

**Metabolická kostní onemocnění**  
**Osteoporóza**

Klinická biochemie

Biochemický ústav 2008 (J.S.)

# Kostní tkáň

Kostní tkáň je tkání metabolicky velmi aktivní, i když se to při povrchním pohledu nezdá.

Po ukončení růstu kostí pokračuje **nepřetržitá remodelace kostí**, osteoresorpce i novotvorba. Objem a pevnost kosti závisí na rovnováze resorpce a novotvorby kosti.

Remodelaci zajišťují **kostní buňky**:

**osteoklasty** (modifikované makrofágy, resorpce kosti ),

**osteoblasty** (typ fibrocytů, novotvorba kostní tkáně) a

**osteocyty** (přeměněné starší osteoblasty), které

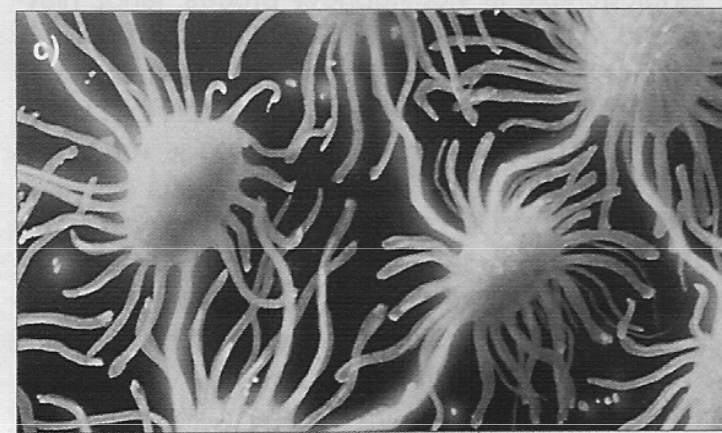
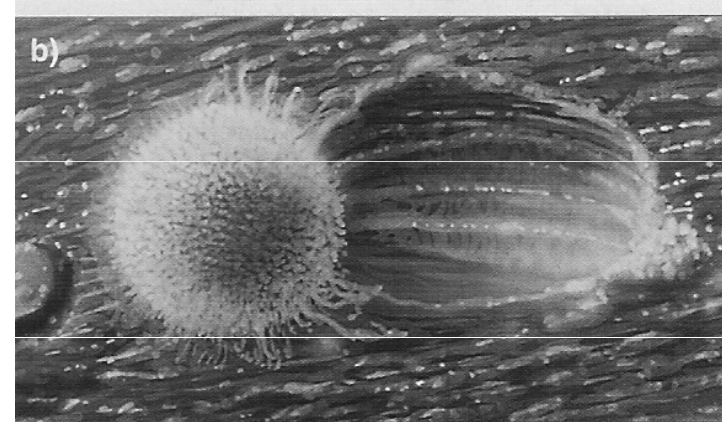
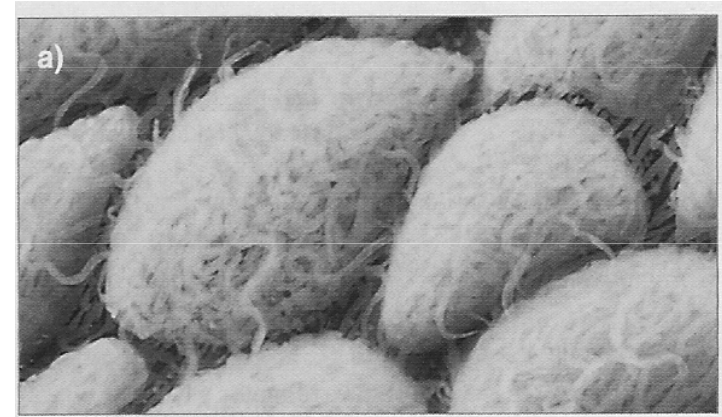
**parakrinní sekrecí** ovlivňují aktivitu obou předcházejících typů buněk. Vylučují interleukiny, TNF, osteoprotegerin, prostaglandiny a četné další růstové faktory.

