

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΟΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Π. Δήμου

Δ/ντής Βιοχημικού Εργαστηρίου Π.Γ.Ν. «Ασκληπιείο» Βούλας

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Δημιουργία της οστεοπόρωσης δεν εξαρτάται μόνο από το επίπεδο της οστικής μάζας η οποία αντανάκλα το 80% της τελικής αντοχής του οστού αλλά και από τον ρυθμό της οστικής εναλλαγής και τον ρυθμό της οστικής απώλειας.

Υπάρχουν σήμερα πολλές αποδείξεις ότι όσο υψηλότερος είναι ο ρυθμός οστικής εναλλαγής τόσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός οστικής απώλειας.

Το 30% των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, χάνουν ετησίως 3% οστού. Η έγκαιρη αναγνώριση και αντιμετώπιση των ατόμων με αυξημένο ρυθμό οστικής εναλλαγής (fast bone losers), αποτελεί τον κυριώτερο στόχο εκεί-

νων που ασχολούνται με την διάγνωση και θεραπεία της οστεοπόρωσης. Ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται με τους Βιοχημικούς Οστικούς Δείκτες (ΒΟΔ).

Οι ΒΟΔ παρέχουν μία δυναμική εκτίμηση του ρυθμού οστικής ανακατασκευής, σε αντίθεση με μία μέτρηση οστικής πυκνότητας, που δίνει μία στατική εκτίμηση της περιοχής του σκελετού που μετράται.

Οι ΒΟΔ είναι ένζυμα και μόρια της θεμέλιας ουσίας, που συνδέονται αφ' ενός με την Οστεοβλαστική λειτουργία και ονομάζονται Δείκτες Οστικής Παραγωγής (ΔΟΠ) και αφ' ετέρου με την Οστεοκλαστική λειτουργία και ονομάζονται Δείκτες Οστικής απορρόφησης (ΔΟΑ).

Σχήμα 1:

ΟΣΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ (BONE FORMATION)	ΟΣΤΙΚΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ (BONE RESORPTION)
<p>Αίμα: + Αλκαλική φωσφατάση (ολική και οστικό κλάσμα) + Οστεοκαλσίνη Προκολλαγόνο I Οστεονεκτίνη</p>	<p>Αίμα: Ανθεκτικό στο τρυγικό άλας κλάσμα οξίνης φωσφατάσης (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase) Ελεύθερο γ-καρβοξυ-γλουταμικό οξύ C-τελοπεπτιδιο (CTX ή Cross Laps™) • Ούρα: + Ολική και διαχεόμενη ΟΗΡr/κρεατινίνη (Total and Dialyzable ΟΗΡr/Cr) + Ασβέστιο/κρεατινίνη Παράγωγα πυριδινίου: (Pyr. Crosslinks) - Πυριδινολίνη (Pyr) - Δεοξυπυριδινολίνη (dPyr) Συνδεδεμένα πεπτιδια: - N-τελοπεπτιδιο (NTX) - C-τελοπεπτιδιο (CTX ή Cross Laps™) Γλυκοσίδες της υδροξυλυσίνης - γαλακτοσυλδροξυλυσίνη - γλυκοσυλγαλακτοσυλδροξυλυσίνη</p>
<p>ΟΗΡr= υδροξυπρολίνη + Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι στην κλινική πράξη • Κατά προτίμηση σε πρωινό δείγμα ούρων 2ώρου μετά από ολονύκτια νηστεία</p>	

ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (ΔΟΠ)

ΑΙΜΑ

1. Ολική Αλκαλική Φωσφατάση (ΟΑΦ) και οστικό κλάσμα (BSAP)

Η ΟΑΦ είναι ένα ένζυμο, μία υδρολάση, που υδρολύει τον ορθοφωσφορικό εστέρα. Δεν είναι ειδική για τα οστά μιας και προέρχεται και από το ήπαρ, τους νεφρούς, το έντερο, τον πλακούντα, όγκους, κ.λπ.

