

# FİZİKSEL TIP

## POSTMENAPOZAL OSTEOPOROZDA SİTOKİN DÜZEYLERİ\*

### THE LEVELS OF CYTOKINES IN POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS

Yaşar KAHRAMAN MD,\*\* Figen ARDIÇ MD,\*\* Z.Rezan YORGANCIOĞLU MD,\*\* Meryem SARACOĞLU MD,\*\*\*

\* XVI.Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongresi, 15-18 Mayıs 1997, Ankara'da sözlü olarak tebliğ edildi.

\*\*S.B. Ankara Hastanesi I.Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği,

\*\*\*S.B. Ankara Hastanesi II.Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği,

#### ÖZET

Postmenapozal (tip I) osteoporozun patogenezinde sitokinler ve özellikle IL-1 ve IL-6'nın rol oynadığına dair araştırmalar mevcuttur.Biz de bu ilişkiyi araştırmak amacıyla, postmenapozal dönemde 30 normal kadın (yaş ortalaması 49.9 ± 4.6 yıl) ve 30 postmenopozal osteoporozlu kadın hastayı (yaş ortalaması 51.9 ± 5.9 yıl) çalışmamıza aldık. Çalışma ve kontrol grupları arasında yaş ve menapoz yaşı bakımından anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ).

Her iki grupta çalışmaya alınan hastaların Anteroposterior lomber omurga (AP L1-4 spine) ve femur Dual-energy X-ray densitometry (DEXA) ölçümleri yapıldı. Kan Ca, P, ALP, albumin, kreatinin, estradiol (E2) ve 24 saatlik idrarda Ca değerleri kaydedildi.

Çalışma grubuna ve kontrol grubuna alınanların IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerine Immünotech adı verilen immünoenzimatik assay yöntemiyle bakıldı. Her iki grup karşılaştırıldığında; IL-1 $\beta$  düzeyleri arasında anlamlı derecede fark olduğu, IL-6 larn ise benzer olduğu görüldü.

Yapılan korelasyon analizleri sonucu; IL-1 $\beta$  değerinin menapoz süresi ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.05$ ), yaş ( $r = 0.79$ ,  $p < 0.01$ ) ile pozitif, L1 - L4 T skoru ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.05$ ), L1 - L4 BMD ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.05$ ) parametreleri ile yapılan karşılaştırılmasında ise negatif korelasyon bulundu. IL-6 değerinin hiçbir parametre ile korelasyonu bulunmadı.

E2 değerinin L1 - L4 T ( $r = 0.46$ ,  $p < 0.01$ ), L1 - L4 BMD ( $r = 0.48$ ,  $p < 0.01$ ), femur inter trokanter Z ( $r = 0.42$ ,  $p < 0.05$ ), femur total Z ( $r = 0.38$ ,  $p < 0.05$ ) değerleri ile pozitif korelasyonu bulundu.

Postmenapozal osteoporoz tespit edilen kadınlarda IL-1 $\beta$  düzeylerinin yüksek olması, postmenapozal osteoporoz etyopatogenezinde sitokinlerin de rolü olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Postmenapozal Osteoporoz, IL-1, IL-6