## Kostní buňky

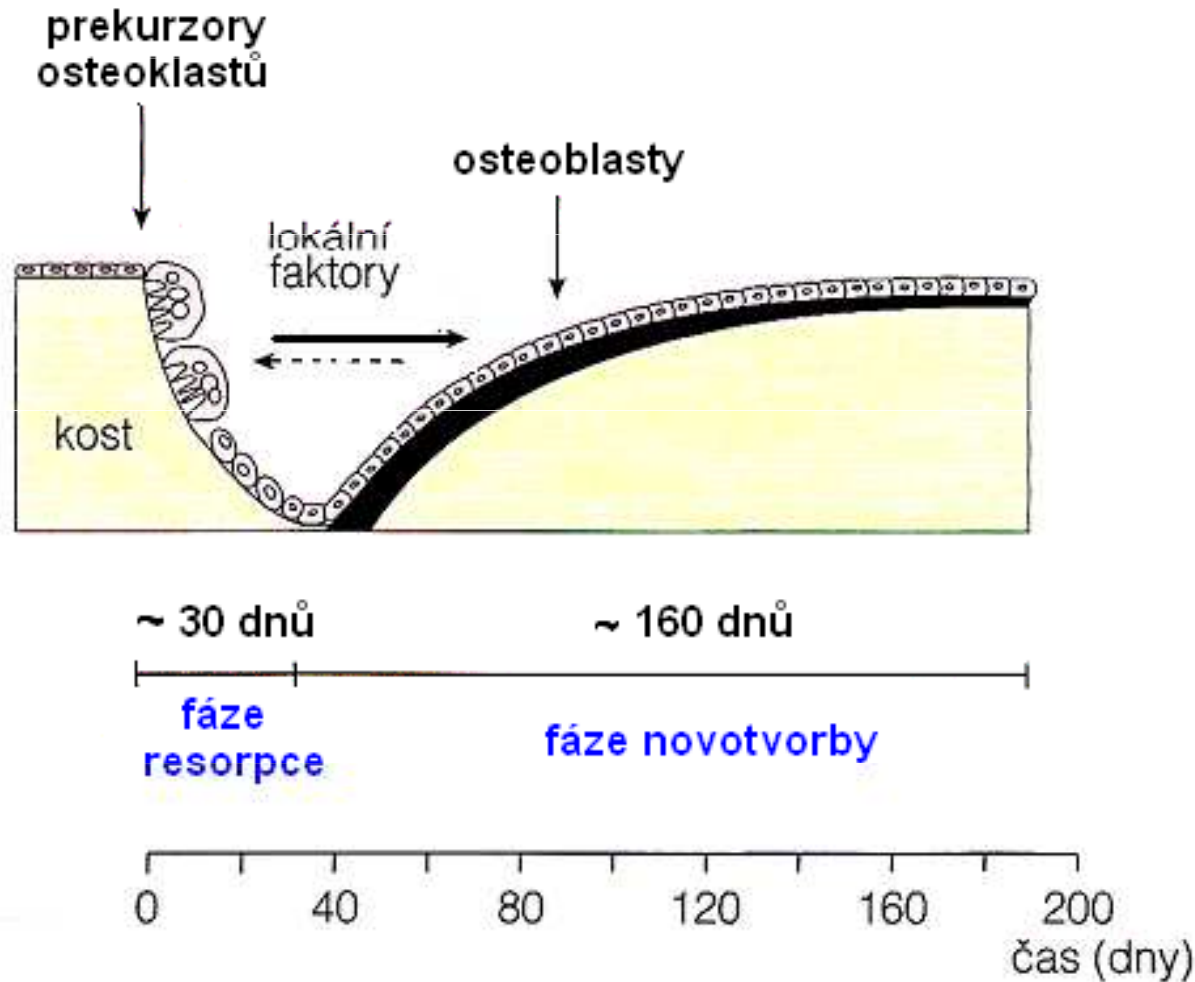
**Osteoblasty** jsou na povrchu dorůstající nebo remodelující se kosti, méně i uvnitř relativně pasivní dospělé kosti. Syntetizují a ukládají kostní matrix, mineralizují ji, postupně se v ní usídlují a mění na osteocyty. Povrch váže alkalickou fosfatázu, uplatňující se v mineralizaci matrix.

**Osteoklasty** jsou v místech aktivní eroze na povrchu kosti v resorpčních jamkách. Obsahují mnoho lyzozomů s vysokou aktivitou kyselé fosfatázy. Osteoklasty fagocytují a likvidují fragmenty kolagenu a jiné organické složky matrix.

**Osteocyty** tvoří hlavní složku dospělé kosti, v níž jsou rozptýleny v lakunách, propojením výběžků vytvářejí složitou celulární síť. Průměrná délka jejich života se odhaduje na 25 let, odumírání iniciuje resorpci.



# Regulace remodelace kosti



Aktivační frekvence - častost aktivace kostních remodelačních jednotek 3 - 4 / rok

## Resorpce

**stimulace** parathyrin

kalcitriol

**inhibice** kalcitonin

estrogeny

## Novotvorba kosti

**stimulace** (parathyrin)

kalcitriol

**inhibice** androgeny

glukokortikoidy

## Remodelace kosti

Probíhá **výhradně na povrchu kosti**, koordinovaně v malých oblastech. Buňky, které se v dané oblasti na remodelaci podílejí, tvoří základní mnohobuněčné jednotky – tzv. **kostní metabolické jednotky**.

V typickém remodelačním cyklu připadá na resorpci nejméně 7-10 dnů, na novotvorbu 2-3 měsíce. Z celého skeletu se ročně remodeluje kolem 10 % kostní hmoty.

I když se spongiózní kost podílí na celkové hmotnosti skeletu jen 20 %, představuje přibližně 80 % celkového kostního povrchu, na kterém remodelace probíhá. Spongióza je tedy metabolicky aktivnější, remodeluje se rychleji (přibližně 25 % za rok) než kompaktní kost (přibližně 3 % za rok).

## Celkové složení kostí

**Voda** 25 % v kompaktě (12 % zubní cement, 10 % dentin, 1 % zubní sklovina)

**Organické součásti** 30 %

**Minerální složky** 40 % kostní hmoty.

V sušině organické součásti 40 – 45 %  
minerální součásti 60 – 55 %

### Extracelulární hmota:

**organické součásti - kolagen typu I** více než 90 %

**osteokalcin**

sialoprotein, proteoglykany, citrát

**minerální součásti** - z nich hydroxylapatit  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$

spolu s oktakalciumfosfátem  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_8 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

a amorfním kalciumfosfátem  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  celkem Ca-fosfáty 85 %

