

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ОСТЕОПОРОЗЕ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СКЕЛЕТА

Для остеопороза характерно снижение минеральной плотности с сопутствующими изменениями количества и микроархитектуры костной ткани, что сопровождается нарушением прочности скелета и повышением опасности переломов, особенно позвоночника, шейки бедра и запястья. Демографические изменения, выражающиеся в постоянном увеличении продолжительности жизни, обуславливают поиск различных подходов к лечению заболеваний скелета, а также разработку методов, позволяющих своевременно выявлять снижение костной массы и риск переломов. В Великобритании экономические затраты на лечение переломов шейки бедра вследствие остеопороза составляют ежегодно около 150 миллионов фунтов стерлингов⁽¹⁾. Из-за повышения доли пожилых людей в структуре населения страны можно предполагать существенное увеличение расходов на лечение больных остеопорозом в ближайшем будущем. Несмотря на важность профилактики переломов, основанной на своевременном выявлении и эффективном лечении остеопороза, его ранняя диагностика и мониторинг недостаточно эффективны в связи с отсутствием доступных неинвазивных методов оценки активности и распространенности заболеваний скелета, сопровождающихся деструкцией костной ткани.

ЭТИОЛОГИЯ

Масса костной ткани зависит от взаимодействия между клетками, формирующими (остеобласты) и разрушающими (остеокласты) кость. Индивидуальный пик костной массы, который в норме достигается к 25-30 годам, зависит от генетических и ненаследственных факторов: гормонального статуса, физических нагрузок, питания. Нарушение гормонального статуса, несбалансированное питание, малоподвижный образ жизни, курение, чрезмерное потребление алкоголя являются факторами риска снижения костной массы⁽²⁾. Так как у женщин пик костной массы ниже и скорость ее снижения выше, чем у мужчин, остеопороз и сопутствующие этому процессу переломы наблюдаются наиболее часто у женщин в пост-менопаузальном периоде. Таким образом, остеопороз-гетерогенное заболевание, он может быть классифицирован как первичный или вторичный в соответствии с причинами, ответственными за потерю костной массы (см. табл.).

ДИАГНОСТИКА

Рентгенологические методы являются наиболее доступными и широко используются в клинической практике при исследовании костей. Однако, при рентгенографии можно обнаружить наличие остеопении только при потере более 30% костной массы, поэтому этим методом чаще всего выявляются поздние признаки остеопороза - деформация (перелом) позвонков или переломы трубчатых костей.

Измерение плотности костной ткани (денситометрия) основано на измерении минерального компонента костной ткани - кальция. В крупных клинических центрах используют для исследования минеральной плотности костной ткани одно- или двухлучевую фотонную рентгеновскую абсорбциометрию, которая позволяет исследовать две области - позвоночник и шейку бедра. Это наиболее чувствительный метод для выявления остеопороза и оценки степени его тяжести по T и Z критериям. Дифференциальная диагностика первичного или вторичного остеопороза возможна при детальном анализе анамнеза, врачебном обследовании и соответствующих лабораторных исследованиях. Денситометрия необходима для подтверждения диагноза остеопороза, оценки риска переломов, а также контроля адекватности лечения. Однако этот метод не подходит для немедленной оценки эффективности лечения, поскольку он улавливает изменения в плотности костной ткани через год и более.

Рутинные клинические лабораторные исследования остаются, как правило, в норме при всех формах остеопороза, за исключением вторичного остеопороза при тиреотоксикозе, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, при множественной миеломе или поражении костей солидными злокачественными опухолями. Наибольшее значение в дифференциальной диагностике заболеваний скелета метаболического характера имеет оценка гормонального статуса больных, в частности, исследование паратиреоидного гормона (ПТГ), половых стероидных и гонадотропных гормонов, а также витамина Д, участвующего наряду с ПТГ в регуляции обмена кальция. Определение концентрации кальция, фосфора и общей активности щелочной фосфатазы сыворотки крови используется в оценке общего статуса больного и имеет вспомогательное, но не диагностическое значение.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ

МАРКЕРЫ ФОРМИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

Остеокальцин - основной неколлагеновый белок костного матрикса, состоящий из 49 аминокислотных остатков, который синтезируется почти исключительно остеобластами и затем участвует в процессах минерализации (рис. 1).