#### SUMMARY

In the investigation of the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis (Type I OP) there are many studies reporting that cytokines especially IL-1 and IL-6 take role in the pathogenesis. Aiming to evaluate this relationship 30 normal postmenopausal women (mean age 49.9±4.6 years) and 30 postmenopausal osteoporotic patients were included in our study (mean age 51.9±5.9 years). There were no significant difference in age and menopause duration between control and study groups. In both groups anteroposterior lumbar spine (AP L1-4 spine) and femur Dual-energy X-ray densitometry (DEXA) measurements were performed and blood Ca, P, ALP, Albumine, Creatinine, Estradiol (E2), 24 h urine Ca were screened. IL-1 $\beta$  and IL-6 levels of study and control groups were measured by immunoenzymatic assay named immunotech. There was no significant difference in IL-6 levels between two groups. But significant difference was found between IL-1 $\beta$  levels. Correlation analysis results showed us a positive correlation between IL-1 $\beta$  levels and menopause duration ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.05$ ) and age ( $r = 0.79$ ,  $p < 0.01$ ) but a negative correlation between IL-1 and L1-4 T score ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.05$ ), L1-4 BMD ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.05$ ). There was no correlation between IL-6 and any parameter. L1-4 T-score ( $r = 0.46$ ,  $p < 0.01$ ), L1-4 BMD ( $r = 0.48$ ,  $p < 0.001$ ), femur intertrochanter Z score ( $r = 0.42$ ,  $p < 0.05$ ) and femur total Z score ( $r = 0.38$ ,  $p < 0.05$ ) were correlated positive with E2 level.

High IL-1 $\beta$  levels in postmenopausal OP women suggests that cytokines may play a role in the etyopatogenesis of postmenopausal OP.

**Key Words:** Postmenopausal Osteoporosis, IL-1, IL-6

#### GİRİŞ

Osteoporoz (OP) düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun mikroyapısının bozulması, bunun sonucu olarak kemik kırılabilirliğinde ve kırığa duyarlılığında artma ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır (1). Primer veya sekonder olabilir. Primer OP, postmenapozal ( tip 1), senil (tip2) veya

juvenil olabilir.

Sadece menapoz değil overlerin östrojen yetmezliğine yol açan her patoloji (hiperprolaktinemi, hipogonadizm, hipotalamus -hipofiz-over aksındaki patolojiler, amenore, primer over yetmezliği) sonuçta osteoporoz nedeni olur (2).

Östrojenlerin kemik üzerine kalsiyum dengesini ayarlayan hormonlar yoluyla etkili oldukları düşünülmektedir (Parathormon (-PTH-), kalsitriol, kalsitonin). Ayrıca, osteoblast kültürlerinde östrojen reseptörleri de bulunmaktadır(3). Over kökenli steroidler postmenapozal dönemdeki IL-1 artışını engellerler. Östrojenlerin kemik üzerine olan etkileri, lokal büyüme faktörleri IGF - 1 (İnsulin - like growth factor ), TGF (Transforming growth factor ),sitokinler, TNF ( Tumor necrosis factor ) ve PGE ( Prostaglandin E) yoluyla da olmaktadır (4). Kemik rezorptif sitokinlerden özellikle IL-1,IL6, IL-11, granülosit makrofaj koloni stimulating faktör (GCMSE, MCSF ) ve tümör nekrosis faktör (TNF) en önemlileridir. Bunlar bir çok farklı doku kaynaklı olabilirlerse de kemikteki osteoporotik prosesle çok yakın bağlantılıdır (5).

Çalışmamızın amacı postmenapozal dönemde osteoporotik kadın hastalar üzerinde en çok çalışılan sitokinlerden interlökin-1 (IL-1 $\beta$ ) ve interlökin 6 ( IL-6) düzeylerinin saptanması, osteoporozu yönelik klinik ve laboratuvar parametreleriyle IL-1 ve IL-6 ilişkisinin araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Osteoporoz ünitemize Mart 1996 ve Ekim 1996 tarihleri arasında müracaat eden 30 postmenapozal osteoporozu olan kadın hasta (yaş ortalaması; 51,9 $\pm$ 5,9 yıl) ve kontrol grubunu oluşturmak üzere 30 postmenapozal osteoporozu olmayan kadın (yaş ortalaması; 49,9 $\pm$ 4,6 yıl) alındı.

Çalışmaya alınan hiçbir hasta kemik metabolizmasını etkileyecek bir ilaç kullanmıyordu veya kemik kaybı ile ilgili olduğu bilinen medikal veya cerrahi duruma maruz kalmamıştı. Hiçbir hastada enfeksiyon ile ilgili bir bulgu yoktu.