$\text{CaCO}_3$  10 %

$\text{CaF}_2$  0,3 %

$\text{CaCl}_2$  0,2 %

$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$  1 %

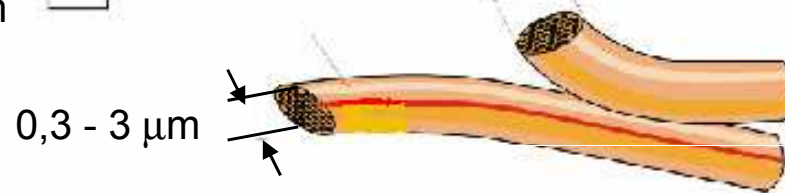
alkalické soli 2 %

# Struktura kolagenových mikrofibril



elektronoptický obraz  
řidkého pojiva

1 μm



**mikrofibrila** - plst'ovitá  
splet' protofibril

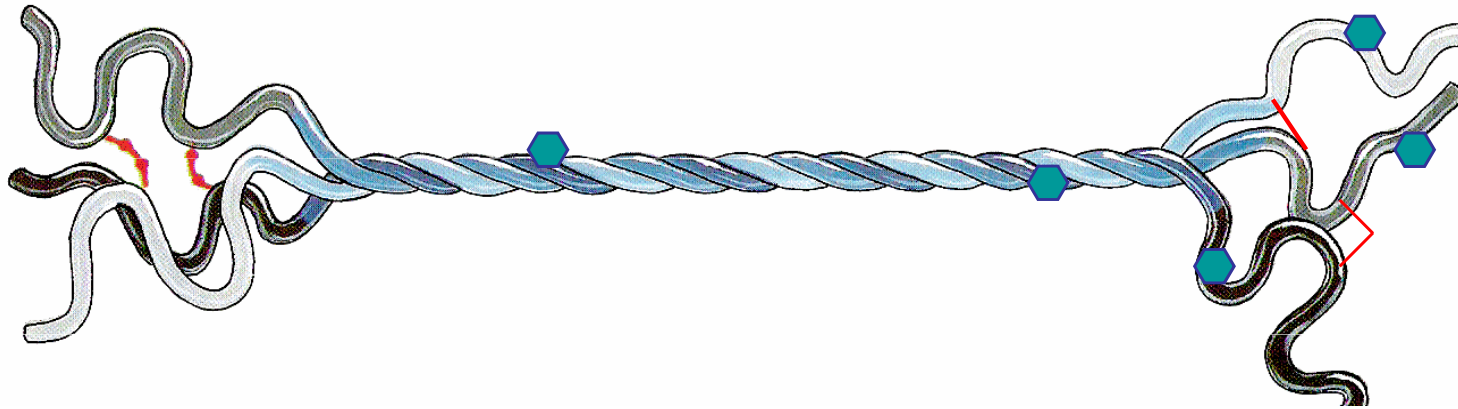
**protofibrila** - vzniká agregací  
tropokolagenových jednotek



**tropokolagenová jednotka** 300 x 1,5 nm  
(trojšroubovice - u kolagenu I 2 řetězce  
 $\alpha_1$ I a 1 řetězec  $\alpha_2$ I)

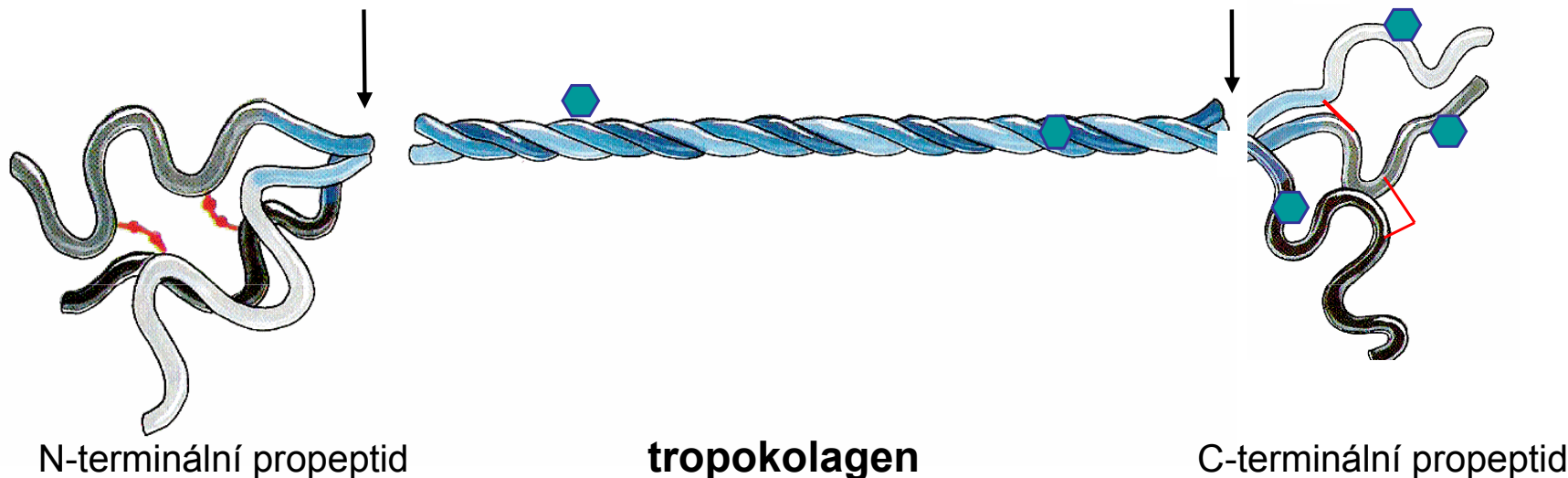


## Vznik trojšroubovice ze středních částí řetězců prokolagenu



## Přeměna prokolagenu na tropokolagen

Specifické proteinázy odštěpují v místech nehelikálních úseků globulárně uspořádané (a disulfidovými můstky stabilizované) N-terminální a C-terminální propeptidy (v klinické biochemii zkratky PICP a PINP).