Το 50% της ΟΑΦ παράγεται στα οστά και το ήπαρ. Έτσι η αύξησή της δεν μπορεί να αξιολογηθεί εάν υπάρχει ηπατοπάθεια. Καλύτερος δείκτης είναι το οστικό κλάσμα που βρίσκεται πάνω στην μεμβράνη των οστεοβλαστών. Σήμερα ανιχνεύεται εύκολα με ανοσοενζυμική μέθοδο με μονοκλωνικό αντίσωμα. Βοηθάει την καλύτερη αξιολόγηση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.

2. Οστεοκαλσίνη

Μία μικρή μή κολλαγονική πρωτεΐνη 4.900D, ειδική για τον οστίτη ιστό και την οδοντίνη. Συντίθεται κυρίως από τους οστεοβλάστες και σε μεγάλο ποσοστό δεσμεύεται από την θεμέλια ουσία. Σε ένα μικρό ποσοστό κυκλοφορεί στο αίμα όπου μπορεί να μετρηθεί με RIA ή μονοκλωνικό αντίσωμα.

Σε έντονη οστεοκλαστική δραστηριότητα, απελευθερώνεται επίσης από την θεμέλια ουσία και αντανακλά την οστική απορρόφηση.

Η ευαισθησία των αντιδραστηρίων, παίζει μεγάλο ρόλο στην κλινική εκτίμηση της οστεοκαλσίνης, δηλαδή αν δείχνει την οστεοβλαστική ή οστεοκλαστική λειτουργία.

3. Πεπτίδια του προκολλαγόνου I

Στην διαδικασία σύνθεσης του κολλαγόνου τύπου I (που αποτελεί το 90% της θεμέλιας ουσίας) απελευθερώνονται τα αμινικά και καρβοξυλικά άκρα του προκολλαγόνου I (DISP), κυκλοφορούν στο αίμα και μπορούν να μετρηθούν με RIA. Έχουν μειωμένη ευαισθησία πιθανών λόγω διαφορετικής δέσμευσής τους στο ήπαρ.

ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ (ΔΟΑ)

ΑΙΜΑ

1. Ανθεκτική στο τρυγικό άλας, όξινη φωσφατάση

Υπάρχει στα οστά, προσάτη, ερυθρά αιμοσφαίρια και αποτελείται από 5 ισozένζυμα. Το οστικό ισozένζυμο είναι ανθεκτικό στην προσθήκη τρυγικού άλατος και γι' αυτό ονομάζεται TRAP (Titrable Resistance Acid Phosphatase).

Η TRAP αυξάνεται σε διάφορες παθήσεις μεταβολισμού των οστών, μετά από ωσηκετομή και σε ορισμένες περιπτώσεις σπονδυλικής οστεοπόρωσης. Η αστάθεια του ενζύμου σε κατεψυγμένα δείγματα και η παρουσία στον ορό αναστολών του ενζύμου αποτελούν τα μειονεκτήματα της μεθόδου που γίνεται δυσχερής ηλεκτροφορετικά.

2. C-ΤΕΛΟΠΕΠΤΙΔΙΟ CTX ή CROSS LAPS

ΟΥΡΑ

1) Υδροξυπρολίνη ούρων

2) Γλυκοσίδια υδροξυλουσίνης ούρων

Η υδροξυπρολίνη εμπεριέχεται στο κολλαγόνο σε ποσοστό 13%, η οποία στην φάση της οστικής αποδόμησης αποβάλλεται σαν ακέραιο μόριο κατά 10% όπου και μετράται. Δεν είναι όμως ειδική για τα οστά γιατί μόνο το 50% του κολλαγόνου είναι οστικό, το δε υπόλοιπο 50% βρίσκεται στα μαλακά μόρια, μεταβολίζεται όμως με πολύ βραδύτερο ρυθμό από αυτό των οστών, πράγμα που βοηθάει στην εκτίμηση του οστικού μεταβολισμού. Σήμερα πιο ευαίσθητος δείκτης είναι **OHPr** 2ώρου.

Cr

3) ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΟΙ ΔΕΣΜΟΙ ΠΥΡΙΔΙΝΙΟΥ

α) Υπό την ελεύθερη μορφή

– Πυριδινολίνη (Pyr)

– Δεοξυπυριδινολίνη (DPyr)

Τα δύο αυτά **αμινοξέα** σχηματίζουν διασταυρούμενους δεσμούς των αλυσίδων του κολλαγόνου στην ώριμη μορφή του σταθεροποιώντας με τον τρόπο αυτό το μόριο. Παράγονται από την λυσίνη και υδροξυλουσίνη.