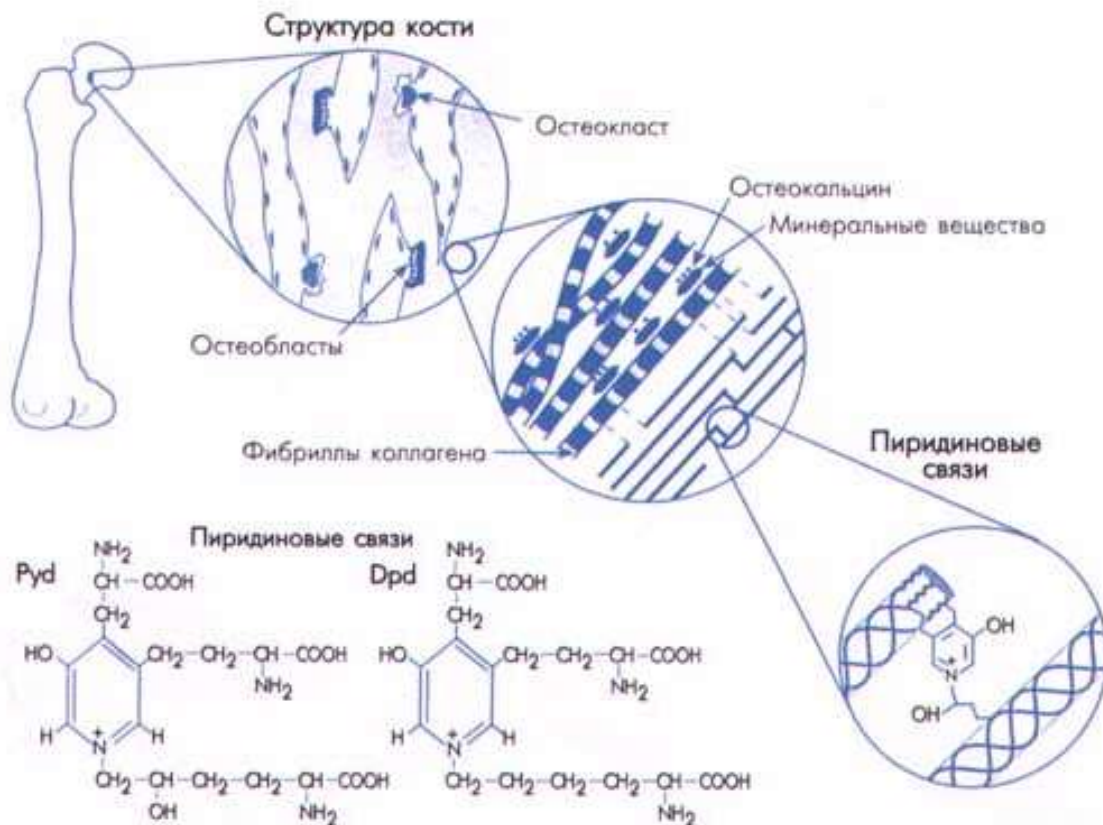
Его концентрация в сыворотке крови существенно увеличивается при некоторых заболеваниях, в частности, болезни Педжета, гиперпаратиреозе. Белок нестабилен, он подвергается сравнительно быстро деградации. Синтез остеокальцина зависит от витаминов К и Д, что снижает чувствительность и специфичность определения остеокальцина как маркера метаболизма костной ткани и ограничивает использование в широкой клинической практике.

Костный фермент щелочной фосфатазы Его исследование, наряду с общей активностью щелочной фосфатазы (ЩФ), существенно повышает информативность при дифференциальной диагностике заболеваний скелета и печени. ЩФ ассоциируется с активностью остеобластов. Разработка различных методических принципов определения активности костной ЩФ (см. табл.) способствует ее внедрению в клиническую практику в целях диагностики и мониторинга заболеваний скелета различного характера у взрослых и детей⁽³⁾.

Проколлагеновые пропептиды

N- и C- концевые пропептиды коллагена I типа (соответственно PINP и PICP) как промежуточные продукты метаболизма коллагена были идентифицированы более 20 лет назад, к ним получены специфические моноклональные антитела. Возможность их использования в качестве маркеров формирования костной ткани до сих пор обсуждается из-за недостаточной чувствительности и специфичности. Оба типа пропептидов циркулируют в сыворотке крови в виде отдельных цепей с ММ около 100 кД, что делает доступным их определение методами прямого иммуноферментного анализа. Однако выраженная физиологическая вариабельность ограничивает применение метаболитов коллагена как в диагностике, так и мониторинге заболеваний скелета, тем более, что остеокальцин и костная ЩФ обладают большей диагностической чувствительностью⁽⁴⁾.

рис.1 Схематическое изображение участия пиридиновых связей и остеокальцина в формировании структуры костной ткани (схема представлена S.P. Robins и публикуется с его согласия)



МАРКЕРЫ РЕЗОРБЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Основным биохимическим показателем, используемым в клинической практике в качестве критерия резорбции костной ткани, является *гидроксипролин мочи*. Низкая специфичность гидроксипролина в связи с его распространенностью практически во всех типах соединительной ткани, а также способностью реутилизироваться в процессе синтеза коллагена, требование соблюдения безколлагеновой диеты, другие методические трудности обусловили поиск более специфичных маркеров.