N-terminální propeptid

tropokolagen

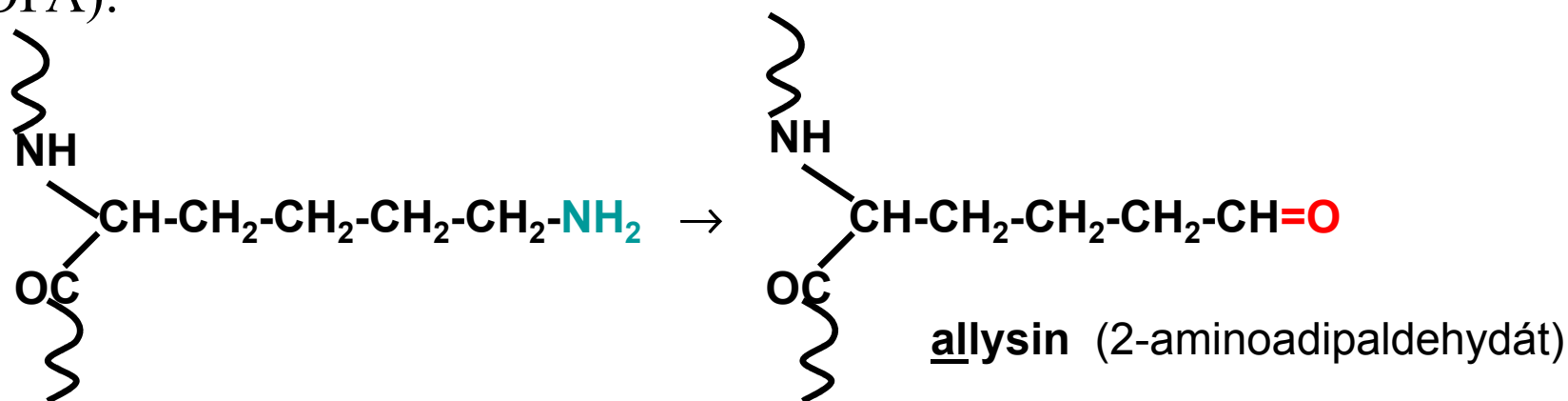
C-terminální propeptid



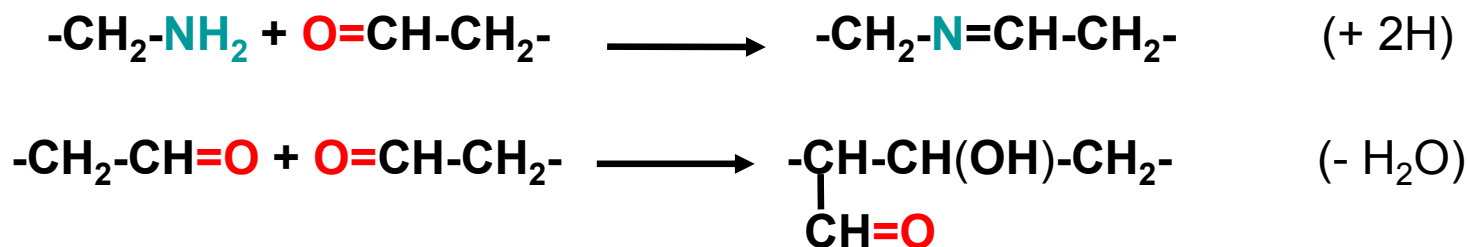
# Vznik kovalentních příčných vazeb - zrání kolagenu

Výchozí reakcí je oxidační deaminace  $\epsilon$ -aminoskupiny postranních řetězců lysinových nebo neglykosylovaných hydroxylysinových zbytků.

**Lysyloxidáza** je extracelulární kuproprotein s chinonovým koenzymem (TOPA):

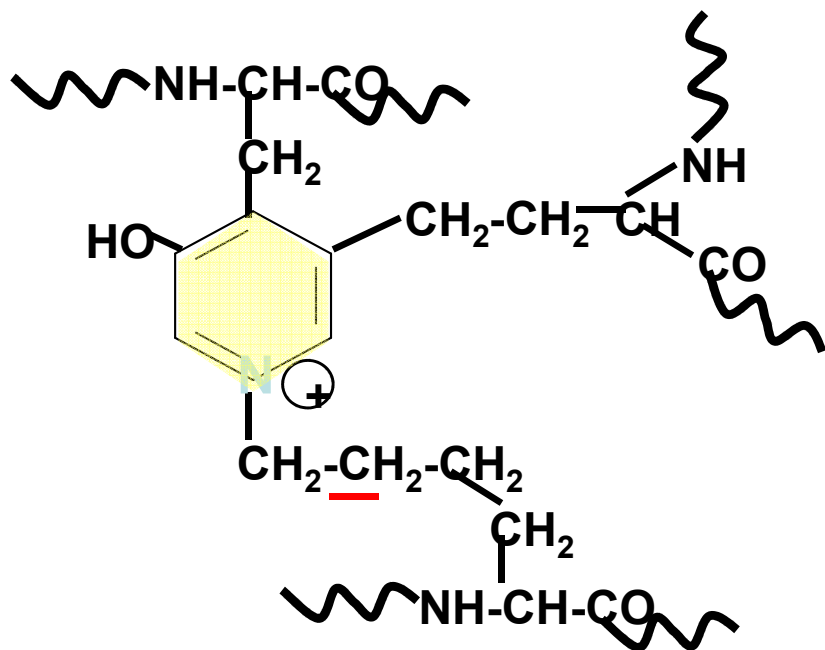


V enzymově nekatalyzovaných reakcích vznikají **meziřetězcové** můstky buď typu **aldiminu** (Schiffovy báze), které se stabilizují redukcí na tzv. lysinonorleucinový můstek, nebo typu **aldolu** s **volnou aldehydovou skupinou**, které se stabilizují eliminací vody:



Aldiminové můstky mohou reagovat s aldehydovou skupinou jiného postranního řetězce allysinu. Uzavře se tím heterocyklický pyridinový kruh, svazující kovalentně tři různé řetězce protofibrily kolagenu - vzniká intermolekulární příčný **můstek hydroxypyridinového typu**.

