

Osteoporóza a biochemické laboratorní markery

J. Čepová, M. Pechová

Osteoporóza je progresivní systémové onemocnění skeletu charakterizované úbytkem kostní hmoty a poruchami mikroarchitektury kostní tkáně s následným zvýšením fragility kostí a tendencí ke zlomeninám. Osteoporóza zvyšuje náchylnost k frakturám předloktí, krčku femuru a těl obratlových. Osteoporóza a s ní spojené fraktury jsou závažnou příčinou nemocí, invalidity, smrti a způsobují obrovské finanční náklady ve zdravotnictví.

Epidemiologie

Osteoporóza je závažný zdravotnický problém odpovědný za miliony nově vzniklých zlomenin ve všech zemích světa. Podle literárních údajů má 30 % žen nad 65 roků kompresivní zlomeniny obratlů. Ve vyšších věkových skupinách jsou podle amerických údajů jedna ze tří žen a jeden ze šesti mužů postiženi zlomeninou krčku femuru. Tento typ zlomeniny je fatální pro 12-20 % těchto nemocných. V současné době je situace v České republice u nás, co do počtu zlomenin na 100 000 obyvatel daného pohlaví za rok, obdobná jako v jiných průmyslových zemích.

Patogeneze

Není jednotná. Sekundární osteoporóza vzniká na podkladě jiného základního onemocnění. Patří sem především endokrinní onemocnění, dědičné choroby, dlouhodobá imobilizace, chronické onemocnění jater, ledvin, diabetes mellitus, nádorová onemocnění a iatrogeně navozená osteoporóza. Po včasném zahájení léčby lze dosáhnout obnovení kostní hmoty. Pod pojmem primární osteoporóza se řadí idiopatická osteoporóza a involuční osteoporóza, která se podle Riggse dělí na typ I. - postmenopauzální a typ II. - senilní. Rozvoj a vznik osteoporózy nepříznivě ovlivňuje celá řada rizikových faktorů, např. nedostatek pohybu, špatná životospráva, kouření, chronický příjem alkoholu, ale též předčasná menopauza, sekundární amenorea, bílá rasa...

Diagnostika monitorování léčby

Základem pro správné stanovení diagnózy je osobní a rodinná anamnéza (léky, operace, fraktury...). BMD (bone mineral density) je zlatým standardem pro diagnózu osteoporózy. Podle WHO (1992) hodnotíme skelet jako normální, je-li BMD v rozmezí jedné směrodatné odchylky (SD) ve srovnání k věku 35 let (T-skóre). Jako osteopénie (nízká kostní hmota) je

označován stav, je-li BMD mezi $-1,0$ až $-2,5$ směrodatné odchylky BMD mladých jedinců. Osteoporóza je pak stav skeletu, kde BMD je pod $-2,5$ směrodatné odchylky ve srovnání s mladými jedinci. To neplatí pro nemocné nad 75 roků, kde BMD vztahujeme k Z-skóre (odchylka vzhledem k věku vyšetřované osoby).

Laboratorní vyšetření

Základní biochemická vyšetření zahrnují krevní obraz, sedimentaci, jaterní testy, vyšetření hladiny glukózy, lipidů, Ca i P, kreatininu, albuminu. Tato vyšetření jsou nutná k vyloučení dalších onemocnění, při kterých může docházet k úbytku kostní hmoty (hypertyreóza, nádory...). Kostní markery vypovídají o celotělové úrovni resorpce a novotvorby kosti a považují se za ukazatele počtu remodelačních jednotek v kosti. Markery tedy mohou poskytovat reprezentativnější představu o rychlosti celotělového úbytku kostní hmoty než měření změn BMD, mikroarchitektury kosti nebo histomorfometrických parametrů ve specifických místech skeletu, která se liší zastoupením trámčité a kortikální kostní hmoty s rozdílným metabolickým obratem. Kostní markery však nevypovídají o množství kostního minerálu nebo kostní hmoty a nelze je použít ani jako alternativní kritéria pro diagnostiku osteoporózy. Kostní markery se často klasifikují podle jejich metabolické úlohy v kosti. Odlišují se proto markery kostní novotvorby (formace) a markery osteoresorpce. Biochemické markery kostní remodelace musí splňovat kritérium specifity pro kostní tkáň a kritérium senzitivity.