Пиридиновые связи коллагена Деструкция коллагена характерна для процессов резорбции костной ткани. Стабильность коллагенового матрикса обеспечивается межмолекулярными необратимыми связями, образующимися между некоторыми аминокислотами, входящими в полипептидную цепь коллагена. Из-за наличия пиридинового кольца перекрестные связи коллагена получили название пиридинолин (Пид) и дезоксипиридинолин (Дпид). Пиридиновые связи присутствуют только во внеклеточных коллагеновых фибриллах и характерны для дифференцированного матрикса прочных типов соединительной ткани - кости, хряща, дентина, они не обнаруживаются в коллагене кожи, мягких тканей, чем выгодно отличаются от гидроксипролина⁽⁵⁾. Костная ткань является основным источником Пид биологических жидкостей организма. Этот тип связи представлен также в хрящевой ткани, сухожилиях, однако активный метаболизм костной ткани по сравнению с другими типами соединительной ткани позволяет считать, что определяемый в моче Пид обеспечивается за счет деструктивных процессов физиологического или патологического характера преимущественно в костях. Его аналог Дпид обнаруживается практически исключительно в коллагене костной ткани, в которой соотношение Пид:Дпид соответствует 4:1. Это соотношение сохраняется в моче взрослых, где на долю Дпид приходится 20-22% от общего уровня экскреции пиридиновых связей коллагена, оно меняется в сторону увеличения относительного содержания Пид лишь при заболеваниях суставов различного генеза, на чем основана их дифференциальная диагностика.

Идентифицированы другие пептидные фрагменты молекулы коллагена, однако четких данных по клиническому использованию этих показателей в моче, а также неингибируемой тартратом кислой фосфатазы сыворотки крови для диагностики и мониторинга заболеваний скелета различной этиологии пока не представлено.
Методические принципы исследования

Пиридиновые связи коллагена экскретируются с мочой как свободные (40%), так и связанные с пептидами (60%). Измерение общей экскреции пиридиновых связей включает в себя длительный кислотный гидролиз с целью расщепления пептидных связей, твердофазную экстракцию с последующей жидкостной хроматографией высокого разрешения⁽⁶⁾. Этот принцип получил общее признание как «золотой стандарт» определения маркеров резорбции костной ткани. Однако длительность и трудоемкость метода ограничивают его использование в широкой клинической практике. Определение свободного Дпид на основе иммуноферментного анализа характеризуется высокой стабильностью, воспроизводимостью и хорошо коррелирует с методом жидкостной хроматографии⁽⁷⁾. Одним из последних достижений стало определение свободного Дпид на основе хемилюминесцентного анализа в автоматическом режиме на анализаторе ACS-180 фирмы «Chiron Diagnostics»⁽⁸⁾.

Стабильность для пиридиновых связей коллагена, экскретируемых с мочой, значительно упрощает использование этих показателей в рутинной практике. Допустимо хранение мочи в течение одного года при температуре -20°C и в течение недели при +4°C, кроме того, допускается размораживание образцов до 5 раз. Следует избегать использования консервантов при сборе мочи, а также воздействия прямых солнечных лучей. Режим сбора мочи не оказывает существенного влияния на результаты определения маркеров. Существует вариабельность экскреции маркеров резорбции костной ткани, выражающаяся в ее усилении в утренние часы, однако при исследовании порционной и 24-часовой мочи установлена высокая корреляционная зависимость результатов при их пересчете на концентрацию креатинина мочи. Для большей стандартизации рекомендуется исследование второй утренней порции мочи (от 7 до 11 часов),

КЛИНИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ

Биохимические маркеры резорбции и формирования костной ткани отражают активные процессы ее перестройки. Признаком эффективного лечения остеопороза и других заболеваний скелета является снижение степени экскреции Пиридиновых связей и особенно Дпид на 25% за период наблюдения 3-6 месяцев,

Накоплен обширный клинический материал по эффективному использованию различных маркеров резорбции и формирования костной ткани в целях диагностики и мониторинга остеопороза, болезни Педжета, гиперпаратиреоза и других заболеваний метаболического характера, сопровождающихся деструкцией скелета. Пиридинолин и дезоксипиридинолин, экскретирующиеся с мочой в составе коллагеновых фрагментов, получили наибольшее признание в клинической практике. В последнее время появились сообщения о возможности использования двух аналогов пиридиновых связей - пиридинолина и дезоксипиридинолина в качестве чувствительных признаков метастатического поражения костей.

Литература

1. Price C. P. and Thompson P.W. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann Clin Biochem* 1995; 32:244-260.
2. Dempster D.W. and Lindsay R. (1993), Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet* 1993; 341:797-801,
3. Baltazar G., Ardakani S., Dean J.J., Carelli M.J., Daniloff G.Y. and Kung V.T. Monoclonal Antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem* 1995; 41: 1560-1566.
4. Valimaki M.J., Tahtela R., Jones J.D., Peterson J.M., Riggs B.L. Bone resorption in healthy and osteoporosis postmenopausal women. *Eu J Clin Endocrin* 1994; 131; 258-262,
5. Seibel M.J., Robins S.P. and Beiezikian J.P, Urinary pyridinoline crosslinks of collagen. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 1992; 3(7): 263-278.
6. Black D., Duncan A., Robins S.P. Quantitative analysis of the pyridinoline crosslinks of collagen in urine using ion-paired HPLC. *Analytical Biochemistry* 1988; 169: 197-203.
7. Robins S.P. Woitge H., Hesley R., Ju J. Seyedin S., Seibel M.J. Direct ELISA for urinary deoxypyridinoline as a specific marker of bone resorption, *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1643-1649.
8. Peaston R.T. Urinary deoxypyridinoline: evaluation of an automated assay for the Chiron Diagnostic ACS-180. *Clin Chem* 1997; S6 43: pp s185.