Her iki grubu oluşturan bireylerin; menapoz süresi, gebelik sayısı, sigara (paket/yıl), alkol (gr / hafta) kullanımı, günlük fiziksel aktiviteleri (günlük yürüyüş mesafesi; km / gün), diyetle günlük kalsiyum (Ca) alımı (1 su bardağı süt 238 mg Ca, bir su bardağı yoğurt 242 mg Ca, 1 dilim beyaz peynir 80 mg Ca olarak hesaplandı) kaydedildi.

Laboratuvar olarak her iki grupta da ; serum kreatinin, Ca, fosfor (P), alkalin fosfat (ALP), estradiol (E2), 24 saatlik idrarda Ca düzeyleri ölçüldü. AP-spine ve femur Dual enerji x-ray dansitometri (DEXA) ile değerlendirmesi WHO tarafından önerilen T skoru değerlerine göre yapıldı ve postmenapozal osteoporoz belirlendi.

Lomber omurga (L1 - L4) ve femur boynu kemik mineral yoğunlukları (DEXA) Hologic QDR2000 ile ölçülerek g/cm<sup>2</sup> ve Z,T skoru olarak belirlendi.

Osteoporotik ve kontrol grubundaki IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri Immunotech denilen immuno enzimatik assay yöntemiyle bakıldı. IL-1 $\beta$  ve IL-6'ya karşı monoklonal antikor ile kaplanmış örnekler asetilkolinesterazla birleştirilmiş ve inkubasyondan sonra kromojenik substratın elenmesiyle, rengin koyuluğu oransal olarak IL-1 ve IL-6 konsantrasyonunu örnek ve standartlarda ortaya çıkarmıştır. Ölçüm genişliği 5-1000 pg / ml.'dir.

Çalışmadaki tüm veriler SPSS istatistik paket programı kullanılarak student-t testi ve Pearson korelasyon analizi yapılarak değerlendirildi. Çalışmaya katılan tüm hastalar tetkikler hakkında bilgilendirildi ve sözel olarak izinleri alındı.

## BULGULAR

Postmenapozal osteoporozu (PMOP) olan hasta grubu ve postmenapozal osteoporozu olmayan kontrol grubunun yaş ve menapoz yaşı ortalamaları Tablo I'de gösterildi. Her iki grubun yaşları arasında ve menapoz sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05).

**Tablo I.** Osteoporotik ve kontrol grubun yaş ve menapoz yaşı ortalamaları

Hastaların	Birim	Hasta	Kontrol	p
Yaş	Yıl	51.90 $\pm$ 5.88	49.90 $\pm$ 4.60	p> 0.05
Menapoz Süresi	Yıl	6.84 $\pm$ 5.97	4.82 $\pm$ 3.16	p> 0.05
Doğum Sayısı		2.13 $\pm$ 1.01	1.6 $\pm$ 0.93	p> 0.05

diyetle günlük Ca alımları, günlük fiziksel aktiviteleri,alkol, sigara kullanımları sorgulanarak elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi ve sonuçlar tablo.II'de gösterildi, gruplararası fark saptandı ( p < 0,05 )

**Tablo II.** PM osteoporotik ve kontrol grubunun diyet, alışkanlık ve fiziksel aktivitelerinin karşılaştırılması

	Osteoporotik Grup	Kontrol Grubu	p
Diyetle günlük Ca (mg/gün)	507.2 $\pm$ 401.72	391.6 $\pm$ 186.27	p> 0.05
Alkol alımı (g/hafta)	-	-	-
Sigara kullanımı (paket/yıl)	-	-	-
Günlük fiziksel aktivite (günlük yürüyüş mesafesi km/gün)	0.8 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 0.5	p> 0.05

Her iki grupta serum Ca, P, ALP, Albumin, E2, 24 saatlik idrarda Ca değeri normal değer aralıkları içinde bulundu. Sonuçlar Tablo III'de gösterildi, gruplar arası fark saptanmadı ( $p>0,05$ )

