

Добавляет  
 ценность диагнозу

 ЭКСПЕРТ В ЛАБОРАТОРНОЙ  
 ДИАГНОСТИКЕ

УДК 616.71-007.234-07

 КЛИМОВА Ж.А.<sup>1</sup>, ЗАФТ А.А.<sup>1</sup>, ЗАФТ В.Б.<sup>2</sup>
<sup>1</sup> ООО «Синэво Украина»

<sup>2</sup> ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» Государственного управления делами, г. Киев

## СОВРЕМЕННАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТЕОПОРОЗА

**Резюме.** В статье представлены некоторые аспекты проблемы остеопороза, а также современные методы лабораторной диагностики остеопороза, которые применяются в лаборатории ООО «Синэво Украина».

**Ключевые слова:** остеопороз, лабораторная диагностика.

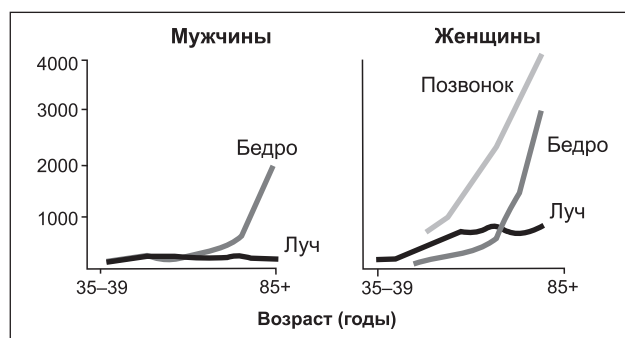
Остеопороз (ОП) — это метаболическое заболевание костей, которое характеризуется снижением костной массы и микроструктурной перестройкой костной ткани, в связи с чем снижается прочность кости и повышается риск переломов [1].

По мнению экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), остеопороз сегодня — одно из наиболее распространенных заболеваний, которое наряду с инфарктом миокарда, инсультом, раком и внезапной смертью занимает ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения.

По данным ВОЗ, остеопороз является второй по значимости после сердечно-сосудистых заболеваний проблемой здравоохранения. Во всем мире примерно каждая третья женщина и каждый восьмой мужчина старше 50 лет когда-либо в течение своей жизни имели переломы костей, связанные с остеопорозом (рис. 1). Из-за постоянного старения населения Земли ожидается, что количество случаев переломов шейки бедра увеличится с 1,7 миллиона в 1990 году до 6,3 миллиона в 2050 году.

Потеря массы костной ткани происходит исподволь и часто диагностируется только после переломов. По мере увеличения продолжительности жизни женщин риск развития остеопороза и переломов возрастает.

У каждой второй женщины и каждого восьмого мужчины старше 50 лет возникнет такой перелом.



**Рисунок 1.** Частота переломов на 100 тыс. населения в год (адаптировано из Riggs B.L., Melton L.J. // N. Engl. J. Med. 1986; 314: 1676-1686)

Ежегодно у 80 тыс. мужчин происходит перелом шейки бедра, и каждый третий из них умирает в течение года. Расходы на лечение остеопороза и обусловленные им переломы составляют в США 14 млрд долларов в год (стационарное лечение и сестринский уход на дому).

После наступления менопаузы у женщин отмечается максимальная скорость потери костной массы, которая достигает 2–5 % в год. В итоге женщина к 70 годам теряет от 30 до 50 % массы

© Климова Ж.А., Зафт А.А., Зафт В.Б., 2014

© «Международный эндокринологический журнал», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

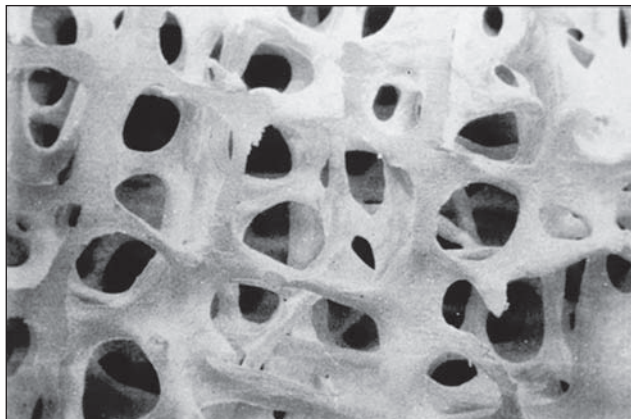


Рисунок 2. Структура нормальной кости

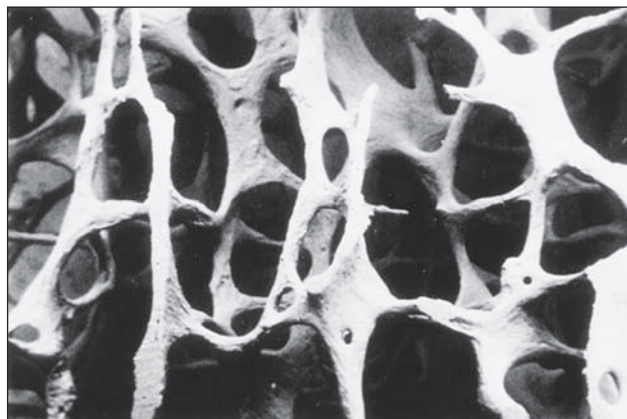


Рисунок 3. Остеопороз

костной ткани. У мужчин эти потери составляют от 15 до 30 %. Смертность в результате осложнений после перелома шейки бедра в популяции белых женщин старше 50 лет составляет 2,8 %. Такой же процент смертности среди женщин с раком молочной железы.

## Классификация остеопороза

### А. Первичный остеопороз:

1. Постменопаузальный остеопороз (1-го типа).
2. Сенильный остеопороз (2-го типа).
3. Ювенильный остеопороз.
4. Идиопатический остеопороз.

