

ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МАРКЕРОВ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ

¹Егудина Е.Д., ²Головач И.Ю.

¹Государственное учреждение «Днепропетровская
медицинская академия Министерства охраны
здоровья Украины», г. Днепр

²Клиническая больница «Феофания»
Государственного управления делами, г. Киев

Взаимодействие клеток костной ткани, а именно остеокластов, остеобластов и остеоцитов, определяется как метаболизм костной ткани. Известно, что подтип остеокластов макрофагального происхождения выполняет функцию резорбции костной ткани, а остеобластов мезенхимального происхождения ответственный за формирование кости, причем эти механизмы взаимосвязаны [1]. Таким образом, метаболическая активность костной ткани характеризуется двумя противоположными процессами: формированием новой кости остеобластами и резорбцией старой остеокластами. Масса кости зависит от баланса между резорбцией и образованием кости в данный период времени в зависимости от количества активированных участков ремоделирования. В норме количество новообразованной костной ткани эквивалентно количеству разрушенной. По оценкам, ремоделированию подвергается от 2 до 10% костной массы в год. Дисбаланс в функционировании остеокластов и остеобластов в конечном итоге вызывает нарушение ремоделирования костной ткани и способствует возникновению метаболических заболеваний костей [2].

Сами по себе диагностика, мониторинг, тяжесть заболевания и оценка эффективности лечения при нарушенном метаболизме костной ткани, как правило, являются достаточно сложными для специалистов из-за бессимптомного характера течения этих заболеваний, особенно, в начале патологического процесса.

Количественные измерения минеральной плотности и ультразвуковые методы определения качества костной ткани имеют важное значение для клинической оценки пациентов с генерализованной остеопенией/остеопорозом, но, будучи статическими параметрами, не предоставляют объективной информации относительно активности её метаболизма. В отличие от этого, биохимические показатели являются наиболее динамичными в оценке состояния скелета, позволяя определить баланс между образованием костной ткани и процессами резорбции. Таким образом, изучение костного ремоделирования в норме и при патологии помогает косвенно оценить качество костной ткани, дает перспективы в подборе таргетной терапии и улучшения ранней диагностики остеопороза.

В настоящем обзоре литературы представлена обновленная информация по диагностическим

биомаркерам, позволяющие оценить функционирование остеобластов и остеокластов, а именно маркеры формирования костной ткани и маркеры костной резорбции.

Ремоделирование кости происходит в базовой многоклеточной единице (БМЕ), которая представляет собой микрополость, в которой находятся остеокласты, остеобласты и остеоциты. При нормальном ремоделировании резорбированная кость полностью замещается новой в том же объеме и в той же локализации. Ремоделирование в губчатых костях в среднем длится около 200 дней, резорбция продолжается 30-40 дней, период формирования — около 150 дней. В кортикальном слое ремоделирование происходит быстрее и занимает около 120 дней.

В идеале изменения уровней биохимических маркеров костного обмена следует сопоставлять с данными рентгенологических методов исследования и оценкой риска переломов у отдельных пациентов, что позволяет идентифицировать пациентов, наиболее подверженных риску низкоэнергетических переломов. Хотя двухфотонная рентгеновская абсорбциометрия (ДРА) до настоящего времени является золотым стандартом для измерения минеральной плотности костной ткани (МПК), известно, что уменьшение массы костной массы не является единственным показателем для оценки риска переломов [3]. Вследствие этого в 2008 году предложен инструмент оценки риска переломов (FRAX) [4], где учитывается не только МПК, но и другие 11 факторов риска, которые легко доступны в клинической практике. Алгоритм FRAX дает 10-летнюю вероятность перелома шейки бедра и основных остеопоротических переломов (позвоночник, предплечье, бедро или плечо). Впоследствии предложено добавление биомаркеров костного метаболизма (БКМ) в алгоритм FRAX, учитывая, что изменения костной массы, измеренные при помощи ДРА, обнаруживаются почти через год после патогенетических изменений на клеточном уровне [5]. Но включение этих маркеров в алгоритм FRAX пока оставлено для рассмотрения.