Biochemické markery kostní novotvorby

Markery kostní novotvorby jsou přímými nebo nepřímými produkty aktivních osteoblastů v různých fázích jejich vývoje. Tyto markery se stanovují v séru nebo v plazmě.

Osteokalcin (S-OC)

Osteokalcin je syntetizován v osteoblastech, je nekolagenovým specifickým proteinem kostní matrix. Jeho produkce je závislá na vitamínu K. V krvi lze zaznamenat jak intaktní osteokalcin (1- 49), tak velký N-MID fragment (aminokyseliny 1- 43). Intaktní osteokalcin je nestabilní, odběr je nutno dodat na ledu. Naproti tomu N-MID fragment je mnohem stabilnější.

Odběr vzorku: sérum, heparinizovaná plazma

Interference: hemolýza

Indikace: hodnocení aktivity osteoblastů

Klinický význam: dobře koreluje s rychlostí kostní novotvorby, resp. se statickými a dynamickými parametry kostní novotvorby

Zvýšení: koncentrace osteokalcinu jsou zvýšeny při metabolických osteopatiích s vysokou remodelací,

jako je hyperthyreóza, hyperparathyreóza, obezita
Snížení: u stavů s nízkou kostní remodelací, jako je hypothyreóza a hypoparathyreóza
Eliminace: ledviny
Princip metody: ECLIA, ELISA, RIA, IRMA

Kostní izoenzym alkalické fosfatázy (S-kostní ALP)

Odběr vzorku: sérum
Interference: hemolýza, nepoužívat odběrový systém s EDTA, citrátem, oxalátem
Indikace: hodnocení stupně kostní novotvorby. Marker první volby při výrazně zvýšené novotvorbě kosti
Klinický význam: u dospělých osob bez poruchy jaterních funkcí je přibližně polovina celkové aktivity ALP tvořena jaterním isoenzymem ALP, 40 % kostním isoenzymem ALP a až kolem 10 % střevním isoenzymem ALP. U těhotných má významný podíl placentární isoenzym ALP. Zdrojem ALP mohou být také nádory, enzym pak může být podobný placentární nebo střevní ALP.

U dětí a dospívajících je naprostá většina ALP tvořena kostní ALP.

Zvýšení: postmenopauzální ženy bez aplikace estrogenerů, osteoporóza, Pagetova choroba, hyperthyreóza, osteomalacie, hyperparathyreóza, metastatické postižení skeletu (osteoplastické nádory)

Snížení: hypoparathyreóza, mnohočetný myelom
Eliminace: játra

Princip metody: IRMA, EIA, elektroforéza

Propeptidy prokolagenu typu I

Vznikají při syntéze kolagenu typu I. V osteoblastech se tvoří preprokolagen. Po sekreci do extracelulární tkáně se od kolagenu odštěpí oba globulární propeptidy (aminoterminální a karboxyterminální). V dospělosti se v ekvimolárním poměru k novotvořenému kolagenu uvolňují do oběhu.

Zvýšení: zvýšený metabolický obrat kosti (osteoporóza), hyperparathyreóza, hyperthyreóza, plasmocytom, karcinom prostaty, chronická polyartritida
Snížení: osteoporóza indukovaná glukokortikoidy
Aminoterminální propeptid prokolagenu typu I (S-PINP)

Odběr vzorku: sérum, plazma s heparinem

Interference: nebyla zjištěna

Indikace: je metodou volby pro hodnocení kostní novotvorby

Klinický význam: PINP je specifickým produktem proliferujících osteoblastů a fibroblastů.

Eliminace: jaterní endoteliální buňky. Je tedy vhodný pro hodnocení funkce osteoblastů u nemocných s poruchami ledvin

Princip metody: RIA, ECLIA

Karboxyterminální propeptid prokolagenu typu I (S-PICP)

Odběr vzorku: sérum, plazma

Interference: nebyla zjištěna, ke zvýšení dochází u renální insuficience, alkoholismu

Indikace: hodnocení stupně novotvorby kolagenu (méně vhodná metoda pro hodnocení kostní novotvorby)

Klinický význam: PICP je specifickým produktem proliferujících osteoblastů a fibroblastů. V krvi je přítomen jako dimer stabilizovaný disulfidickými vazbami. Není specifický pro kost

Eliminace: játra

Princip metody: EIA

Biochemické markery kostní resorpce

Telopeptidy kolagenu typu I

Koncentrace telopeptidů v krvi a v moči nezávisí na obsahu kolagenu v potravě, a proto pacienti nemusí držet před vyšetřením bezmasou dietu.