Η PYR αφθονεί στο κολλαγόνο τύπου I και στον ιστό κολλαγόνου τύπου II.

Η DPYR βρίσκεται μόνο στο κολλαγόνο τύπου I. Εκκρίνονται στα ούρα σαν ελεύθερες μορφές σε ποσοστό 40% και σαν πεπτιδικές σε ποσοστό 60%. Ανοσοενζυμική μέθοδος με μονοκλωνικά αντισώματα.

β) Συνδεδεμένα πεπτίδια (Τελοπεπτίδια)

N T X N-Τελοπεπτίδιο

C T X C-Τελοπεπτίδιο

N T X παράγεται απ' ευθείας από τους οστεοκλάστες, οπότε η μέτρησή του είναι καλύτερος δείκτης δράσης των οστεοκλαστών απ' ότι η πυριδινολίνη.

C T X: πολύ πρόσφατα ο BOND και οι συνεργάτες του περιέγραψαν μία ανοσολογική μέθοδο ενός νέου παράγοντα αποδόμησης του κολλαγόνου τύπου I, στα ούρα και στο αίμα.

Πολλές πρόσφατες μελέτες του Gagnero και των συνεργατών του, έδειξαν μία σημαντική υπερδιπλάσια αύξηση CTX μετά την εμμηνοπαυση, πενταπλάσια στο PAGE τετραπλάσια στον υπερθυροεϊδισμό, διπλάσια στον υπερπαραθυροεϊδισμό. Επίσης εμφανίζεται μία σαφής ελάττωση σε ποσοστό 60%, έξι μήνες μετά την θεραπεία HRT* και μία δοσοεξαρτώμενη ελάττωση μετά από ενδορινική χορήγηση καλσιτονίνης σολωμού.

* HRT: Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης

Ca ούρων: Το Ca ούρων είναι σημαντικό για την μελέτη της διακίνησης Ca στον οργανισμό.

Η πρόσληψη ασβεστίου με τις τροφές επηρεάζει σημαντικά το Ca ούρων.

Τα πρώινα ούρα νήστεως αντανακλούν καλύτερα τον οστικό μεταβολισμό και γι' αυτό ξεχωρίζουν μεταξύ φυσιολογικών προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Πρέπει να τονισθεί ότι το Ca ούρων νήστεως, δίνει διαφορετικές πληροφορίες από το Ca ούρων 24ώρου, το οποίο μας πληροφορεί κυρίως για την εντερική απορρόφηση του Ca. Γι' αυτόν το λόγο απαιτείται να γίνονται και οι δύο εξετάσεις, ειδικότερα εάν θέλουμε να προσδιορίσουμε το ισοζύγιο πρόσληψης - αποβολής Ca. Συγκεκριμένα ο τύπος Ca/Cr 24h - Ca/Cr2h αντιστοιχεί προς το απορροφούμενο από το έντερο Ca.

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

ΠΡΩΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ: Η πρόβλεψη του ρυθμού οστικής απώλειας.

Ο ρυθμός οστικής απώλειας μπορεί να υπολογιστεί με διαδοχικές μετρήσεις οστικής πυκνότητας. Η διαδικασία όμως αυτή απαιτεί επανειλημμένες μετρήσεις BMD σε μακρά χρονικά διαστήματα (1-3 ετών). Επειδή μετρήσεις BMD σε μικρότερα χρονικά διαστήματα βρίσκονται μέσα στο ποσοστό λάθους της μεθόδου 2-3%.

Ενώ με τους BOD μπορούμε να εκτιμήσουμε τον ρυθμό οστικής απώλειας ανά 2-3 μήνες με την προϋπόθεση ότι θα χρησιμοποιηθούν μέθοδοι ακριβείς, χωρίς διακυμάνσεις με καλό ποσοστό επαναληψιμότητας.

Ο Christiansen και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι αντί για μεμονωμένους δείκτες εάν χρησιμοποιηθεί ένας συνδυασμός διαόρων οστικών δεικτών, είναι δυνατή η πρόβλεψη της ετήσιας οστικής απώλειας με πιθανότητα 80% να είναι σωστή.