Помимо минерализации, которая является скорее физико-химическим фактором, метаболизм костной ткани отражает активность клеток кости и является динамическим биологическим процессом [6]. Учитывая трудности оценки динамических процессов в статическом интервале, гистоморфометрия кости с использованием тетрациклиновой двойной метки является «золотым стандартом» в определении этой особенности биологии кости [7]. Однако гистоморфометрия кости свои ограничения, в том числе погрешность при отборе проб, инвазивность, высокую стоимость и отсутствие доступности на первичном уровне медицинской помощи. Таким образом, измерение БКМ является привлекательной альтернативой для понимания метаболизма костной ткани. Определение биохимических маркеров метаболизма костной ткани позволяет: оценить состояние кости, установить скорость обменных

процессов в костной ткани и темпы спонтанной потери костной массы, проводить мониторинг лечения остеопороза антирезорбтивными препаратами, прогнозировать риск переломов при постменопаузальном остеопорозе.

Поскольку все метаболические заболевания костей характеризуются изменениями активности остеобластов и остеокластов, биохимические маркеры метаболизма кости, отражающие эту активность, могут в реальном времени проанализировать ремоделирование кости. Кроме того, уровни костных биомаркеров также позволяют оценить индекс активности некоторых опухолевых и

ревматологических заболеваниях, протекающих с вовлечением костной ткани.

Маркеры костного метаболизма

Биомаркеры костной ткани, обычно анализируемые в автоматизированных лабораториях, представляют собой продукты распада коллагена, отражающие активность остеокластов, и коллагеновые или неколлагеновые белки, продуцируемые остеобластами (таблица 1). Все эти маркеры могут быть количественно оценены по образцам сыворотки крови. Наиболее часто используемые маркеры резорбции и формирования кости обсуждаются ниже.

Таблица 1. Биохимические маркеры костного метаболизма

Биомаркеры резорбции костной ткани	Биомаркеры формирования костной ткани
<i>Плазма крови</i>	<i>Плазма крови</i>
Тартрат-резистентная кислая фосфатаза (ТРКФ)	Остеокальцин
N-терминальный телопептид колагена I типа (NTx)	Костно-специфическая щелочная фосфатаза
C-терминальный телопептид колагена I типа (ICTP, CTx)	C-терминальный пропептид проколлагена I типа (PICP)
β -форма C-терминального телопептида колагена I типа (β -CTx)	N-терминальный пропептид проколлагена I типа (PINP)
Костный сиалопротеин (BSP)	
<i>Моча</i>	
Гидроксипролин	
Пиридинолин (Pyr), дезоксипиридинолин (dPyr)	
C-терминальный телопептид колагена I типа (ICTP, CTx)	
α -форма C-терминального телопептида колагена I типа (α -CTx)	
β -форма C-терминального телопептида колагена I типа (β -CTx)	
N- терминальный телопептид колагена I типа (NTx)	

Биомаркеры резорбции костной ткани

Поскольку для большинства заболеваний скелета характерно ускорение процессов ремоделирования с усилением резорбции, для контроля лечения антирезорбтивными препаратами используют, главным образом, маркеры резорбции кости. Биохимические маркеры резорбции кости – это, в основном, различные фрагменты коллагена I типа, а также неколлагеновые белки, попадающие в кровоток из зоны резорбции костного матрикса. Эти маркеры определяются в моче или в сыворотке крови. Основными биохимическими показателями, используемыми в клинической практике в качестве критерия резорбции костной ткани, служат пиридинолин, дезоксипиридинолин, тартрат-резистентная кислая фосфатаза и продукты деградации коллагена I типа – N- и C-телопептиды.

Тартрат-резистентная кислая фосфатаза (ТРКФ).

Этот фермент принадлежит к семейству кислых фосфатаз, секретлируемый остеокластами и попадающий в повышенном количестве в кровоток при увеличении количества и возрастании активности

остеокластов [8]. Суммарное измерение ТРКФ в крови производят колориметрическим методом. В настоящее время известно, как минимум, 5 различных изоформ этого фермента [8]. Данные изоформы экспрессируются различными тканями (простата, кость, селезенка) и клетками (тромбоциты, эритроциты и макрофаги). Специфические изоформы для костной резорбции — это 5 α и 5 β . Происхождение ТРКФ-5 α пока неизвестно, возможно, она экспрессируется макрофагами. Изоформа ТРКФ-5 β отражает активность остеокластов и может быть использована в качестве маркера активности этих клеток [6].