**Tablo III.** Osteoporotik ve osteoporotik olmayan grubun laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması

	Birim	Osteoporotik Grup	Kontrol Grubu	P
İyonize Ca (serum)	m.mol / L	2.35±0.16	2.38±0.11	$p> 0.05$
P (serum)	m.mol / L	1.22±0.17	1.29±0.23	$p> 0.05$
ALP	U / L	191.30±52.63	174.52±48.24	$p> 0.05$
Alb	g / dl	4.59±0.33	4.63±0.31	$p> 0.05$
Kreatin	mg / dl	0.82±0.09	0.84±0.17	$p> 0.05$
E2	p.mol / L	128.84±87.58	134.97±83.44	$p> 0.05$
Ca (24 saatlik idrarda)	m.mol / L	36.79±22.46	36.63±20.50	$p> 0.05$

Tablo IV'de PMOP olan ve PMOP olmayan grupta ölçülen lomber vertebra ve femur boynu kemik mineral yoğunluğu ayrı ayrı belirtildi ve karşılaştırılması yapıldı. 2 grup arasında bütün bölgelerde anlamlı fark vardı ( $p<0.05$ ).

IL-1 ve IL -6 değerleri her iki grupta karşılaştırıldı. IL-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu ve IL-6 değerleri arasında ise fark olmadığı saptanmıştır (Tablo.V).

**Tablo V.** Her iki grupta IL-1 ve IL-6 değerlerinin karşılaştırılması

	Osteoporotik Grup	Kontrol Grubu	p
IL - 1β	1.11±1.58	0.33±0.53	$p< 0.05$
IL - 6	10.17±17.21	17.19±36.79	$p> 0.05$

**Tablo IV.** PMOP olan ve PMOP olmayan grubun dansitometrik ölçümlerinin karşılaştırılması

	Birim	Osteoporotik Grup	Kontrol Grubu	p
L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub>	BMD (gr / cm <sup>2</sup> )	0.81±0.09	0.98±0.09	$p> 0.05$
Boyun	BMD (gr / cm <sup>2</sup> )	0.64±0.04	0.80±0.07	$p> 0.05$
Trokanter	BMD (gr / cm <sup>2</sup> )	0.53±0.04	0.64±0.08	$p> 0.05$
İntertrokanterik	BMD (gr / cm <sup>2</sup> )	0.90±0.08	1.06±0.10	$p> 0.05$
Total	BMD (gr / cm <sup>2</sup> )	0.78±0.06	0.94±0.08	$p> 0.05$
Wards	BMD (gr / cm <sup>2</sup> )	0.50±0.06	0.96±0.10	$p> 0.05$
L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub>	T skoru	-2.19±0.78	-0.50±0.68	$p> 0.05$
Boyun	T skoru	-2.52±0.41	-0.93±0.71	$p> 0.05$
Trokanter	T skoru	-2.17±0.43	-0.05±0.65	$p> 0.05$
İntertrokanterik	T skoru	-1.79±0.57	-0.60±0.70	$p> 0.05$
Total	T skoru	-1.59±0.50	-0.31±0.66	$p> 0.05$
Wards	T skoru	-2.66±0.52	-1.03±0.83	$p> 0.05$
L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub>	Z skoru	-1.16±0.79	0.27±0.72	$p> 0.05$
Boyun	Z skoru	-1.40±0.38	-0.01±0.75	$p> 0.05$
Trokanter	Z skoru	-1.54±0.45	-0.56±0.66	$p> 0.05$
İntertrokanterik	Z skoru	-1.16±0.58	-0.13±0.74	$p> 0.05$
Total	Z skoru	-0.93±0.50	0.23±0.68	$p> 0.05$
Wards	Z skoru	-0.84±0.47	0.52±0.84	$p> 0.05$

## TARTIŞMA

Menapozdaki kemik kaybı özellikle trabeküler kemiklerde, östrojen azalması sonucu olmaktadır. E2 kemik remodelingini kontrol eden sitokinlerin ( IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11, GMCSF, MCSF ve TNF ) etkilerini düzenler (7).