Na těchto můstcích mohou v každé tropokolagenové podjednotce participovat pouze čtyři lysinové zbytky, dva poblíž N-konce řetězců a dva poblíž C-konce. Hydroxypyridinové můstky proto poutají v mikrofibrilách N-konce s C-konci různých, sousedících tropokolagenových jednotek.



Struktura hydroxypyridinu je velmi stabilní. I po hydrolýze peptidových vazeb ve fragmentech kolagenu (např. vyloučených do moče) ji lze stanovovat jako tzv. **deoxypyridinolin** nebo **pyridinolin**; liší se vzájemně jen přítomností alkoholické skupiny, podílel-li se na vzniku hydroxylysin (hydroxylová skupina navázána na uhlíku ve vzorci zvýrazněném).

# METABOLICKÉ OSTEOPATIE

Rozumí se jimi generalizované poruchy remodelace kosti, pravidelně spojené s poruchou mineralizace osteoidu a tedy poruchou metabolismu Ca a fosfátů.

Základními typy jsou

- **osteoporóza** - podle klasických kritérií je charakterizovaná celkovým úbytkem kostní hmoty při zachování normálního poměru mezi minerální a organickou složkou kosti.

Histologicky – zeslabení kortikální kosti, ve spongióze redukce počtu a průřezu kostních trámců.

- **osteomalacie** (a **křivice**) – nedostatečná mineralizace organické matrix, obvykle z nedostatku kalcitriolu. Celkový objem kostní hmoty může být normální, snížený i zvýšený.
- **osteodystrofie** - je charakterizovaná vystupňovanou osteoresorpcí, která je částečně kompenzována patologicky změněnou strukturou kostních jednotek. Nejčastější je renální osteodystrofie u renálních insuficiencí (zejm. pro sekund. hyperparatyroidismus, který může vyústit až v osteitis fibrosa) nebo Pagetova choroba (může mít formu osteosklerotickou nebo osteolytickou).

# OSTEOPORÓZA

je nejběžnějším typem osteopatie. Její rozšíření je považováno za globální zdravotní a sociální problém. Důsledkem redukce kostní tkáně je vysoké riziko fraktur.

Nejčastější **osteoporotické fraktury** jsou fraktury kyčle, zápěstí a obratlů, ve vysokém věku často i fraktury jiné.

Fraktury obratlů bývají rozpoznávány méně snadno, úvodním příznakem může být jen neurčitá bolest v zádech nebo zmenšení tělesné výšky pro kompresivní frakturu.

Samotná osteoporóza je asymptomatická, dokud nevznikne fraktura, klinické projevy úbytku kostní hmoty mohou zcela chybět.

Úbytek kostní hmoty je pomalý, může probíhat i několik let než je diagnostikován. Důležité je zavčas osteoporózu **rozpoznat**.

Základem pro diagnózu je **měření denzity kostního minerálu (BMD)**.  
Může vyjadřovat i riziko fraktur.

# Osteoporóza

je syndrom, který bývá klasifikován mnoha různými způsoby. Např.

- **primární osteoporóza** – příčina není známá:

**juvenilní** (prepubertální), tzv. **idiopatická** u mužů středního věku a u žen před menopauzou a osteoporóza **senilní**;

- **sekundární** – se známými příčinami, včetně **postmenopauzální** z deficitu estrogenů.

Běžné je rozlišování **tří nejčastějších typů** osteoporotického syndromu:

**I – postmenopauzální osteoporóza** postihující ženy v prvních 5-15 letech deficitu estrogenů. Typická je rychlý úbytek zejména spongiózy, nejčastější jsou fraktury obratlů a zápěstí.

**II – senilní** u osob starších 75 let, u žen dvakrát častěji. Zřetelný je úbytek jak spongiózy tak kortikální kosti. K frakturám dochází kdekoli, v kyčli však u tohoto typu osteoporózy nejčastěji.

**III – sekundární osteoporóza z jiných příčin**, mj. indukovaná glukokortikoidy u Cushingova syndromu, u hyperparatyreózy, renálních osteopatií, malabsorpcí, chronických hepatopatií, reumatoidní artritidy, z inaktivity či imobilizace, navozené medikamentózně (např. glukokortikoidy, aktikonvulsivy, heparinem, cytostatiky).

Usuzuje se, že maximum hmotnosti kostní tkáně, které může být během života jednotlivce dosaženo, je přibližně z 80 % určeno geneticky, ze zbývajících 20 % závisí na faktorech životního prostředí či životního stylu.

**Pozitivně působící faktory** životního stylu (a minimalizace negativních) zvyšuje pravděpodobnost dosažení vyšší hmotnosti skeletu a menšího úbytku v pozdních fázích života:

V dětství je velmi důležitý přiměřený příjem kalcia a pravidelná fyzická aktivita.

V dospělosti vyvážená strava s dostatkem kalcia a vitamínu D spolu s pravidelnou a přiměřenou tělesnou zátěží.