Vylučují se z kosti pouze v průběhu kostní resorpce.

Aminoterminální telopeptid NTx-I

Odběr vzorku: moč, sérum

Interference: hemolýza

Indikace: hodnocení stupně osteoresorpce.

Koncentrace NTx závisí na věku a stupni pohlavního dospívání. NTx je specifický pro kolagen typu I a jeho hlavním zdrojem je kost.

Klinický význam: zvýšení markeru bývá zjištěno při všech osteopatiích se zvýšenou kostní remodelací - osteoporóza, osteomalacie, rachitida dětí, hyperparathyreóza, hyperthyreóza, nádorová a metastatická onemocnění kostí, Pagetova choroba
Princip metody: ELISA, CMIA

Karboxyterminální telopeptid CTx-I

C - terminální telopeptid obsahuje alfa-aspartovou kyselinu, která se mění na beta-formu během stárnutí kosti (beta-CTx). Tyto isomerní telopeptidy jsou specifické pro degradaci kolagenu typu I, především v kostech.

Odběr vzorku: sérum, plazma s heparinem, EDTA-plazma

Interference: nebyla zjištěna

Výsledky mohou být ovlivněny klinickým stavem, např. hyperparathyreoidismem či hyperthyreoidismem. Je třeba opatrnosti u pacientů s omezenými renálními funkcemi. Indikace: hodnocení stupně osteoresorpce
Metoda první volby nebo NTx.

CTx je specifický pro kolagen typu I a jeho hlavním zdrojem je kost.

Klinický význam: identický jako pro NTx

Princip metody: ELISA, RIA, ECLIA

Pyridinolinové příčné spojky kolagenu - PYD, DPD

V kosti je PYD přítomen v podstatně vyšším

množství než DPD. Pokud však jde o specificitu, PYD je obsažen ve větším množství v chrupavce, kosti, slachách a v cévní stěně, kdežto DPD se nachází převážně jen v kosti a dentinu. Kost je hlavním zdrojem sérového a močového PYD a DPD.

Odběr vzorku: moč

Interference: hemoglobin, bilirubin, nárůst DPD

Indikace: hodnocení stupně osteoresorpce (alternativa CTx nebo NTx)

Klinický význam: jako NTx.

Volný U-DPD však klesá jen při léčbě estrogeny, ale nikoliv při léčbě bisfosfonáty.

Princip metody: CMIA, ELISA, RIA

Biologické charakteristiky kostních markerů

U dětí korelují vyšší koncentrace markerů v časných ranních hodinách s vrcholem sekrece GH. Všechny biochemické markery kostní novotvorby i osteoresorpce jsou výrazně vyšší u dětí a dospívajících než v dospělosti. Během puberty závisí kostní markery více na stadiu pohlavního dospívání než na věku. U chlapců se v pubertě zvyšují všechny markery novotvorby kosti i osteoresorpce (včetně CTx a NTx), kdežto u děvčát se nezvyšují volné formy PYD a DPD. Po třicátém roce se markery stabilizují. U mužů se nejnižší hodnoty markerů osteoresorpce v moči zjišťují mezi 30. - 50. rokem věku, později je zvýšení jen malé. Nejnižší hodnoty markerů novotvorby jsou mezi 40. - 60. rokem věku a v dalších letech se S-ALP, S-PINP, S-PICP, S-OC zvyšují jen o 10-20 %. U žen se koncentrace kostních markerů zvyšují po menopauze. Hodnoty u post- a premenopauzálních žen se překrývají. Již v období menopauzy se hodnoty isoenzymu ALP, U-CTx, U-NTx zvyšují o 20 - 40%, zatímco S-OC a S-PICP nikoliv. Koncentrace celkového DPD a telopeptidů v moči se po menopauze v průměru zdvojnásobují. S-OC a isoenzym ALP se po menopauze také prokazatelně zvyšují. Průměrné hodnoty markerů zůstávají i v dalších letech po menopauze lehce zvýšené, anebo u starých žen opět stoupají.