Stashenko ve arkadaşları kemik resorpsiyonunu harekete geçirmede, IL-1 $\beta$ 'nin IL-1 $\alpha$ 'dan 13 kat, TNF ve lökotrien (LT) 'den 1000 kat daha fazla potansiyeli olduğunu göstermiştir (8). En uygun birlikte çalışmaları halinde bile, IL-1  $\beta$  kemik resorpsiyonunu harekete geçirmede TNF yada LT' den 20 kat daha fazla potansiyel göstermiştir (8). Gowen ve arkadaşları IL-1, IL-2 ve interferon- $\gamma$  sitokinlerinden IL-1'in hücre içi kemik resorpsiyonun güçlü bir harekete geçiricisi olduğunu, IL-2'nin ise kemik resorpsiyonuna bir etkisi olmadığını göstermişlerdir (9).

Boyce ve arkadaşları IL-1'in kemik devinimini (turnover), prostaglandin üretiminden bağımsız ve sistemik olarak stimüle ettiğini göstermişlerdir(10). Fakat Stock ve arkadaşları menapoz sonrası kadınlarda östrojen tedavisinin, IL-1'in periferik monositler tarafından doğal serbest bakımında tutarlı bir değişim göstermediğini bildirmişlerdir (11).

Pacifici ve arkadaşları ise perotik kadınlarda IL-1 $\beta$  ,IL-1 $\beta$  / IL-1 ra (IL-1 reseptör antagonisti) oranı ve IL-1 biyoaktivitesinin menapozdan sonra artmış olduğunu, menapozdan 15 yıl sonra menapoz öncesi seviyeye ulaştığını göstermişlerdir. Ve hormonların yerine konmasının in vitro IL-1 ra ve IL-1 $\beta$  salgılanmasını düşürdüğü sonucuna ulaşmışlardır (12).

Ayrıca normal kadınlarda ilerleyen IL-1 ra salgılanmasındaki artışın menapoz sonrası IL-1/ IL-1 ra oranı normal seviyede tutmak için etkili olduğunu düşünmüşlerdir. Bunun da menapoz sonrası kemik kaybında sınırlayıcı bir rolü olabileceği yorumunu yapmışlardır.

Rioncho ve arkadaşları yağlı ve genç deneklerde IL-1, TNF ve E 2 düzeylerini ölçmüşler sağlıklı yaşlı denekler gençlerle karşılaştırıldığında yaşlılarda sitokin salgılanmasında anormalliklerin varlığını ortaya koymuşlardır (13).

Bizim IL-1 düzeyi ile yaptığımız çalışmada önceki yayınların sonucunu destekler şekilde postmenapozal osteoporotik ve normal grup arasında belirgin fark tespit edilmiştir.

Khosla ve arkadaşları perotik ve normal kadınların sitokin seviyelerini karşılaştıran çalışmalarında IL-6'ya ELISA metodu ile bakmış ve normal ile perotik kadınların IL-6 serum konsantrasyonunda belirgin bir fark bulamamışlardır (14). IL-1 biyoaktivitesinin perotik kadınlarda artmış oranına ait bulguları da bizim bulgularımızı desteklemektedir (14). Biz de yaptığımız çalışmada PMOP grubunun IL-6 düzeyleri ile postmenapozal normal grup arasında farklılık olmadığını gördük ve baktığımız diğer parametreler ile IL-6 arasında ilişki bulamadık.

Kemirici hayvan çalışmalarının sonuçlarına göre östrojen eksikliği sonrasındaki kemik kaybının oluşmasında IL-6'nın rolü olduğu gösterilmesine rağmen, normal insan osteoblastları veya kemik iliği stromal hücreleri kullanılarak yapılan çalışmalarda IL-6'nın rolü gösterilememiştir (15,16).