**Negativní faktory** – kromě přirozených důsledků stárnutí lze uvést např. dlouhodobý nedostatek proteinů, kalcia, vit. D, nedostatečnou tělesnou aktivitu, kouření, alkoholismus, patologické faktory uvedené dříve, u žen nízkou estrogenní aktivitu (amenorea, předčasná menopauza, ženy které nerodily), atd.

## **Běžné biochemické vyšetřovací metody** (Ca<sup>2+</sup>, fosfáty, ALP)

jsou u osteoporózy zpravidla **bez výrazných změn**.

Rychlosti inkorporace kalcia do kostní tkáně a jeho resorpce je sice možné stanovit, metody však používají izotopy kalcia (obvykle radioaktivní) a vyžadují delší pobyt na lůžkových odděleních.

Stav mineralizace kostní tkáně může být zhodnocen různými metodami, mj. **histomorfometrií** a **denzitometrií**.

Histomorfometrie (kostní biopsie) je invazivní, nákladná a omezena na jediné místo skeletu – crista iliaca.

**Denzitometrie** je sice neinvazivní a přesná co do stanovení úrovně mineralizace, nedokáže vyjádřit aktuální kostní obrat – poměr resorpce a novotvorby.

K získání představy o úrovni resorpce a novotvorby kosti se používají ukazatele obratu organické matrix.

**Biochemické ukazatele remodelace kosti** – tato neinvazivní vyšetření reagují na změny v resorpci a novotvorbě pohotověji než denzitometrie, zejména markery resorpce (resorpční fáze je kratší než novotvorba)..

**Denzita kostního minerálu (BMD)** se obvykle měří pomocí absorpce rtg záření o dvou energetických hladinách (DEXA, dual-energy X-ray absorptiometry).

Za normální BMD se považuje denzita kostního minerálu do 1 směrodatné odchyly pod průměrnou hodnotu zjišťovanou u 35 % zdravých mladých dospělých žen (označovanou jako **< 1 T-skóre**).

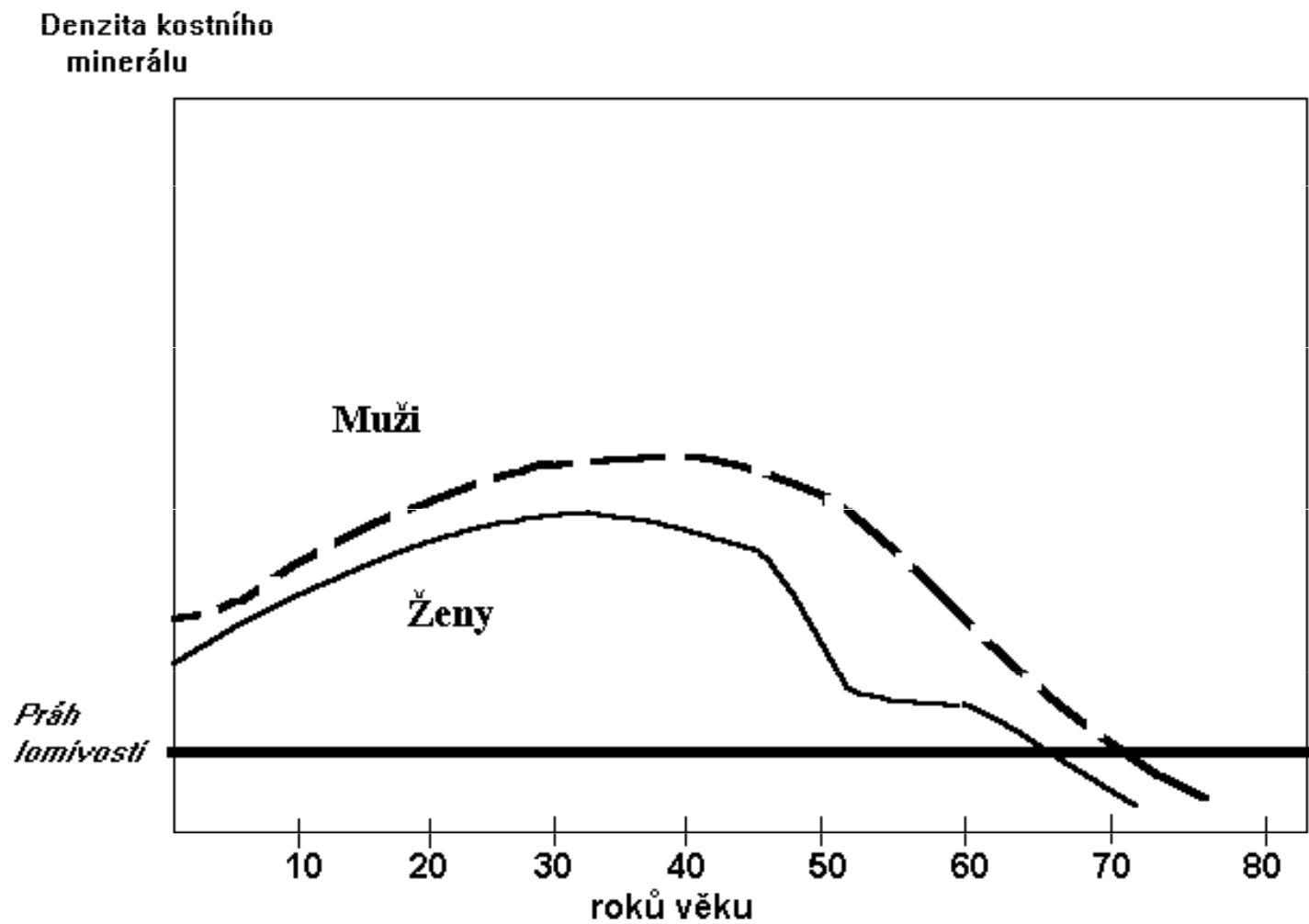
BMD v rozpětí **1 - 1,5 T-skóre** se označuje jako osteopenie.