Με αυτόν λοιπόν τον τρόπο είναι δυνατόν να εντοπισθούν έγκαιρα με μία αρχική μέτρηση των δεικτών αυτών, τα άτομα με ταχεία οστική απώλεια (fast bone losers). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαίωσαν πρόσφατα ο κ. Αυρίτης και οι συνεργάτες του με το Osteotrend.

ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ: Πρόβλεψη/παρακολούθηση αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

Μετά τη εμμηνόπαυση, οι βιοχημικοί οστικοί δείκτες, βοηθούν στην διάκριση μεταξύ ταχείας και βραδείας οστικής απώλειας.

Είναι γνωστό ότι ασθενείς με υψηλό ρυθμό οστικής εναλλαγής, ανταποκρίνονται καλύτερα σε μία συνεχή αντιοστεοκλαστική αγωγή, από άτομα με χαμηλό ρυθμό

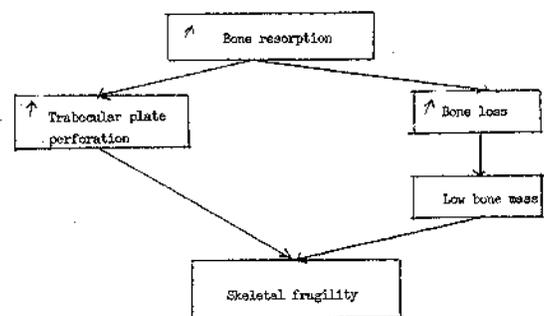
οστικής εναλλαγής όπου ανταποκρίνονται καλύτερα σε μία κυκλική αγωγή ή ένα οστεοπαραγωγικό φάρμακο.

Στην περίπτωση αγωγής με διφωσφονικά, HRT και Συμπλήρωμα Ca, παρατηρείται ανταπόκριση κυρίως των ΔΟΑ, που προσδιορίζουν πεπτιδικά συνδεδεμένα μόρια, NTX CTX, ενώ οι δείκτες που προσδιορίζουν ελεύθερα μόρια Pyr - DPyr έχουν ανταπόκριση αναλογικά σε περιπτώσεις HRT. Πιθανή εξήγηση είναι ότι σε ασθενείς με υψηλό ρυθμό οστικού μεταβολισμού, υπάρχει εντονότερη παρουσία πεπτιδικά συνδεδεμένων Crosslinks.

ΤΡΙΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ: Πρόβλεψη κινδύνου κατάγματος

Ο υψηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής δεν σχετίζεται μόνο με αυξημένη οστική απώλεια αλλά και με διακοπή της συνέχειας του δικτύου των οστεοδοκίδων. Αυτή η απώλεια της συνεκτικότητας των οστεοδοκίδων δεν συνοδεύεται κατ' ανάγκη με ελάττωση της BMD.

Σχήμα 2:



Έτσι οι βιοχημικοί οστικοί δείκτες μπορεί να αποτελέσουν ανεξάρτητους παράγοντες πρόβλεψης του κινδύνου κατάγματος.

Στην μακροχρόνια δωδεκάχρονη μελέτη των HAUSEN και συνεργατών του, τέσσερα περισσότερα σπονδυλικά κατάγματα συνέβησαν στις γυναίκες με ταχύ ρυθμό οστικής απώλειας, όπως αυτός προσδιορίστηκε αρχικά με ένα συνδυασμό οστικών δεικτών.

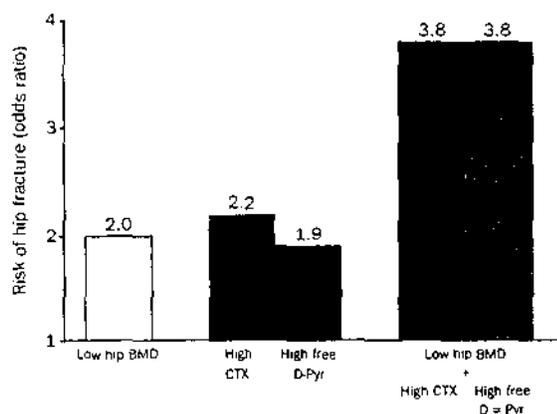
Σε μία μεγάλη προοπτική μελέτη σε ηλικιωμένες γυναίκες στη Γαλλία (EPIDOS) βρέθηκε ότι οι βασικές τιμές του CTX ή CrossLaps και της ελεύθερης ρίζας DPyr των ούρων ήταν σημαντικά υψηλότερες στις γυναίκες με κάταγμα ισχίου.

