigkeit in der Praxis. *Ther Umsch* 55(11):676-684

Watts NB. (1999): Clinical Utility of Biochemical Markers Of Bone Remodeling. J Clin Chem 45:8(B) 1359-1368

World Health Organization (1981): *Research on the menopause*, report of a WHO Scientific Group. WHO Tech Rep Ser 670. Geneva: World Health Organization