Podle kritérií SZO teprve **snížení BMD větší než 2,5 T-skóre** (denzita kostního minerálu je pod 2,5násobkem směrodatné odchyly od průměrné denzity zdravé mladé ženy) je považován za patologickou osteoporózu s vysokým rizikem fraktur, u které má být zahájena terapie omezující progresi kostní resorpce.

U nemocných nad 75 roků se BMD vztahuje k **Z-skóre** (vyjadřuje se odchylyka vzhledem ke věku vyšetřované osoby).



## Závislost denzity kostního minerálu na věku

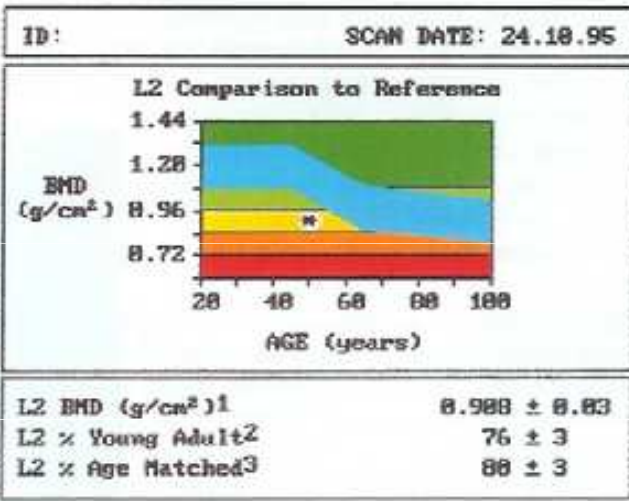
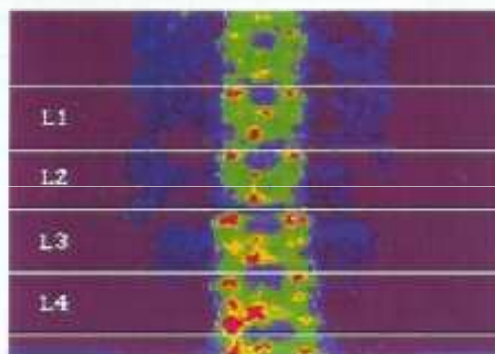


**I. Ortopedická klinika  
Bratislava, Hlboká 7**

pred.Prof.MUDr.Makai F. DrSc.denzito.Doc.MUDr.Vojtassak J, CSs

PATIENT ID:  
NAME:

SCAN: 1.3z 24.10.95  
ANALYSIS: 1.3z 24.10.95



Age (years).....	50	Large Standard.....	271.79	Scan Mode.....	Fast
Sex.....	Female	Medium Standard.....	202.20	Scan Type.....	DPX-L
Weight (kg).....	62.0	Small Standard.....	143.32	Collimation (mm).....	1.50
Height (cm).....	163	Low keV Air (cps)....	710947	Sample Size (mm).....	1.2x 1.2
Ethnic.....	White	High keV Air (cps)...	446921	Current (uA).....	3000
System.....	7071	Rvalue (Nfat).....	1.349(21.3)		

REGION	BMD <sup>1</sup> g/cm <sup>2</sup>	Young Adult <sup>2</sup>		Age Matched <sup>3</sup>	
		%	Z	%	Z
L1	0.874	77	-2.14	82	-1.58
L2	0.908	76	-2.43	80	-1.87
L3	0.968	81	-1.93	85	-1.37
L4	1.063	89	-1.14	94	-0.58
L1-L2	0.890	77	-2.16	82	-1.60
L1-L3	0.921	79	-2.08	83	-1.52
L1-L4	0.961	81	-1.82	86	-1.26
L2-L3	0.942	79	-2.15	83	-1.59
L2-L4	0.987	82	-1.78	87	-1.22
L3-L4	1.016	85	-1.53	90	-0.97

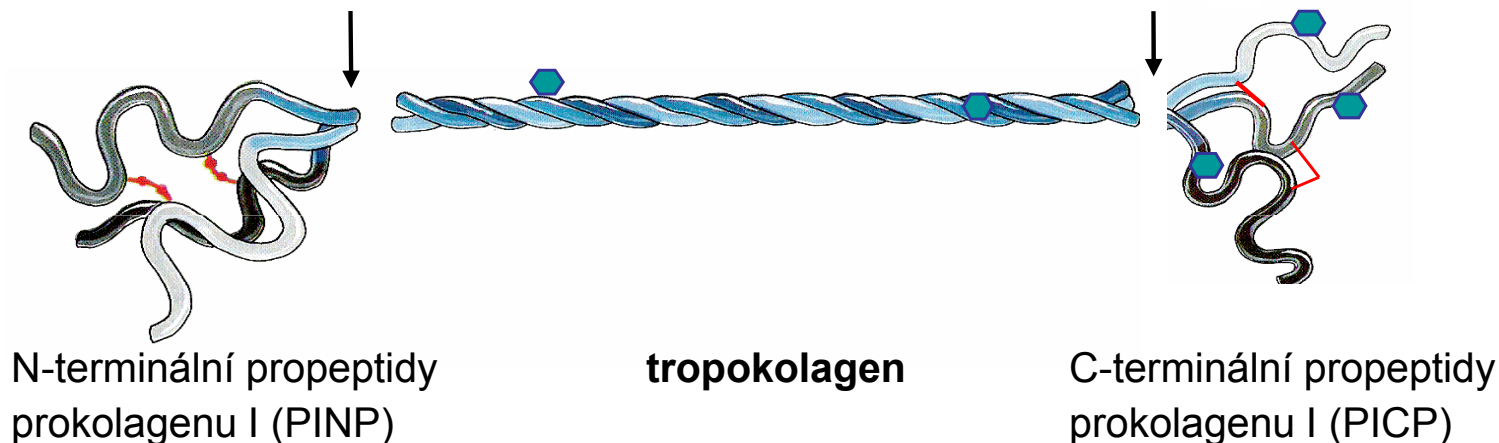
1 - See appendix E on precision and accuracy. Statistically 68% of repeat scans will fall within 1 SD.  
 2 - Germany AP Spine Reference Population, Ages 20-45. See Appendices.  
 3 - Matched for Age, Weight(males 50-100kg; females 35-80kg), Ethnic.