### Б. Вторичный остеопороз:

1. Заболевания эндокринной системы.
2. Ревматические заболевания.
3. Заболевания органов пищеварения.
4. Заболевания почек.
5. Заболевания крови.
6. Другие заболевания и состояния.
7. Генетические нарушения.
8. Медикаменты.

В Международной классификации болезней X пересмотра различают остеопороз с патологическими переломами костей и остеопороз без патологических переломов.

### По морфологическим критериям выделяют:

1. Трабекулярный остеопороз.
2. Кортикальный остеопороз.
3. Смешанный остеопороз.

### По метаболической активности:

1. Остеопороз с высоким костным обменом.
2. Остеопороз с низким уровнем метаболизма костной ткани.
3. Остеопороз с нормальными показателями костного метаболизма.

Среди всех форм остеопороза преобладающей является первичный остеопороз (постменопаузальный и сенильный), составляющий 85 % всех случаев. Среди вторичного остеопороза наиболее распространены стероидный остеопороз, остеопороз при эндокринных и ревматологических заболеваниях.

## Этиология

### Факторы риска остеопороза:

#### 1. Немодифицируемые:

- низкая минеральная плотность кости;
- женский пол;
- возраст старше 65 лет;
- европеоидная раса;
- семейный анамнез остеопороза и переломы при минимальной травме у родственников (мать, отец, сестры) в возрасте старше 50 лет;
- гипогонадизм;
- системный прием глюкокортикоидов более трех месяцев;

- предшествующие переломы;
- иммобилизация.

#### 2. Модифицируемые:

- индекс массы тела < 20 кг/м<sup>2</sup> или масса тела < 57 кг;
- курение;
- низкая физическая активность;
- склонность к падениям;
- недостаточное потребление кальция;
- дефицит витамина D;
- злоупотребление алкоголем.

## Патогенез

Остеопороз сегодня широко используется как модель фундаментальных исследований в изучении молекулярных механизмов межклеточного взаимодействия. Остеопороз — многофакторное заболевание, в основе которого лежат процессы нарушения костного ремоделирования с повышением резорбции костной ткани и снижением костеобразования (рис. 2, 3). Ремоделирование костной ткани начинается с резорбции, осуществляемой в процессе остеокластогенеза с образованием полости резорбции. **Остеобласты** (ОБ) «атакуют» полость резорбции, где строят новый костный матрикс для последующей минерализации. Оба процесса костеобразования тесно связаны. Образование кости превышает резорбцию в течение роста скелета, и наоборот, резорбция превалирует в течение последующего периода жизни человека. Оба процесса костеобразования являются результатом тесного клеточного

взаимодействия ОБ и **остеокластов (ОК)**, которые берут начало от предшественников различных клеточных линий, а именно: ОБ — из мезенхимальных стволовых клеток, ОК — из макрофагально-моноцитарных клеток крови.

Кость формируется остеобластами. Основная их функция — синтез остеоида (протеинового матрикса), который на 90–95 % состоит из коллагена 1-го типа, на 5 % — из белка остеокальцина и впоследствии минерализуется кальцием и фосфатом из внеклеточной жидкости. ОБ содержат фермент щелочную фосфатазу, несут рецепторы к паратиреоидному гормону (ПТГ) и кальцитриолу и способны к пролиферации. Минеральная часть кости состоит из гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция, которые нековалентно связаны с белками органического матрикса.

Резорбция кости осуществляется остеокластами. Это подвижные клетки. Выделяя протеолитические ферменты и кислую фосфатазу, они вызывают деградацию коллагена, разрушение гидроксиапатита и выведение минералов из матрикса. Имеется корреляция между активностью тартратрезистентной кислотой фосфатазы в сыворотке крови и выраженностью резорбтивных процессов в кости.

В норме оба процесса — образование и разрушение — уравновешены (рис. 4).

### Клиническая картина

Наиболее постоянный симптом — боли в поясничном и крестцовом отделах позвоночника, в области тазобедренных суставов; возможны боли в области голеностопных суставов, в ребрах, костях таза. Боли усиливаются при физической нагрузке, перемене атмосферного давления и погоды.

Боли в спине усиливаются по мере усугубления остеопороза позвоночника и при прогрессировании кифоза, в дальнейшем боли становятся постоянными в связи с перенапряжением мышц спины и связок позвоночника. В период возникновения перелома позвонков или ребер появляется острая боль соответственно локализации перелома.

Особенности клинической картины:

1. Чувство тяжести в межлопаточной области, общая мышечная слабость.

2. Снижение роста; при этом размах рук более чем на 3 см превышает длину тела.

3. Болезненность при пальпации и поколачивании позвоночника, напряжение длинных мышц спины.

4. Изменение осанки больного (появление сутулости, «позы просителя»; при наличии деформированных позвонков усиливается кифоз грудного отдела позвоночника, развивается «вдовий горб» или «горб престарелых дам»; возможно усиление поясничного лордоза).

5. Уменьшение расстояния между нижними ребрами и гребнем подвздошной кости (за счет уменьшения длины позвоночника) и появление мелких кожных складок по бокам живота.

6. Переломы костей — наиболее демонстративный симптом остеопороза. При постменопаузальном остеопорозе наблюдается преимущественно потеря трабекулярной (губчатой) костной массы. Чрезвычайно характерны переломы тел позвонков. При I типе системного остеопороза (постменопаузальном) компрессионные переломы тел позвонков возникают в течение 10 лет после менопаузы и их частота достигает максимума к 60–65 годам. Наиболее часто наблюдаются переломы с VI грудного до III поясничного позвонка. Диагноз перелома тела позвонка ставится на основании появления острой боли в соответствующем отделе позвоночника, резко усиливающейся при движениях и перкуссии позвоночника, а также рентгенографии позвоночника в двух проекциях.

Характерны также переломы луча в типичном месте — в дистальном отделе (переломы Коллеса), частота этих переломов увеличивается у женщин старше 45 лет.