Исследование ТРКФ особенно полезно при мониторинге лечения препаратами, подавляющими резорбцию костной ткани (бисфосфонатами, эстрогенами и другими), остеопорозе (ОП), болезни Педжета и онкологических заболеваний с метастазами в кость, множественной миеломе, гиперпаратиреозе и почечной остеодистрофии [9]. Для этих заболеваний характерно повышение концентрации ТРКФ-5 β . Особенно актуально определение уровня ТРКФ-5 β для мониторинга онкологических больных с целью раннего выявления костных метастазов и оценки

эффективности проводимой терапии. Так, увеличение содержания ТРКФ-5β в крови при развитии костных метастазов можно обнаружить за 2-6 месяцев до их обнаружения с помощью сцинтиграфии [10].

Пиридинолин и дезоксипиридинолин

Пиридинолин (Pyr) и дезоксипиридинолин (dPyr) представляют собой гидроксипиридиновые «сшивки» коллагена. Они формируют поперечные связи между отдельными молекулами коллагена, обуславливая его механическую стабильность [11]. Во время костной резорбции, осуществляемой остеокластами, поперечные связи коллагена разрываются, и их компоненты (Pyr и dPyr) высвобождаются в кровь и мочу [12]. Уровень гидроксипиридиновых сшивок в биологических жидкостях не связан с деградацией новообразованного коллагена и четко отражает деградацию лишь зрелого коллагена. Оба гидроксипиридиновых компонента являются высокоспецифичными компонентами скелетных тканей. Однако, Pyr обнаружен не только в кости, но и в хряще, связках и сосудах, а dPyr присутствует только в кости и дентине, являясь более специфическим маркером метаболизма костной ткани [13]. Но следует учитывать, что уровень метаболизма костной ткани намного выше такового в хряще, связках, сосудах или сухожилиях, поэтому Pyr и dPyr в сыворотке или моче имеют, главным образом, костное происхождение.

Эти маркеры имеют ряд особенностей. Так, уровень dPyr в моче у женщин превышает показатели у мужчин, а также повышается с возрастом. У женщин в период менопаузы экскреция dPyr с мочой в 2-3 раза выше, чем у женщин детородного возраста, причем экскреция не зависит от диеты и физической активности. Как у женщин, так и у мужчин экскреция Pyr и dPyr увеличивается при первичном гиперпаратиреозе (примерно в 3 раза), гипертиреозе (примерно в 5 раз), болезни Педжета (в 12 раз) [11]. Менее значимо, но тем не менее достоверно, экскреция dPyr увеличивается при ОП, остеоартрите и ревматоидном артрите [14]. Экскреция Pyr и dPyr снижается при успешном лечении антирезорбтивными препаратами [15] и является маркером адекватного лечения остеопороза. Таким образом, пиридиновые сшивки коллагена - Pyr и dPyr - являются одними из подходящими, важных и достаточно чувствительных маркеров для оценки костной резорбции.

N- и C-терминальные телопептиды коллагена I типа

Во время деградации костной ткани, производная остеокластов ТРКФ и катепсин К разрушают костный матрикс с выделением коллагена I типа, который состоит из трех аминокислотных цепочек, переплетенных в виде палочковидной спирали, и содержит C- (карбокси-) и N- (амино) терминальные фрагменты (телопептиды) (СТх и NTх) [16].

Лабораторные анализы определяют специфическую аминокислотную последовательность телопептидов коллагена I типа и его концевых

продуктов – C- и N -терминальные продукты деградации пептида. Хотя N-терминальный телопептид (NTх) может быть исследован и в крови, и в моче, C-терминальный телопептид (СТх) приобрел большую популярность и доступность, поскольку его можно исследовать в крови на автоматизированных платформах в условиях многих лабораторий [17]. Кроме того, с учетом растущего объема доказательных данных, именно СТх оказался маркером выбора для исследования остеокластической резорбционной активности согласно выводам многих экспертов [16,17,18].

СТх и NTх элиминируются почками, поэтому их клиническое применение ограничено при хронической болезни почек (ХБП). При таких заболеваниях, как остеопороз, остеопения, несовершенный остеогенез и других патологических состояниях, сопровождающихся активизацией костной резорбции, происходит деградация коллагена I типа, что приводит к повышению в биологических жидкостях (крови и моче) концентраций NTх и СТх [18]. Первичный ОП сопровождается значительным повышением уровня СТх; было показано, что в период менопаузы его концентрация в сыворотке возрастает почти в 2 раза [17]. Однако исследование маркера резорбции СТх рекомендуется проводить до начала антирезорбтивного лечения, например, бисфосфонатов или деносумаба, и может быть проведено повторно через 3-6 месяцев для того, чтобы проверить эффективность лечения и приверженность пациента к терапии.