Τιμές του CTX ή DPyr υψηλότερες του άνω φυσιολογικού ορίου προεμμηνοπαυσιακών γυναικών, συσχετίζο-

νταν με αύξηση του κινδύνου κατάγματος (2,2 και 1,9 αντίστοιχα) σε αντίθεση με τους δείκτες οστικής παραγωγής. Η πρόβλεψη αυτή ήταν ανεξάρτητη από την οστική μάζα. Επίσης όταν συνδυάσθηκε η ελαττωμένη οστική πυκνότητα (T score \leq -2,5) με την αυξημένη τιμή CTX ή ολική DPyr, η πρόβλεψη έγινε πιο σημαντική (4,8 και 2,1 αντίστοιχα), ενώ με τον συνδυασμό και των τριών παραμέτρων έγινε 3,8.

Σχήμα 3:

92 OSTEOPOROSIS: DIAGNOSIS AND MANAGEMENT



ΠΕΡΙΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Ένας από τους σημαντικότερους περιορισμούς στη χρήση των δεικτών είναι η διακύμανσή τους (Βιολογική ή μεθοδολογική). Για να θεωρηθεί σημαντική μία μεταβολή των οστικών δεικτών θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από τη διακύμανσή τους.

Σε μία πρόσφατη μελέτη η ομάδα του Delmas και συνεργατών του, αναφέρει ότι η μακρόχρονη επαναληψιμότητα των Βιοχημικών οστικών δεικτών, είναι σχετικά μικρή με ένα μέσο όρο CV της τάξης του 12-15% για τους ΔΟΠ στο αίμα και 25-30% για τους ΔΟΑ στα ούρα.

Με την ανάπτυξη και διάθεση στην αγορά μιάς μεθό-

δου για τη μέτρηση του CTX ή CrossLaps στον ορό του αίματος όπου δεν υπάρχει ανάγκη διόρθωσης των αποτελεσμάτων με την κρεατινίνη των ούρων. **Οι διακυμάνσεις τιμών είναι σημαντικά χαμηλότερες** και έτσι επιτυγχάνεται ευκολότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων σε ατομική βάση ασθενών.

Η συνεχιζόμενη βελτίωση της μεθοδολογίας προσδιορισμού και η ανακάλυψη νέων ΒΟΔ, μεγαλύτερης εξειδίκευσης, μικρότερης διακύμανσης και καλύτερης επαναληψιμότητας, θα δημιουργήσει στο άμεσο μέλλον καλύτερες προοπτικές στην μελέτη και αντιμετώπιση των μεταβολικών νοσημάτων των οστών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Hassager C, Colwell A, Assiri AMA, Eastell R, Russell RGG, Christiansen C. Effect of menopause and hormone replacement therapy of the urinary excretion of pyridinium cross-links: a longitudinal and cross-sectional study. Clin. Endocrinol 1992; 37: 45-50.
- 2) Camero P, Delmas PD. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoreometric assay in patients with metabolic bone disease. J Clin Endocrinol Metab 1993; 1046-53.
- 3) Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy M-C, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. J Bone Miner Res 1996; 11: 337-49.
- 4) Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. J Bone Miner Res 1996; 11: 1531-8.
- 5) Seyedin SM, Kung VT, Daniloff TN, et al. Immunoassay for urinary pyridinoline: the new marker of bone resorption. J Bone Miner Res 1993; 8 635-42.
- 6) Christiansen C, Riis BJ, Rodbro P. Screening procedure for women at risk of developing postmenopausal osteoporosis. Osteoporosis Int. 1990; 1: 35-40.
- 7) Deale PLA van et al. Case-control analysis of bone resorption markers, disability and hip fracture risk: The Rotterdam Study, Brit. Med. J., 1996; 482-483.