В более поздних стадиях остеопороза часто наблюдаются переломы проксимального отдела бедренной кости (шейки бедра).

При стероидном остеопорозе часто возникают множественные переломы ребер.

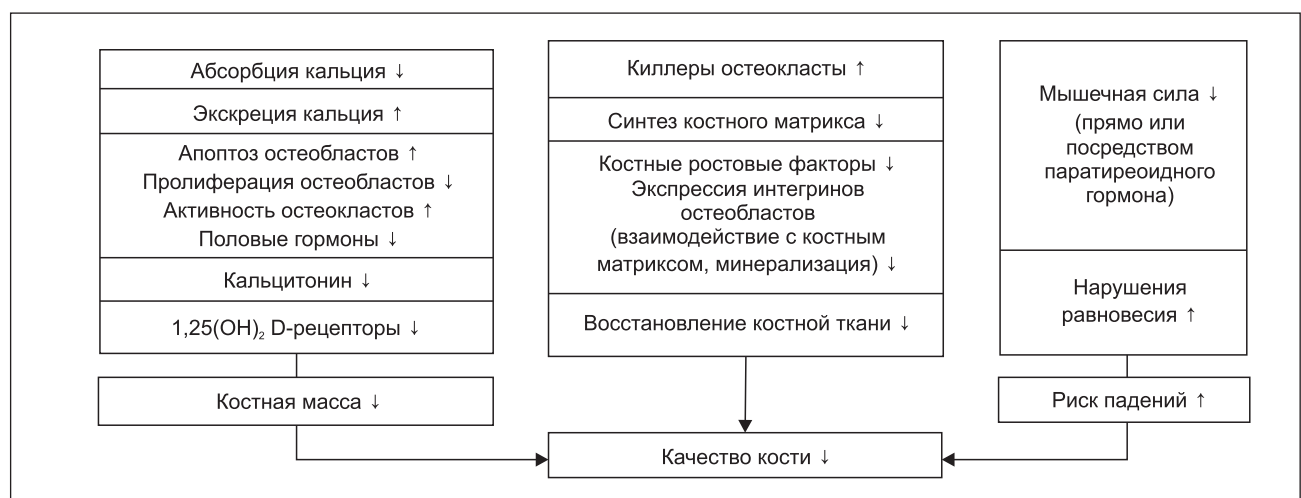


Рисунок 4. Образование и разрушение костной ткани

При системном остеопорозе II типа (сенильном) наблюдаются потери как трабекулярной, так и кортикальной костной массы. Особенно характерны переломы проксимальных отделов бедра. Переломы шейки бедра связаны с кортикальным остеопорозом, а межвертельные — с потерей трабекулярного вещества.

**Классическая клиническая триада остеопороза включает:** боли в костях; переломы костей; изменение осанки и деформацию скелета.

## Диагностика

Начальный этап диагностики остеопороза — это выявление **факторов риска** на основе данных пациента:

- низкое содержание кальция в рационе;
- дефицит витамина D;
- заболевания желудочно-кишечного тракта (снижение всасываемости кальция);
- ранняя менопауза;
- длительные периоды иммобилизации;
- длительный прием глюкокортикоидов, гормонов щитовидной железы;
- заболевания щитовидной железы, надпочечников, почек, печени;
- низкий индекс массы тела;
- вредные привычки (курение, алкоголь);
- низкая физическая активность.

**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 с помощью данного метода чаще выявляют поздние признаки остеопороза — деформацию позвонков или переломы трубчатых костей.

Золотым стандартом диагностики остеопоротических изменений является рентгеновская денситометрия. **Денситометрия** — измерение плотности костной ткани, основано на измерении минерального компонента костной ткани — кальция.

В настоящее время для ранней диагностики остеопороза используют различные методы костной денситометрии, позволяющие выявить уже 2–5 % потери массы кости, оценить динамику плотности костной ткани в процессе развития заболевания или эффективность лечения. Применяются изотопные методы (моно- и двухфотонная абсорбциометрия), рентгеновские (моно- и двухэнергетическая абсорбциометрия, количественная компьютерная томография) и ультразвуковые. Наиболее универсальным является применение двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии — золотого стандарта, позволяющего измерять содержание костного минерала в любом участке скелета, а также определять содержание солей кальция, жира и мышечной массы во всем организме. Стандартными (автоматически) программами для таких денситометров являются программы для поясничных позвонков, проксимальных отделов бедра, костей предплечья и программа

«все тело». Отсутствие всеобщей доступности дорогостоящего оборудования заставляет использовать альтернативные способы диагностики нарушений костного обмена.

**С целью оценки метаболизма костной ткани применяются лабораторные методы диагностики.**

Цель лабораторной диагностики — исключение заболеваний, проявлением которых может быть остеопения (остеомалация, болезнь Педжета, костные метастазы, миеломная болезнь и др.), установление причин вторичного ОП, а также метаболическая характеристика ОП. Последняя важна не только для постановки диагноза, но и для выбора метода адекватной терапии и оценки ее эффективности.

Основная цель ранней биохимической диагностики остеопороза состоит в оценке интенсивности костного метаболизма. Для этого используются специальные биохимические маркеры, которые можно разделить на три группы.

## Маркеры формирования костной ткани

**1. Остеокальцин** — основной неколлагеновый белок костного матрикса, который синтезируется остеобластами. Синтез остеокальцина зависит от витаминов **К** и **D**, что до некоторой степени снижает чувствительность и специфичность определения остеокальцина как маркера метаболизма костной ткани. Именно его концентрация в крови отражает метаболическую активность остеобластов костной ткани, поскольку остеокальцин крови — результат нового синтеза, а не высвобождения его при резорбции кости. Он синтезируется остеобластами во внеклеточное пространство кости, часть попадает в кровоток, где он и может быть проанализирован. Высокий уровень ПТГ подавляет выработку белка остеобластами, в результате чего снижается его концентрация в костной ткани и крови. По мнению многих авторов, этот показатель рассматривается как возможный прогностический индикатор усиления заболевания костей. При первичном ОП выявляется как нормальный, так и слегка повышенный уровень остеокальцина. Повышенное его содержание при первичном ОП обнаруживают у лиц с высоким уровнем костного обмена [2, 3]. Повышенный уровень декарбоксилированного остеокальцина может свидетельствовать об увеличении риска возникновения переломов бедра при сенильном ОП [2, 4].