Pohlaví

V období před pubertou je celotělový obsah minerálů ve skeletu i koncentrace kostních markerů resorpce a formace v séru a v moči obdobný u dívek i chlapců. V obdobím po pubertě klesají markery kostní remodelace pomaleji u chlapců než děvčát. Mezi 20. - 30. rokem věku jsou markery osteoresorpce i novotvorby lehce vyšší u mužů než u žen. Po 50. roce věku jsou všechny markery osteoresorpce asi o polovinu vyšší u žen než u mužů.

Zlomeniny

Markery kostní remodelace se významně mění během hojení zlomenin. U starých osob jsou koncentrace

S-OC a kostního isoenzymu ALP během několika prvních dnů po fraktuře snížené, ale již druhý týden po zlomenině stoupají koncentrace markerů kostní novotvorby. Vyšší hodnoty mohou přetrvávat další rok.

Imobilizace

Při úplné nebo částečné imobilizaci se výrazně zvyšuje osteoresorpce, zatímco kostní novotvorba je ovlivněna minimálně.

Léky

Dlouhodobá kortikosteroidní léčba navozuje snížení některých markerů kostní novotvorby jako výraz zvýšené apoptózy osteoblastů a osteofytů. Perorální, ale i inhalační kortikosteroidy snižují, v závislosti na dávce, během několika dnů S-OC a S-PICP. Dlouhodobé podávání antikonvulziv významně zvyšuje kostní remodelaci, zvyšuje se U-PYD. Thiazidová diuretika snižují kostní remodelaci, po menopauze snižují S-OC až o 25%. Hormony štítné žlázy navozují zvýšené markery osteoresorpce. Heparin významně snižuje markery kostní novotvorby. Nespecifické ovlivnění kostních markerů: Snížení glomerulární filtrace ledvin výrazně snižuje vylučování a navozuje kumulaci nízkomolekulárních markerů, jako jsou OC, PYD, DPD, CTx, NTx. Porucha funkce jater ovlivňuje hodnoty markerů, které jsou metabolizovány játry – isoenzym ALP, PICP, PINP.

Cirkadiánní rytmy

Koncentrace celkového vápníku je nejvyšší ve 13 hodin, nejnižší ve 3 ráno. Koncentrace markerů osteoresorpce sledují cirkadiánní rytmus s odpoledním minimem (14. - 23. hod.) a s maximem v časných ranních hodinách (2. - 8.hod.). Diurnální rytmus markerů kostní novotvorby je podobný jako u markerů resorpce (s maximem mezi 2. - 4. hodinou ranní, s minimem mezi 12 - 16 hod.)

Další doplňující vyšetření

Parathormon

Odběr vzorku: sérum, K3-EDTA plazma

Interference: hemolýza

Indikace: při podezření na zvýšení nebo snížení sekrece PTH, při dif. dg. hyperkalcemického a hypokalcemického syndromu

Klinický význam: při primární hyperparathyreóze korelují koncentrace PTH pozitivně s vápníkem. PTH má receptory na osteoblastech a stimuluje v nich tvorbu RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand), a tím rekrutování nových osteoklastů z prekursorů

Parathyreoid hormone- related protein

Indikace: dif. dg. hyperkalcemického syndromu, pokud je suprimována koncentrace PTH

Klinický význam: stanovení je nutné při dif. dg hyper-

kalcemického syndromu, u nemocných s humorální hyperkalcémií při malignitách, jejíž příčinou je hypersekrece PTHrP nádorovou tkání. PTHrP je normálním produktem v kůži, laktující prsní žláze, placentě a v některých nervových tkáních.

Kalcidiol (25 - hydroxycholecalciferol)

Indikace: při podezření na onemocnění nedostatkem vitamínu D, rtg podezření na osteomalacii nebo rachitidu, při podezření na intoxikaci vitamínem D.

Klinický význam: kalcidiol nejlépe vypovídá o záso-
bení organismu vitamínem D.

Při výběru metody je důležité sledovat zkřížené reakce ostatními metabolity vitamínu D.

