

ISSN 1684-9280

**Травматология**  
**ЖӘНЕ**  
**Ортопедия**

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОСТНОГО ФОРМИРОВАНИЯ И РЕЗОРБЦИИ ПРИ ОСТЕОПОРОЗЕ**

**Н.Д. БАТПЕНОВ, О.Ю. ПОПОВА, Е.В. ЩЕРБАКОВА, Е.А. ДЕМИНА,  
А.В. ЧЕРНЫШОВА**

**Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, Астана**

---

---

Биохимиялық маркерлер барлық мамандар үшін үлкен қызығушылық тудыруда, әсіресе остеопороз мәселесімен айналасушы. Биохимиялық маркерлер қазіргі кезде 2 үлкен топқа бөлінеді. Олардың бір тобы - остеопороздың түрін және оның пайда болуының матогенетикалық механизмін анықтайды. Екінші топтағылар—сүйек тініндегі сүйек алмасуды сипаттайды. Олар да екі топқа бөлінеді яғни, сүйек күсігінің даму процессін сипаттаушы және резорбция процессін сипаттаушы.

Authors give the characteristic to biochemical markers which allow to estimate a condition of metabolic processes in an osteal tissue, to establish rate of metabolic processes and rates of loss of osteal mass, to define risk of development of an osteoporosis and the fractures bound to it, to pick up adequate treatment at an osteoporosis and to estimate its efficiency.

---

В настоящее время биохимические маркеры представляют безусловный интерес для всех специалистов, занимающихся проблемой остеопороза

[1,2,3,4,5,6,7,8]. Метаболизм кости состоит из двух процессов: резорбции (разрушение) и формирования новой костной ткани. Биохимические маркеры на

современном этапе могут быть разделены на две большие группы [3,9,10,11,12]. Одну группу составляют маркеры, позволяющие определить тип остеопороза (ОП) и установить патогенетические механизмы его возникновения [13,14,15]. В нее входят:

1. гормоны (паратиреоидный гормон, тиреоидные гормоны, эстрогены, кальцитонин, витамин Д и др.);

2. уровни кальция и фосфора в крови, которые позволяют оценить состояние минерального гомеостаза;

3. концентрации кальция, фосфора и магния в утренней моче, для оценки почечной реабсорбции этих ионов;

4. суточная экскреция кальция с мочой, для оценки всасывания кальция в кишечнике.

Вторую группу биохимических маркеров составляют маркеры, которые отражают состояние костного обмена непосредственно в кости. Они делятся на две группы:

1. маркеры, отражающие состояние процессов формирования кости;

2. маркеры, отражающие состояние процесса резорбции.

**Биохимические маркеры формирования кости.**

*Костная щелочная фосфатаза (КЩФ)* – продуцируется остеобластами и определяются в сыворотке крови [16,17]. Описано две изоформы щелочной фосфатазы (костная и печеночная). В норме костный и печеночный изоферменты присутствуют в сыворотке крови примерно в равных количествах. Однако в растущем организме – у детей и подростков – уровень костноспецифической ЩФ достигает 90%. Высокая специфичность КЩФ приближают данный маркер к «идеальному» маркеру активности остеобластов. Синтез КЩФ возрастает в процессе дифференциации остеобластов, имеющем место в условиях ускоренного формирования кости. Предполагается, что КЩФ участвует в процессах минерализации остеоида. Однако, интерпретация данных исследования КЩФ бывает затруднена, что связано, с одной стороны, половыми и возрастными особенностями ее активности, а с другой. – с недостаточной специфичностью используемых методов. Наиболее адекватным на сегодняшний день методом является иммуноферментный анализ с использованием моноклональных антител [12].