**2. Кальцитонин** продуцируется парафолликулярными клетками щитовидной железы и оказывает следующее влияние на костную ткань и метаболизм кальция и фосфора:

- ингибирует деятельность остеокластов и тем самым — резорбцию костной ткани;
- стимулирует деятельность остеобластов, синтез костного матрикса и отложение кальция в костях;
- снижает содержание кальция в крови, стимулирует поступление его в кости;
- стимулирует поглощение костями фосфора и снижает содержание фосфатов в крови;

— увеличивает экскрецию с мочой кальция, фосфора, натрия, магния, калия, воды;

— стимулирует превращение в почках неактивной формы витамина  $D_3$  в биологически активную —  $1,25(OH)_2D_3$  (кальцитриол) совместно с ПТГ [4].

**3. Костный фермент щелочной фосфатазы (остаза)** — показатель состояния костной ткани. Основные показания к применению: болезнь Педжета, опухоли кости и метастазы в костях, остеопороз [4].

**Показания к назначению исследования:**

- диагностика обменных заболеваний кости;
- контроль эффективности лечения остеопороза.

**Повышение активности астазы:**

— патология костной ткани (с повышением активности остеобластов или распадом костной ткани): болезнь Педжета (деформирующий остит), остеомаляция, болезнь Гоше с резорбцией костей;

- гиперпаратиреоз;
- рахит;
- заживление переломов;
- остеосаркомы и метастазы злокачественных опухолей в кости;
- нарушения питания (недостаток кальция и фосфатов в пище);

— физиологическое: у недоношенных, у детей в период быстрого роста, у женщин в последнем триместре беременности и после менопаузы.

**Снижение активности астазы:**

- гипотиреоз;
- наследственная гипофосфатаземия (рецессивное аутосомальное заболевание, характеризующееся нарушением кальцификации кости);
- нарушения роста кости (ахондроплазия, дефицит аскорбиновой кислоты);
- недостаток цинка и магния в пище.

**Маркер формирования костного матрикса (Total P1NP)**

Это маркер активности метаболизма костной ткани в организме человека. Костный матрикс представляет собой систему, состоящую на 90 % из коллагена 1-го типа, который образуется из проколлагена 1-го типа, синтезирующегося фибробластами и остеобластами. Total P1NP высвобождается в межклеточное пространство и кровотока в процессе образования коллагена 1-го типа и встраивания его в матрикс кости, отражая таким образом активность формирования костной ткани [5].

**Основные показания к назначению анализа:**

1. Оценка эффективности анаболической терапии остеопороза.
2. Оценка эффективности антирезорбтивной терапии остеопороза.
3. Оценка эффективности терапии других видов патологии костной ткани.

**Интерпретация результатов**

**Повышенный уровень:**

1. Остеопороз.
2. Сенильный остеопороз.

3. Остеомаляция.

4. Несовершенный остеогенез.

5. Болезнь Педжета.

6. Почечная остеодистрофия.

7. Метастатические поражения костной ткани.

**Интерферирующие факторы:** интерпретацию результатов у пациентов с нарушенной функцией почек следует проводить с осторожностью, поскольку может происходить снижение экскреции маркера с мочой и, следовательно, увеличение его уровня в сыворотке.

**Маркеры состояния обмена**

**1. Паратгормон** оказывает свое регулирующее влияние на ремоделирование костной ткани, точками приложения его действия являются кость, почки, желудочно-кишечный тракт (в присутствии витамина  $D_3$  паратгормон усиливает всасывание кальция). Главным показанием к исследованию ПТГ является наличие гиперкальциемии или пониженное содержание фосфора в крови. При постменопаузальном ОП уровень ПТГ чаще нормальный или пониженный, а при сенильном и стероидном ОП, наоборот, немного повышен.

**2. Кальций.** При первичном ОП уровень кальция в крови, как правило, в пределах нормы, хотя имеются отдельные сообщения о тенденции к его повышению при постменопаузальном ОП с высоким показателем костного обмена. Гиперкальциемия возможна у больных сенильным ОП при длительной иммобилизации после перелома шейки бедра. При первичном ОП гиперкальциемия характерна для тех его вариантов, которые характеризуются повышенным костным обменом.

**3. Фосфор.** При первичном ОП уровень фосфора в крови в большинстве случаев нормальный. Тенденция к его снижению отмечена у пожилых людей при сочетании ОП с остеомаляцией (остеопоромалиция). Для оценки почечной реабсорбции фосфора определяют его концентрацию в утренней моче.

**4. Витамин D общий.** Показатель, отражающий статус витамина D в организме.  $25(OH)D$  — основной метаболит витамина D, присутствующий в крови. Он образуется преимущественно в печени, при первой ступени гидроксирования витамина D, обладает умеренной биологической активностью.  $25(OH)D$  в крови переносится в комплексе с транспортным белком, может депонироваться в жировой ткани. Небольшая часть  $25(OH)D$  подвергается гидроксированию в почках с образованием более активного метаболита —  $1,25(OH)D$ . Паратгормон повышает образование в почках  $1,25(OH)D$  при снижении альтернативного, биологически неактивного продукта гидроксирования —  $24,25(OH)D$ . Две основных формы  $25(OH)D$  — холекальциферол (витамин  $D_3$ ) и эргокальциферол (витамин  $D_2$ ).  $D_3$  образуется главным образом в коже под действием ультрафиолетовых лучей, в то время как источником  $D_2$  служит только пища. Важно, что концентрация  $25(OH)D$  отражает вклад двух этих компонентов, обе формы витамина D в данном исследовании из-