Postmenapozal osteoporozda sitokinlerin artan üretimi sadece kemik ve kemik iliğinin lokal çevresinde oluşmaktadır ve serum ölçümleriyle tespit edilemeyebilir.

Hannan tarafından yapılan bir çalışmada, postmenapozal kadınlarda serum IL-1 ra seviyelerinin kemik kaybı hızıyla ve serum osteokalsin (OC) seviyeleriyle ters korelasyon gösterdiği bulunmuştur(17).

Sonuç olarak bizim çalışmamız şunu göstermektedir; postmenapozal osteoporozu olan kadınlarda IL-6'nın artan bir sirkülasyon seviyesi bulunmamıştır. IL-1 $\beta$  seviyeleri arasında ise iki grup arasında belirgin fark bulunmuştur. Yapılacak daha ileri çalışmalarla, sitokinlerin postmenapozal osteoporozda artan kemik kaybına etkilerinin belirlenmesiyle osteoporoz tanısı ve tedavisindeki rollerinin daha iyi anlaşılacağı kanısına varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Hawker A. Epidemiology of osteoporosis. The Journal of Rheumatology 1996; 23(45): 2-4.
2. Candeger Y. Osteoporoz . Aktüel Tıp Dergisi Eylül 1996; 1(5): 325-328
3. Remogen W. Osteoporosis. Sandoz Ltd. 1989;3-42.
4. Andrews SB, Watrous AD. The Methabolism and Immunology of Bone. Seminars in Arthritis and Rheumatism 1989; 19(1): 45-65.
5. Murray M, Timothy A. Mechanisms of Bone Loss. The Journal of Rheumatology. 1996; 23: 45-49

6. Aksoy C, Karan A, Kavuncu V. Osteoporozda Tanı ve Tedavi Yöntemleri. *Hipokrat* 1996; 1: 41-47
7. Horowitz MC. Cytokines and Estrogen in Bone : Anti Osteoporotic Effects. *Science* 1993; 260: 45-50.
8. Stashenko P, Dewhirst FE., Peros W J, et al. Synergistic Interactions Between IL-1, TNF and Lymphotoxin in Bone Resorption. *The Journal of Immunology* 1987, 138(5): 1464-1468.
9. Gogen M, Mundy GR. Actions of Recombinant IL-1, IL-2 and Interferon-a on Bone Resorption In Vitro. *The Journal of Immunology* 1986; 136: 7-15
10. Boyce BF, Avydemorte TB, Garret RI., et al. Effects of IL-1 on Bone Turnover in Normal Mice. *Endocrinology*1989; 23; 8-10.
11. Stock IJ, Coderre JA, Mc Donald B, et al. Effects of Estrogen invivo and in vitro on Spontaneous IL-1 Release By Monocytes from Postmenopausal Women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1989; 34: 22-25
12. Pacifici R., Vannice J.L., Rifas L.,Kimble R.B. Monolytic Secretion of IL-1 Receptor Antagonist in Normal and Osteoporotic Women Effects of Menapouse and Estrogen / Progesteron Therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.1996; 77: 3-10.
13. Rioncho AJ, Zarrabeitra M, Amado J, et al. Age Related Differences in Cytokine Secretion *Gerontology* 1994; 40: 8-12.
14. Khosla S, Peterson JM, Jones D. Circulating Cytokine Levels in Osteoporotic and Normal Women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* .1994; 79: 707-711.
15. Silka RL, Hangoc G, Girasole G. Increased Osteoclast Develepment After Estrogen Loss. *Science* 1992: 257: 88-91.
16. Rifas L, Marcelli M, Kennedy IS, et al. IL-6 Is Not Regulated By Over Steroids in Human Bone Marrow Stromal Cells and Human Osteoblasts with Functional Estrogen Receptors. *J. Bone Miner. Res* 1993; 8: 361-366
17. Hannan RA, Blumsohon A, Galathi H, et al. Cytokine Receptors, Receptor Antogonists and Postmenapausal Bone Loss. *J Bone Miner Res* 1993, 8: 152-157