*Остеокальцин (ОК)* – неколлагеновый кальцийсвязывающий белок с молекулярной массой 5700 д, синтезируемый остеобластами и одонтобласти и определяемый в сыворотке крови [16,17,18]. ОК обогащен  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислотой, и для его синтеза требуется витамин Д. Более 90% синтезируемого остеобластами ОК у молодых и около 70% у взрослых людей включается в костный матрикс, а остальная часть попадает в кровоток. Точно установить долю синтезированного остеобластами ОК, попадающую в кровоток, не представляется возможным, более того она может меняться в зависимости от характера метаболических нарушений в кости. Выводится ОК из кровотока почками (посредством клубочковой фильтрации и деградации в почечных канальцах). При выраженном снижении клубочковой фильтрации, в частности, при хронической почечной

недостаточности, уровень ОК в крови может быть повышенным. Наличие в кровотоке фрагментов ОК вследствие либо частичного его разрушения в сосудистом русле под воздействием циркулирующих протеаз, либо вследствие его разрушения в процессе резорбции кости также может приводить к повышенным значениям при определении ОК. Уровень ОК в крови подвержен большим суточным колебаниям (для динамики наблюдения кровь на ОК рекомендуется брать в одни и те же утренние часы). ОК рассматривается как один из самых информативных биохимических маркеров формирования кости и скорости «костного оборота». Наиболее информативным методом определения уровня ОК является иммуноферментный анализ с использованием антител [12].

*Карбокси- и Аминотерминальные пропептиды проколлагена I типа (КТППК1 и АТППК1).* Коллаген I типа – основной белок, составляющий 90% органического матрикса кости. Он синтезируется остеобластами в виде предшественника проколлагена I типа, который представляет собой большую молекулу, содержащую с К – и А концов глобулярные фрагменты (КТППК1 и АТППК1), которые отделяются от составной молекулы с помощью специфических пептидаз после выброса проколлагена из клетки [16,17,19]. Очищенная молекула I типа включается в построение фибрилл костного матрикса, а КТППК1 и АТППК1 выбрасываются в экстрацеллюлярную жидкость. Соотношение между количеством коллагена, откладываемого в костный матрикс и количеством КТППК1 или АТППК1, поступающего в кровоток, теоретически равно 1, и поэтому по уровню КТППК1 и АТППК1 представляется возможным судить о способности остеобластов продуцировать коллаген I типа. Определяются КТППК1 и АТППК1 методом иммуноферментного (предпочтительно) или радиоиммунного анализа [12,20,21,22].

**Биохимические маркеры резорбции кости.**

К специфическим биохимическим маркерам резорбции кости могут быть отнесены либо продукты деградации коллагена I типа (свободные аминокислоты и различные типы пептидов), образующиеся в результате разрушения костного матрикса под воздействием остеокластов, либо ферменты, участвующие в этом процессе [23,24,25,26,27,28].

*Пиридинолин (ПИД) и диоксипирилин (ДПИД)* в моче. Костный коллаген характеризуется наличием поперечных связей между отдельными молекулами коллагена, которые играют большую роль в его стабилизации и представлены в виде пиридинолина (оксизилпиридинолина) и деоксипиридинолина (лизилпиридинолина) [16,17,24]. Поперечные связи формируются экстрацеллюлярно после отложения молекул коллагена в матрикс, и их выход из кости в сосудистое русло возможен только в результате резорбции кости, осуществляемой остеокластами, т.е. в результате разрушения коллагена. Наиболее специфичным для костей является ДПИД, поскольку он содержится преимущественно в костях и в небольшом количестве в дентине, аорте и связках, а ПИД помимо костей в достаточном количестве еще и в хрящах. Полагают, что ПИД и ДПИД не метаболизируются в организме, а экскретируются с мочой. На основании вышесказанного, ПИД и особенно ДПИД в на

стоящее время считают самыми адекватными маркерами резорбции кости, при этом для оценки резорбции используется такой параметр, как отношение концентрации пирилинков (ПИД и ДПИД) к концентрации креатинина в моче. Для определения ПИД и ДПИД используется высокоразрешающая жидкостная хроматография с последующей флюориметрией и иммуноферментный анализ с использованием антител к ПИД или ДПИД [29,30,31,32,33].

Во время обновления костной ткани коллаген I типа, который составляет более 90% органического матрикса кости, расщепляется с образованием небольших пептидных фрагментов, попадающих в кровь и выделяющихся почками. Отщепление C-концевых тепепептидов происходит на самом раннем этапе деградации коллагена, поэтому другие метаболиты коллагена не влияют на их концентрацию. Тепепептиды коллагена можно определять как в моче, так и в сыворотке, с использованием тест-систем *Cross Laps*. Специфичность тест-системы обеспечивается применением 2 моноклональных антител, каждое из которых связывается с концевыми линейными октапептидами (8AA)  $\alpha$ 1-цепи коллагена I типа. Во вновь сформированной кости последовательность 8AA содержат  $\alpha$ -аспарагиновую кислоту, но по мере старения кости  $\alpha$ -аспарагиновая кислота изомеризуется в  $\beta$  – форму. Используемые моноклональные антитела специфически распознают линейные октапептиды, содержащие  $\beta$ -аспарагиновую кислоту или  $\alpha$  – аспарагиновую кислоту. Измерение  $\beta$ *CrossLaps* в сыворотке или моче позволяет оценить темпы деградации относительно старой кости,  $\alpha$ *CrossLaps* – темпы недавно сформированной кости [12,16,17].