меряются эквимолярно. Уровень 25(OH)D считается лучшим индикатором статуса витамина D в организме. Основная роль витамина D в организме связана с регуляцией кальциевого обмена. Уровень витамина D может варьировать в зависимости от возраста (у пожилых людей чаще наблюдается его снижение), сезона (выше в конце лета, ниже зимой), характера принимаемой пищи, этнической и географической популяции, наблюдается снижение содержания в крови витамина D при беременности. Помимо известной роли витамина D в кальциевом обмене, в исследованиях последних лет продемонстрировано, что при достаточном количестве витамина D снижается риск развития ряда онкологических заболеваний, сахарного диабета, рассеянного склероза, сердечно-сосудистых заболеваний, туберкулеза [3–5].

### Гормональная регуляция уровня кальция в кости

**Паратиреоидный гормон** стимулирует резорбцию кости, опосредованно воздействуя на остеокласты; **кальцитонин** снижает количество остеокластов и тормозит их активность; **эстрогены** подавляют активность остеокластов; **андрогены** стимулируют пролиферацию остеоцитов и усиливают процессы костного синтеза.

**Гормон роста и инсулиноподобный фактор роста 1 (соматомедин-С)** активируют процесс синтеза кости за счет стимуляции остеобластов; **инсулин** стимулирует синтез костного матрикса; **тироксин** стимулирует остеокласты, усиливая резорбцию костной ткани; **кортикостероиды** замедляют синтез коллагена в костной ткани.

Из вышеперечисленного следует, что изучение уровня этих гормонов и маркеров костного ремодел-

ирования на ранней стадии развития остеопении, особенно при вторичном ОП, позволит спрогнозировать и оценить вероятность дальнейшей резорбции костной ткани, провести профилактику ОП, назначить лечение.

### Маркеры резорбции костной ткани

Для оценки эффективности лечения остеопороза используют, как правило, маркеры резорбции, поскольку их снижение под влиянием терапии начинается уже через 2–3 недели и достигает плато через 3–6 месяцев. Выявление нормального или значительно повышенного уровня маркера резорбции при однократном определении уже имеет диагностическое значение.

**1. Beta-CrossLaps** — С-концевые телопептиды, образующиеся при деградации коллагена 1-го типа, который составляет более 90 % органического матрикса кости. Измерение beta-CrossLaps позволяет оценить темпы деградации относительно «старой» костной ткани. В норме малые фрагменты коллагена, образующиеся при его деградации, поступают в кровь и выводятся почками с мочой. У пациентов со сниженной функцией почек содержание beta-CrossLaps в сыворотке крови возрастает вследствие снижения экскреции. При патологическом увеличении резорбции костной ткани (пожилой возраст, остеопороз) коллаген 1-го типа деградирует в большом объеме, что приводит к увеличению уровня фрагментов коллагена в крови.

В настоящее время появляется все больше данных о влиянии полиморфизма генов на минеральную плотность костной ткани (МПКТ). Группой ученых из ГУ «Институт ревматологии РАМН» были получены дан-

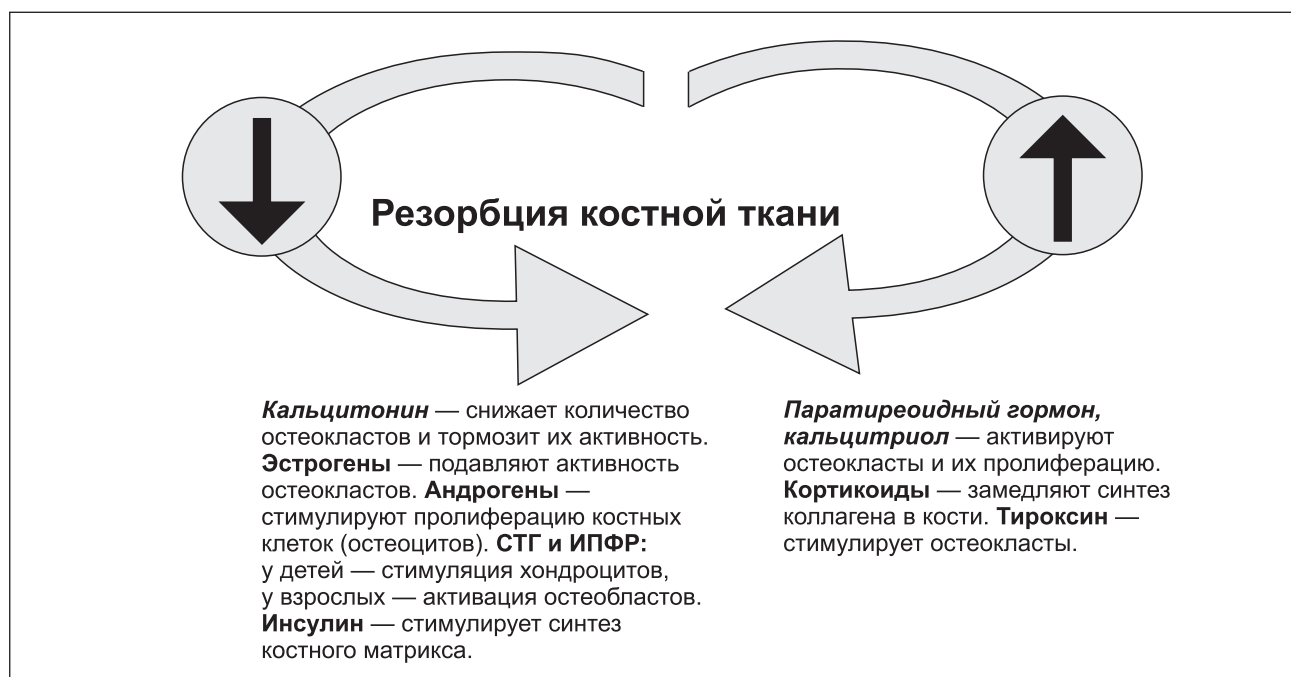


Рисунок 5. Гормональная регуляция уровня кальция в костной ткани

ные о влиянии полиморфизма гена *ВМР4* на минеральную плотность костной ткани и маркеры костного ремоделирования в группах женщин в постменопаузе, имеющих остеопороз. Обнаружена значимая ассоциация полиморфизма этого гена (6007С→Т полиморфизма 4-го экзона) с МПКТ поясничного отдела и маркерами костного ремоделирования. При этом средний уровень щелочной фосфатазы был снижен, а уровень *CrossLaps* был высоким. Эти данные свидетельствуют о более низкой интенсивности процессов костеобразования и более высокой интенсивности процессов костной резорбции.