На заре исследования биомаркеров костного метаболизма ТРКФ, коллагеновые молекулы Pyr и dPyr использовали для измерения активности остеокластов [12]. Однако, учитывая трудности в их определении, все вышеупомянутые маркеры были заменены более чувствительным и специфическим телопептидом коллагена I типа, а именно СТх [16].

Биомаркеры формирования костной ткани

N- и C-концевые пропептиды коллагена I типа

Амино (N)- и карбокси (C)-концевые пропептиды коллагена I типа - это производные коллагена I типа, характерного для костной ткани. Кость является главным поставщиком пропептидов коллагена I типа в циркулирующий пул этих метаболитов. Остеобласты секретируют коллаген I типа в качестве проколлагена, который формирует тройную спираль (содержащую две α- и одну β-цепи) и содержит аминокислотный терминальный пропептид (PINP) и карбокси (C)-терминальный пропептид (PICP) коллагена I типа. Эти глобулярные тримерные пропептиды немедленно расщепляются, попадая в экстрацеллюлярное пространство, а затем и в кровоток [19]. Как таковые, N- и C-концевые пропептиды обозначаются, как биохимические маркеры формирования кости [8]. Как уже упоминалось, расщепленные продукты изначально находятся в тримерной форме, которая в конечном итоге в кровотоке распадается на мономерную. Тример PINP элиминируется через печень, тогда как мономерная

форма метаболизируется через почки. Современные лаборатории анализируют мономерные и тримерные формы (общий PINP) и только тримерную форму (интактный PINP) [18]. Будучи зависимым от скорости клубочковой фильтрации, мономерная форма PINP аккумулируется при хронической почечной недостаточности [20], что несколько искажает достоверность полученных результатов у пациентов с ХБП.

Концентрация PINP в сыворотке крови прямо пропорциональна количеству новообразованного коллагена, продуцированного остеобластами [11, 21]. Исследование PINP в сыворотке крови для оценки нарушений темпов костного формирования является более достоверным показателем, чем определение костной щелочной фосфатазы или остеокальцина [22], поскольку PINP высвобождается только в процессе формирования кости [23]. Кроме того, в отличие от остеокальцина уровень PINP не зависит от физической активности индивидуума [24]. В настоящее время PINP является одним из наиболее достоверных и широко используемых в мире маркеров для диагностики и мониторинга лечения ОП анаболическими препаратами и болезни Педжета, а также в качестве маркера метастазирования в кости [11,16,25,26,27].

Что касается PСР, то этот БКМ надежен и специфичен, как маркер формирования губчатой кости при метаболических заболеваниях скелета (первичный гиперпаратиреозидизм, тиреотоксикоз), кроме того, выявлена корреляция между концентрацией PСР в сыворотке крови и данными динамической костной гистоморфометрии и темпами костеобразования [8,21].

Остеокальцин

Остеокальцин (ОКЦ) - самый распространенный неколлагеновый белок костной ткани, состоящий из 49 аминокислот и секретуемый зрелыми клетками, ответственными за образование кости – остеобластами, тем самым являясь чувствительным маркером формирования костной ткани. Его концентрация в крови отражает метаболическую активность остеобластов, которая связана с темпами формирования кости [11]. ОКЦ участвует в процессе связывания кальция и гидроксилатапата с коллагеном, способствуя организации внеклеточного матрикса. Он экспрессируется в основном во время фазы формирования кости, принимая участие в процессе минерализации остеоида [11].

ОКЦ также известен как белок, содержащий костную гамма-карбоксихлутаминовую кислоту, поскольку он содержит 3 глутаминовые кислоты в положениях 13, 17 и 20, которые подвергаются гамма-карбоксихлутаминированию при взаимодействии с витамином К [28]. Поэтому следует отметить, что у пациентов, получающих антагонисты витамина К (например, варфарин), наблюдается снижение концентрации ОКЦ.

ОКЦ недавно приобрел новую актуальность, после определения его роли в качестве гормона, происходящего из кости, влияющего на мужскую фертильность, метаболизм глюкозы, и его действие на центральную нервную систему и мышцы в экспериментах на животных [29-31].

ОКЦ в основном идентифицирован как маркер формирования костной ткани из-за его тесной корреляции с образованием кости, что подтверждено с помощью гистоморфометрии. Однако, будучи инкорпорированным в костный матрикс, он также высвобождается во время резорбции костной ткани остеокластами [18]. Таким образом, ОКЦ является маркером, отражающим не только образование, но и резорбцию, то есть маркером интенсивности костного обмена в целом. Одновременно он является прогностическим индикатором прогрессирования костных заболеваний [17].