Остеопороз сопровождается отчетливым повышением уровня C-тепепептидов I типа коллагена [17]. Потери костной массы возникают в результате преобладания резорбтивных процессов и могут быть как быстрыми, так и медленными в зависимости от степени усиления деградации коллагенового матрикса кости и степени нарушения соотношения между процессами ремоделирования кости. Динамическое определение уровня C-концевых тепепептидов имеет важное значение для прогнозирования восстановления минеральной плотности кости при проведении антирезорбционной терапии у женщин в период менопаузы, у пациентов с остеопенией и болезнью Педжета [20,34].

Исследования показали, что увеличение концентрации *Cross Laps* примерно в 2 раза от нормы ассоциируется с 2-кратным увеличением риска переломов шейки бедра. Более того, у женщин с низким значением минеральной плотности кости шейки бедра ( $\geq 2SD$  от среднего уровня у лиц молодого возраста) и повышением уровня *Cross Laps* отмечался более высокий риск переломов шейки бедра, по сравнению с женщинами, имеющими какой-либо один фактор риска [17,34].

*Карбокси- и Аминотерминальные тепепептиды коллагена I типа (КТТКИ, АТТКИ) в плазме и моче.* Помимо кости, они присутствуют во всех тканях, которые содержат коллаген I типа. В сосудистое русло из костей тепепептиды выходят исключительно в процессе резорбции, однако, данные об их метаболизме и очищении отсутствуют. Для определения КТТКИ при-

меняют радиоиммунологический метод с использованием поликлональных антител, а для определения АТТКИ – иммуноферментный анализ с использованием моноклональных антител против поперечносвязанных молекул коллагена I типа [16,17,34].

*Оксипролин в моче (ОПР).* ОПР составляет около 14% аминокислотного состава коллагена, продуцируемого остеобластами [35]. Он образуется в результате гидроксирования пролина в процессе посттрансляционной модификации проколлагеновых цепей, которая частично имеет тканевую специфичность. 85-90% ОП, освобождающегося из костей в результате разрушения коллагена, метаболизируется в печени и только 10-15% - появляется в моче. При этом около 10% ОПР, появляющегося в моче, составляет ОП, образующийся не в результате резорбции, а в результате деградации вновь синтезированных проколлагеновых пептидов или новых коллагеновых молекул, не использованных при построении костного матрикса [36]. Таким образом, появляющийся в моче ОПР отражает суммарно и функцию остеобластов (процесс формирования), и функцию остеокластов (процесс резорбции), однако доля ОПР, образуемого в результате резорбции превалирует. Исследование ОПР в моче используется для оценки скорости костного оборота, является специфичным только для костей, поскольку содержится, хотя и в меньшем количестве, но во всех типах коллагеновых молекул. Кроме того, он может появляться в моче также в результате приема содержащей коллаген пищи [16,17,36].

*Галактозилоксиллизин в моче (ГОЛ).* Образуется, как и ОПР, в остеобластах в результате гидроксирования лизина с последующим гликозилированием (присоединением галактозы) [16]. Содержится исключительно в коллагене, при этом преимущественно в коллагене I типа, находящегося в костях. Его нет в коллагеновых пептидах и поэтому он, не выбрасывается из костей в процессе формирования кости, а появляется в сосудистом русле исключительно в процессе резорбции кости, не метаболизируется в печени, экскретируется с мочой. Для определения ГОЛ используется высокоразрешающая жидкостная хроматография с последующим флюоресцентным анализом [12,17].