# Biochemické markery novotvorby kostí

Katalytická koncentrace **kostního izoenzymu alkalické fosfatázy (ALP)** v séru – izoenzym je markerem aktivity osteoblastů, je jejich ektoenzymem. (Stanovení celkové ALP může poskytnout jen hrubou orientaci vzhledem k aktivitě ostatních izoenzymů ALP.)

Koncentrace **osteokalcinu (OC, kostního Gla-proteinu, BGlaP)** v séru. Osteokalcin je secernován osteoblasty, moduluje remodelaci kosti, jeho produkce je indukována kalcitriolem. Osteokalcin je hlavní nekolagenový protein kostního osteoidu.

Koncentrace **N- nebo C-terminálních propeptidů prokolagenu I** v séru (PINP a PICP, extenzní peptidy prokolagenu).

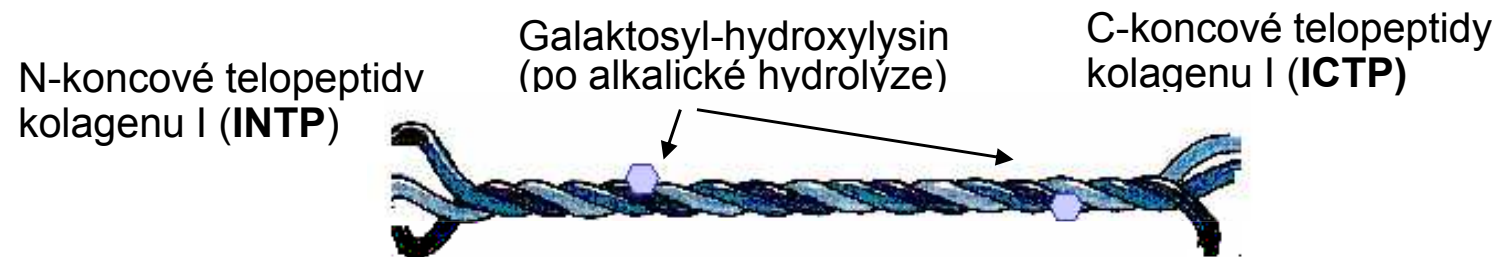


# Biomarkery kostní resorpce

Koncentrace **C-terminálních telopeptidů kolagenu I (ICTP)** v séru nebo močová exkrece **C-terminálního oktapeptidu (CTx)** z C-terminálních nehelikálních sekvencí tropokolagenu I a močová exkrece **N-terminálních telopeptidů kolagenu I (INTP, NTx)** – N-terminálních nehelikálních sekvencí tropokolagenu I, které vážou Dpd příčnými můstky helikální úseky jiných tropokolagenových molekul.

Močová exkrece **deoxypyridinolinu (Dpd)** a **pyridinolinu (Pyd)**.

Močová exkrece **galaktosylhydroxylysinu močí (GH, Hyl glykosidy)**.



V současnosti již nepoužívané markery resorpce při diagnostice osteoporózy:

Stanovení exkrece **hydroxyprolinu** (vázaného nebo i volného) močí

Katalytická koncentrace **kostního izoenzymu kyselý fosfatázy** (zvaného též tartarátrezistentní, TRAcP) v séru - jednoho ze šesti izoenzymů AcP, vylučovaného osteoklasty během aktivní kostní resorpce.

**V ČR zatím nejsou k dispozici jednotné standardy** týkající se vyšetřovacích postupů u osteoporózy.

Racionální je dodržovat vyšetření vždy jen jednoho markeru resorpce a jednoho markeru formace a dodržovat vyšetření pacienta v jedné laboratoři, výsledky (jednotky a referenční rozmezí jednotlivých laboratorních metod) nejsou zatím mezi laboratořemi v ČR srovnatelné.

**Doporučení International Osteoporosis Foundation (IOF)** pro užití kostních markerů u postmenopauzální osteoporózy při sledování účinnosti antiresorpční léčby:

- Použít **jeden marker resorpce a jeden marker novotvorby**.
- Markery **resorpce** u terapie bisfosfonáty U-NTx nebo U-CTx nebo S-CTx. u HRT (hormone replacement therapy) tytéž nebo U-DPD. Interval – před zahájením léčby a 3 a/nebo 6 měs. po začátku.
- Markery **novotvorby** – S-kostní ALP nebo S-osteokalcin nebo S-PINP před zahájením léčby a 6 měs. po jejím začátku.

Odběry - sérum ráno po celonočním lačnění,  
moč první nebo druhá ranní po nočním lačnění, vztáhnout na vyloučený kreatinin.