Изучение аллельного полиморфизма сети генов костного ремоделирования является перспективным направлением для выявления генотипов предрасположенности к остеопорозу.

Таким образом, определение уровня биохимических маркеров резорбции и ремоделирования кости позволяет:

- при профилактическом обследовании выявить пациентов с метаболическими нарушениями процессов ремоделирования и резорбции костной ткани;
- оценить и прогнозировать уровень потери костной массы;
- оценить эффективность проводимой терапии уже через 2–3 месяца.

#### Прогностическая значимость

Уровни маркеров резорбции костей, превышающие норму в 2 раза, связывают с двукратным увеличением риска переломов; пациенты с остеопорозом, у которых уровни маркеров резорбции костей превышают норму в 3 раза, имеют другую метаболическую костную патологию (включая злокачественную). Таким образом, показаниями к исследованию маркеров метаболизма костной ткани являются:

- определение риска развития остеопороза;
- мониторинг в период мено- и постменопаузы;
- мониторинг при проведении гормональной заместительной терапии;
- оценка эффективности терапии антирезорбционными препаратами.

#### 2. Bone TRAP 5b

Кислые фосфатазы — широко распространенные ферменты. На сегодняшний день известны изоформы 1–5, из которых изоформа 5 не ингибируется тартра-том.

Изофермент 5 встречается в двух вариантах — 5a и 5b. Тартратрезистентная кислая фосфатаза типа 5b (костная ТРКФ 5b, ЕС 3.1.3.2, Мг 36.357; 323 аминокислоты (немодифицированный прекурсор), генное происхождение — хромосома 19p13.3-p13.2) синтезируется исключительно в остеокластах. Поэтому возможно установить степень активности остеокластов при помощи определения фермента ТРКФ 5b. Так как элиминация ТРКФ 5b происходит через печень, а не через почки, то у пациентов с почечной недостаточностью этот фермент является хорошим маркером резорбции кости.

#### Показания:

- определение степени резорбции кости (болезнь Педжета, остеопороз, метастазы в кости, почечная остеопатия);
- мониторинг антирезорбтивной терапии (например, бифосфонатами или заместительной гормональной терапией).

#### Генетические исследования остеопороза

Определение молекулярно-генетических причин остеопороза является достаточно сложной задачей, так как остеопороз — мультифакториальное заболевание. Развитие остеопороза обусловлено влиянием множества генов, проявление которых, в свою очередь, зависит от воздействия различных факторов внешней среды. Тем не менее существует подход, который состоит в определении степени сцепления между мутациями в гене-кандидате (априорно выбранном исследователем, который учитывает его важность в метаболизме, например, костной ткани) и болезнью. С помощью этого метода можно выявлять первостепенность (ассоциацию) вовлеченного в патогенез заболевания специфического полиморфизма гена-кандидата. Преимущество этого подхода в том, что он может давать информацию об относительной роли каждой мутации (полиморфизма) отдельно взятого гена-кандидата в патогенезе заболевания. Также важно отметить, что очевидность ассоциации между мутациями в гене-кандидате не подразумевает, что они являются причиной самого заболевания. Скорее всего, они могут быть просто маркерами для других мутаций, которые ассоциированы с процессами, вызывающими заболевание, локализованы в этом же гене или в локусе поблизости при неравновесном сцеплении (Ralston, 1998; Ralston, 1999).

Наиболее интенсивные исследования в последние годы были посвящены определению степени ассоциации между аллельными вариантами гена рецептора витамина D (Morrisson et al., 1994; Wood et al., 1998; Furuya et al., 1999; Audi et al., 1999) и МПКТ, а также между мутацией в сайте связывания транскрипционного фактора Sp1 в регуляторной области гена коллагена 1-го типа альфа-1 (*COL1A1*) и массой и прочностью костей (Liden et al., 1998; Hampson et al., 1998; Keen et al., 1999; Alvarez, 1999; Hustmyer et al., 1999; Sainz et al., 1999).

**1. Исследование гена *COL1A1*** имеет прогностическое значение, позволяющее определить риск развития остеопороза. Ген *COL1A1* кодирует аминокислотную последовательность альфа-1-цепи белка коллагена 1-го типа. Коллаген представляет собой белковую основу соединительных тканей, в том числе костной. Молекулы коллагена состоят из трех полипептидных цепей, закрученных в спирали. Для первичной структуры молекул коллагена характерна частая повторяемость последовательности «глицил — пролил — оксипролил». Благодаря коллагену костная ткань сочетает твердость и прочность с гибкостью и эластичностью.