*Тартратрезистентная кислая фосфатаза (ТРКФ) – фермент, секретируемый остеокластами и попадающий в повышенном количестве в кровотоки при увеличении количества и возрастании активности остеокластов [16,37]. ТРКФ один из 6 изоферментов кислой фосфатазы, находится в большом количестве в остеокластах и секретируется ими во внеклеточную среду во время резорбции. Она присутствует и в других клетках, особенно в макрофагах. Поскольку активность ТРКФ в сыворотке крови возрастает при состояниях, характеризующихся усилением процесса резорбции кости, а так же имеется корреляция между ее активностью и данными гистоморфометрии, ТРКФ используют для определения выраженности резорбтивных процессов в скелете. Исследование этого маркера особенно полезно при мониторинге лечения различными препаратами, подавляющими резорбцию костной ткани (бисфосфонатами, эстрогенами и др.), остеопороза, болезни Педжета и онкологических заболеваний с метастазами в кость [12,16,17]. Однако*

необходимы дальнейшая оценка специфичности и диагностической ценности этого маркера, а так же исследования по разработке более адекватных методов ее определения.

Таким образом, использование биохимических маркеров костного ремоделирования и резорбции в современной медицинской практике позволяет:

1. оценить состояние метаболизма в костной ткани;
2. установить скорость обменных процессов и темпы потери костной массы;
3. определить риск развития остеопороза и связанных с ним переломов;
4. подобрать адекватное лечение при остеопорозе и оценить его эффективность.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Никитинская О.А., Лебедева Т.И., Беневоленская Л.И. Результаты исследования маркеров костного метаболизма у больных с первичным остеопорозом // *Остеопороз и остеопатии.*- 1998.- №3.- С. 21-23.
2. Ермакова И.П., Пронченко И.А. Современные биохимические маркеры в диагностике остеопороза // *Остеопороз и остеопатии.*- 2000.- №5.- С.24-26.
3. Бердюгина О.В. Резорбция и регенерация костной ткани – две стороны одного процесса: общие иммунологические механизмы // *Медицинская иммунология.*-2006.-Т.8, №2-3.-С.387-388.
4. Делмас П.Д. Механизмы потери кости при остеопорозе // *Первый Российский симпозиум по остеопорозу.*-1995.-С.31-32.
5. Рожинская Л.Я. Дзеранова Л.К., Марова Е.И. и соавт. Состояние костной ткани у больных с гиперпролактинемическим гипогонадизмом // *Проблемы эндокринологии.*-1996.-Т.38, №6.-С.17-19.
6. Беневоленская Л.И., Михайлов Е.Е. Социальные аспекты остеопороза // *Медицинская визуализация.*-1996 (июль-сентябрь).-С.4-8.
7. Михайлов Е.Е., Беневоленская Л.И., Ершова О.Б., Бобылев В.Я. Эпидемиология переломов бедра в возрастных группах повышенного риска по остеопорозу // *Тер. архив.*-1995.-Т.67, №10.-С.39-42.
8. Bettica P., Moro L. Biochemical markers of bone metabolism in the assessment of osteoporosis // *JIFCC.*-1995.-Vol.7, №1.-P.16-22.
9. Ермакова И.П., Пронченко И.А., Бузулина В.П., Родионова С.С. Оганов В.С. Диагностическая значимость биохимических маркеров резорбции и формирования костной ткани у женщин с постменопаузальным остеопорозом // *Остеопороз и остеопатии.*- 1998.- №2.- С.10-12.
10. Насонов Е.Л. Кальций и витамин D: роль в профилактике и лечении остеопороза и других заболеваний человека // *Consilium medicum.*-1999.-Т.1, №5.-С.153-158.
11. Calvo M.S., Eyre D.R., Gundberg C.M. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover // *Endocr Rev.*- 1996.-№17.-P. 333-68.
12. Taylor A.K., Lueken S.A., Libanati C., Baylink D.J., Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism // *Rheum.*

*Dis. Clin. North. Am.*- 1994.- №20.-P. 589-607.