Kalcitriol (1,25 - dihydroxycholecalciferol)

Indikace: v klinické praxi zpravidla není stanovení kalcitriolu indikováno. Kalcitriol je biologicky neaktivnějším metabolitem vitamínu D. Jeho koncentrace v krvi se zvyšují v důsledku účinků PTH, hypokalcemie a hypofosfatemie.

Estradiol

Deficit estradiolu je závažnou příčinou vzniku osteoporózy. Estradiol podporuje časnou diferenciaci osteoblastů, stimuluje syntézu kolagenu v kostech a inhibuje aktivitu osteoklastů.

SHBG

Je transportním proteinem pro testosteron a estradiol. Vysoké koncentrace SHBG v krvi redukují dosažitelnost volných hormonů, a tím zvyšují riziko fraktur pro postmenopauzální ženy a muže.

DHEAS

Je steroidní hormon. Byla nalezena pozitivní korelace v BMD u mužů a žen. Snížení DHEAS koreluje se zvýšeným rizikem fraktur.

U všech markerů, vyšetřovaných pomocí imunochemických metod, je nutné brát zřetel na možnost interferencí způsobených myšími protilátkami, případně na vlivy ovlivňující jednotlivé metody (protilátky proti streptavidinu, biotinu...). Při odběrech je nutné se řídit doporučeními výrobce pro jednotlivé analyty.

V současné době nepoužívané markery resorpce při diagnostice osteoporózy

Kostní sialoprotein (BSP), hydroxyprolin, osteoklastická (tartarát resistantní) kyselá fosfatáza.

V České republice nejsou zatím k dispozici jednotné standardy týkající se vyšetřovacích postupů, proto jsou v článku použity postupy IOF. Přesto by bylo racionální dodržovat vyšetření vždy jen jednoho markeru resorpce a jednoho markeru formace a dodržovat vyšetření pacienta v jedné laboratoři, neboť neexistuje kompatibilita mezi laboratořemi

v ČR. A nejsou srovnatelné ani jednotky a referenční rozmezí jednotlivých laboratorních metod.

Doporučení IOF (International Osteoporosis Foundation)

IOF doporučení pro užití kostních markerů u postmenopauzální osteoporózy

Monitorace anti-resorpční léčby: Vždy použít jeden marker resorpce a jeden marker formace

Kostní resorpce: U-NTx nebo U-CTx nebo S-CTx pro monitoraci terapie bisfosfonáty, stejné markery nebo U-DPD pro monitoraci HRT

Kostní formace (novotvorba): S-kostní ALP, osteokalcin, PINP

Doba měření: Sérum: ráno (před 9. hodinou po celonočním lačnění). Moč: první nebo druhá ranní moč, s korekcí na kreatinin, po nočním lačnění

Interval mezi měřeními: Markery resorpce: před zahájením léčby a 3 a /nebo 6 měsíců po začátku léčby. Markery formace: před zahájením léčby a 6 měsíců po začátku léčby

Kostní markery slouží k:

- monitoraci účinnosti terapie již tři měsíce po nasazení medikace
- identifikaci pacientů, kteří nedostatečně užívají medikaci
- identifikaci non-responderů k terapii
- předpovědi snížení rizika fraktur a změn BMD během terapie
- identifikaci pacientů s rizikem ztráty kostní hmoty

Pro optimální léčbu pacientů s poruchami kostního metabolismu je nezbytně nutná úzká spolupráce klinického pracoviště a laboratoře. Záleží jen na dohodě těchto dvou stran, které laboratorní markery budou u svých pacientů vyšetřovat.

Literatura:

- Broulík, P. Osteoporóza, Praha: Maxdorf s.r.o., 1999
- Blahoš, J. Osteoporóza, Praha: Galén, 1995
- Zima, T. Laboratorní dignostika, Praha: Galén, 2002
- Stárka, L., Zamrazil, V. a kol. Základy klinické endokrinologie, Praha: Maxdorf s.r.o., 2005
- Elecsys Bone Marker Testing, Mannheim Germany, 2004
- Monitoring of Treatment Efficacy in Osteoporosis, Mannheim Germany, 2004
- Štěpán, J. Monitorování léčby osteoporózy, 2007, číslo 2, ročník 15
- Donald S. Young, MD, PhD, Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, Sec. Edition, 1997