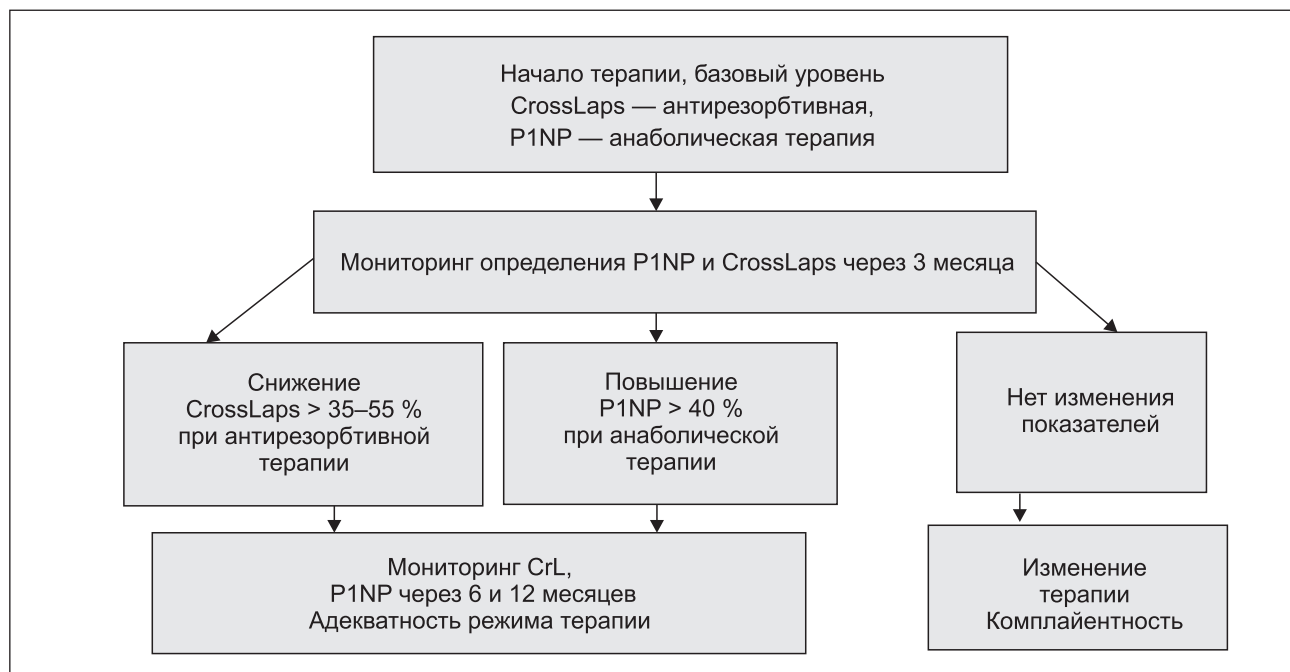


Рисунок 6. Алгоритм мониторинга терапии остеопороза

Полиморфизм 2046 G→T гена COL1A1 представляет собой точечную замену нуклеотида гуанина тиминном, что приводит к нарушению сайта связывания для фактора транскрипции гена COL1A1 в области первого интрона. У носителей варианта T данного полиморфизма наблюдается нарушение нормального соотношения субъединиц в молекуле коллагена, что приводит к ухудшению его механических свойств. Вследствие этого носители варианта T, особенно женщины в постменопаузе, гомозиготные по данному варианту, подвержены остеопорозу, костным переломам [6–8].

#### Показания к назначению анализа:

— оценка генетических факторов предрасположенности к остеопорозу.

#### 2. Витамин D<sub>3</sub>, ген рецептора VDR

Ген рецептора витамина D<sub>3</sub> (VDR3) локализован на хромосоме 12 в области 12q13–14 и состоит из 60 тыс. пар нуклеотидов, в его структуру входит 8 кодирующих и 3 альтернативных 5'-некодирующих экзона. 1,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) — активная форма витамина D, участвующая в регуляции метаболизма кальция и стимулирующая клеточно-опосредованный иммунитет. Свое действие витамин D оказывает через рецептор (VDR), расположенный на поверхности моноцитов и активированных T- и B-лимфоцитов. Поскольку при минерализации костной ткани важную роль играет витамин D<sub>3</sub>, то рецептору этого витамина (VDR) принадлежит в данном случае ключевая роль. В настоящее время представляется, что его различные аллельные гены лучше всего подходят для прогнозирования плотности кости. Эти аллели коррелируют с эндонуклеазными рестрикционными пунктами для Bam-1, Aра-1 и Tag-1, из которых отрезок Bam-1 VDR-гена имеет наибольшую информативность. На вопрос о значении надежного прогноза в отношении развития осте-

опороза в будущем отвечает большое число страдающих этим заболеванием. Поскольку сегодня профилактика остеопороза возможна, то предсказание потери плотности кости имеет большое клиническое значение.

Возможны три варианта аллельных генов VDR: отсутствие предрасположенности к остеопорозу (bb); умеренная предрасположенность (bB); высокая предрасположенность (BB). Целью исследования было выявить корреляцию между ограниченной плотностью кости и видами аллельных генов VDR впервые у больных остеопорозом, а не так, как делалось до сих пор, — у здоровых индивидуумов [6–8].

Процесс костного ремоделирования регулируется многими системными гормонами, цитокинами, факторами роста, идентифицированы многие локальные факторы костного ремоделирования. При изучении ОП важна оценка параметров минерального кальций-фосфор-магниевый обмена (уровень общего и ионизированного кальция, фосфора, магния, меди, цинка, витаминов С и К), которые вовлечены в процесс костеобразования.

#### Лабораторные показатели при остеопорозе (5)

Лабораторные показатели при остеопорозе представлены в табл. 1.