13. Bengtsson Bengt – Ake M. Недостаточность гормона роста у взрослых: введение в проблему // *Проблемы эндокринологии.*-1994.-№4.-С.65-81.
14. Мкртумян А.М., Хангина Т.А., Балаболкин М.И. Секреция кальцийрегулирующих гормонов при гипотиреозе // *Тезисы к докладу Третьего Всероссийского съезда эндокринологов.*-1996.-С.51.
15. Gamero P., Gineyts E., Arbault P. et al. Different effects of bisphosphonate and estrogen therapy on free and peptidobound bone cross-links excretion // *Bone Miner. Res.*- 1995.-№10.-P.641-649.
16. Eastell R., Baumann M., Hoyle N.R., Wiczorek L. Bone markers: Biochemical and clinical perspectives.- London: Martin Dunitz, 2001.-252 P.
17. Пузз Л. Б., Мелтон Л.Д. Остеопороз: этиология, диагностика, лечение.-Москва: Бином, 2000.-558С.
18. Vergnaud P., Gamero P., Meunier P.J. et al. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS study // *Clin. Endocrinol. Metab.*- 1997.- №82.-P. 719-724.
19. Melkko J., Niemi S., Ristelli L., Ristelli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen // *Clin. Chem.*- 1990.-№36.-P.1328-1332.
20. Ebeling P.R., Peterson J.M., Riggs B.L. Utility of type I procollagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone diseases // *Bone Miner. Res.*- 1992.-№7.-P.1243-1250.
21. Melkko J., Kaupila S., Niemi S. et al. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen // *Clin. Chem.*- 1996.-№42.-P.947-954.
22. Parfitt A.M., Simon L.S., Villanueva A.R., Krane S.M. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase // *Bone Miner. Res.*-1987.-№2.-P.427-436.
23. Hanson D.A., Weis M.E., Bollen A.M. et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine // *Bone Miner. Res.*-1992.- №7.-P.1251-1258.
24. Apone S., Lee M.Y., Eyre D.R., Osteoclasts generate cross-linked collagen N-telopeptides (NTx) but no free pyridinolines when cultured on human bone // *Bone.*- 1997.-Vol.21, №2.-P.129-136.
25. Gamero P., Gineyts E., Riou J.P., Delmas .PD., Assessment of bone resorption with a new marker of collagen degradation in patients with metabolic bone disease // *Clin. Endocrinol. Metab.*-1994.-№ 79.-P.780-785.
26. Woitge H.W., Pecherstorfer M., Li Y. et al. Novel serum markers of bone resorption: clinical assessment and comparison with established urinary indices // *Bone Miner. Res.*-1999.-№14.-792-801.
27. Atley L.M., Mort J.S., Lalumiere M., Eyre D.R. Proteolysis of human bone collagen by cathepsin K: characterization of the cleavage sites generated by cross-linked N-telopeptide neopeptide // *Bone.*- 2000 Vol.26, №3.-P.241-247.

28. Eyre D.R. New biomarkers of bone resorption // *Clin. Endocrinol. Metab.*-1992.-№74.-P. 470A.
29. Seyedin S.M., Kung V.T., Daniloff Y.N. et al. Immunoassay for urinary pyridinoline: the new marker of bone resorption // *Bone Miner. Res.*- 1993.-№8.-P.635-641.
30. Delmas P.D., Schlemmer A., Gineyts E. et al. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis // *Bone Miner. Res.*-1991.- №6.-P.639-44.
31. Robins SP, Woitge H, Hesley R et al, Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption // *Bone Miner. Res.*-1994.-№9.-P.1643-1649.
32. Risteli J., Elomaa I., Niemi S. Et al. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation // *Clin. Chem.*-1995.-№39.-P.635-640.
33. Ohishi T., Takahashi M., Kushida K. et al. Quantitative analyses of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline excretion in patients with hyperthyroidism.- *Endocr. Res.*-1992.-№18.-P.281-290.
34. Eriksen E.F., Charles P., Melsen F. et al. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry // *Bone Miner. Res.*-1993.-№8.-P.127-132.
35. Макаров М.А., Родионова С.С., Фурцева Л.И., Бородулин И.Э. Оксипролин и дезоксипролин мочи у больных с постменопаузальной формой остеопороза // Второй Российский симпозиум по остеопорозу: тезисы лекций и докладов.- Екатеринбург, 1997.- С.35-36.
36. Matsuki H., Kasuga H., Sugita M. et al. An improved method for analysis of urinary hydroxyproline by an automated analyzer.- *Tokai J. Exp. Clin. Med.*-1984.-№ 9.P.421-428.
- Cheung C.K., Panesar N.S., Haines C. et al. Immunoassay of a tartrate-resistant acid phosphatase in serum // *Clin. Chem.*-1995.-№41.-P.679-686.