**Сегодня каждый из вас может выполнить современную и качественную диагностику остеопороза в лаборатории ООО «Синэво Украина».**

#### Выводы

Основным при лабораторной диагностике остеопороза является обнаружение повышенной резорбции костей (исследование двух маркеров — дезоксипиридинолина и β-CrossLaps) в дополнение к



Таблица 1

Наименование	Значение
Кальций сыворотки	Диагностика первичного или вторичного гиперпаратиреоза, гипер- или гипокальциемии
Фосфор сыворотки	Обнаружение первичного или вторичного гиперпаратиреоза, гипер- или гипофосфатемии
Кальций мочи (суточная моча)	Обнаружение гипер- или гипокальциурии
Креатинин сыворотки	Оценка функции почек
Общий белок сыворотки и белковые фракции	Оценка активности кальция в сыворотке (приблизительно половина его связана с белками и альбумином)
Остаза (костная фракция щелочной фосфатазы)	Повышение активности после менопаузы, может свидетельствовать о болезни Педжета
Аланинаминотрансфераза, аспартатамино-трансфераза, гамма-глутамилтранспептидаза	Для исключения заболеваний печени
Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)	При подозрении на множественную миелому (повышение СОЭ)
Иммуноэлектрофорез	Обнаружение моноклональной гаммапатии
Общий анализ крови	Лейкоцитоз при вторичном остеопорозе (эндогенный гиперкортицизм)
С-реактивный белок	Диагностика хронических воспалительных заболеваний
Тиреотропный гормон	Диагностика гипертиреоза
Паратгормон	Диагностика первичного или вторичного гиперпаратиреоза
25-ОН-витамин D	Значения ниже 25 мкг/л (63 нмоль/л) свидетельствуют о дефиците витамина D. Целевые значения при остеопорозе — 30–70 мкг/л
$\beta$ -CrossLaps	Главный маркер резорбции костей у женщин после менопаузы, у пожилых мужчин и у больных на хроническом диализе
Дезоксипиридинолин в моче	Маркер резорбции кости при остеопорозе, в случае метастазов в кости (рак молочной железы, рак легкого) и после трансплантации почки
P1NP (N-терминальный пропептид проколлагена 1-го типа)	Главный маркер формирования костной ткани, при эффективной антирезорбтивной терапии отмечается его снижение (через несколько месяцев)
Эстрадиол ( $E_2$ )	При значениях ниже 20 пг/мл (чаще при значениях ниже 15 пг/мл) увеличивается резорбция костей у женщин и у мужчин
$E_2$ и глобулин, связывающий половые гормоны (SHBG)	Очень высокий риск переломов, если эстрадиол ниже, а SHBG — выше референсных значений
Тестостерон и SHBG	Для расчета индекса свободных андрогенов
Гомоцистеин, витамин $B_{12}$ , фолиевая кислота	Определение этиологии гомоцистеинемии
Кортизол, адренокортикотропный гормон	Диагностика синдрома Кушинга

анамнезу, клиническим данным и исследованию плотности костей методом денситометрии. Очень важно также определение концентрации 25-ОН-витамина D в сыворотке, чтобы обнаружить дефицит витамина D, и концентрации паратгормона в плазме для выявления вторичного гиперпаратиреоза. Эти исследования должны быть повторены в течение периода времени между январем и апрелем, потому что дефицит витамина D, вторичный гиперпаратиреоз и увеличенная резорбция костей часто обнаруживаются только в этот промежуток. Важно также исследовать концентрацию эстрадиола в сыворотке крови: низкий уровень эстрадиола повышает чувствительность костей к действию паратгормона [9].

Все эти исследования проводятся в лаборатории «Синэво» на современном оборудовании с использованием тест-систем ведущих мировых производителей. Мы рады вам помочь в диагностике остеопороза и контроле лечения ваших пациентов.

Таким образом, проведение вышеперечисленных лабораторных исследований позволяет:

- при профилактическом обследовании выявить пациентов с метаболическими нарушениями процессов ремоделирования и резорбции костной ткани;
- оценить и прогнозировать уровень потери костной массы;
- оценить эффективность проводимой терапии уже через 2–3 месяца.

## Список литературы

1. Consensus Development Conference. *Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis* // *American Journal of Medicine*. — 1993. — Vol. 94. — P. 646-650.
2. Поворознюк В.В. Захворювання кістково-м'язової системи в людей різного віку: У 3 т. — Т. 3. — К., 2009. — 664 с.
3. Calvo S., Eyre D.R., Gundberg C.M. *Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover* // *Endocrine Rev.* — 1996. — Vol. 17(4). — P. 333-363.
4. Delmas P.D., Garnero P. *Biological markers of bone turnover in osteoporosis* // *Osteoporosis* / Eds. J. Stevenson, R. Lindsay. — London: Chapman & Hall Medical, 1998. — P. 117-136.
5. Guder W.G., Nolte J. (Editor). *Das Laborbuch für Klinik und Praxis*. — München; Jena: Urban & Fischer, 2005.
6. Mann V., Ralston S.H. *Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture* // *Bone*. — 2003. — Vol. 32, № 6. — P. 711-717.
7. Grant S.F., Reid D.M., Blake G. et al. *Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene* // *Nat. Genet.* — 1996. — Vol. 14, № 2.
8. База OMIM \*120150 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=120150>
9. Lee J. et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 91. — P. 1069-1075.

Получено 03.10.14 ■

Климова Ж.А.<sup>1</sup>, Зафт А.А.<sup>1</sup>, Зафт В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ТОВ «Сінево Україна»

<sup>2</sup> ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ

### СУЧАСНА ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ОСТЕОПОРОЗУ

**Резюме.** У статті представлені деякі аспекти проблеми остеопорозу, а також сучасні методи лабораторної діагностики остеопорозу, які застосовуються в лабораторії ТОВ «Сінево Україна».

**Ключові слова:** остеопороз, лабораторна діагностика.

Klimova Zh.A.<sup>1</sup>, Zaff A.A.<sup>1</sup>, Zaff V.B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> «Synevo Ukraine» LLC

<sup>2</sup> State Scientific Institution «Scientific and Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine» of State Affairs Department, Kyiv, Ukraine

### MODERN LABORATORY DIAGNOSIS OF OSTEOPOROSIS

**Summary.** The article presents some aspects of osteoporosis, as well as modern methods of laboratory diagnosis of osteoporosis, which are being used in the laboratory of «Synevo Ukraine» LLC.

**Key words:** osteoporosis, laboratory diagnosis.