Молекула ОКЦ подвергается быстрой деградации в циркулирующей крови, распадается на различные по размерам фрагменты, что значительно ограничивает его применение как специфического маркера [11]. Концентрация ОКЦ в сыворотке зависит от физической активности человека, уровня витамина D в крови, а также от функционального состояния почек, поскольку он в основном метаболизируется почками [32]. ОКЦ подвержен значительным суточным колебаниям, в связи с этим забор крови для анализа должен быть строго контролируемым, что особенно важно при оценке динамики ремоделирования [33].

Измерение сывороточного ОКЦ позволяет определить риск развития ОП у женщин, разрешает проводить мониторинг костного метаболизма во время менопаузы и после нее, во время гормональной заместительной терапии и терапии антагонистами гонадотропин-рилизинг гормона, помогает в диагностике пациентов с дефицитом гормона роста, гипо- и гипертиреозом, почечной остео дистрофией. Кроме того, ОКЦ является диагностическим критерием гиперкортицизма (болезнь и синдром Иценко-Кушинга) и позволяет мониторировать пациентов, получающих преднизолон, и при этих состояниях содержание ОКЦ в крови значительно снижено [34].

Костно-специфическая щелочная фосфатаза

Костно-специфическая щелочная фосфатаза (КСЩФ) представляет собой тетрамерный гликопротеин, обнаруженный на клеточной поверхности остеобластов. У здорового взрослого человека почти половина общего количества щелочной фосфатазы в крови попадает из костной ткани, то есть продуцируется остеобластами, а остальную часть составляет фракция, продуцируемая гепатоцитами [35]. КСЩФ ингибирует ингибитор минерализации пирофосфат, тем самым осуществляя свою функцию по формированию костной ткани [36]. Считается, что концентрация КСЩФ в сыворотке крови отражает состояние метаболизма остеобластов [37]. Исследование КСЩФ достаточно доступно и

широко используется в настоящее время, но этот показатель все-таки имеет перекрестную реакцию с щелочной фосфатазой печени, поэтому у пациентов с хроническими болезнями печени измерения КСЦФ имеют ограниченную пользу [18].

Одновременно, этот биомаркер имеет ряд преимуществ: КСЦФ демонстрирует сильную корреляцию с риском переломов в популяциях пациентов с ХБП и развитием у них почечной остеодистрофии [38]. Есть данные, что КСЦФ является чувствительным маркером в мониторинге прогрессирования болезни Педжета [39]. Кроме того, КСЦФ дает полезную информацию о костном ремоделировании у пациентов с ОП, является

диагностическим маркером остеопороза, первичного гиперпаратиреозидизма.

При ОП определение КСЦФ эффективно не только в качестве предиктора быстрой потери костной массы, но и в качестве маркера мониторинга лечения ингибиторами высокого темпа костного обмена, такими как эстрогены, кальцитонин или бисфосфонаты [39].

В таблице 2 представлена диагностическая ценность БКМ в диагностике различных состояний, связанных с повышенным ремоделированием костной ткани.

Таблица 2. Взаимосвязь биомаркеров костного метаболизма с различными заболеваниями, связанными с повышенным ремоделированием костной ткани

	ТРКФ	Руг, dРуг	СТх	PINP	КСЦФ	Остеокальцин
Остеопороз	↑+	↑+	↑+++	↑+++	↑++	↑++
Метастазы опухоли в кость	↑+++		↑++	↑+	↑++	
Остеомаляция	↑+++			↑++	↑++	
Болезнь Педжета	↑++	↑+++	↑++	↑+	↑++	↑+
Первичный гиперпаратиреоз	↑++	↑+	↑+++		↑++	↑++
Гипертиреоз	↑+	↑++	↑+++	↑++		
Множественная миелома	↑+					
Болезнь Кушинга	↑++			↑++		↓++
Почечная дистрофия	↑+++			↑++	↑+++	↑+++

dРуг – дезоксипиридинолин, КСЦФ - костно-специфическая щелочная фосфатаза, Руг - пиридинолин, ТРКФ - тартрат-резистентная кислая фосфатаза, СТх - карбокси (С)- терминальный телопептид, PINP – аминокислотный терминальный пропептид.

Трудности при лабораторном определении биомаркеров костного метаболизма

БКМ достаточно чувствительны к ряду преаналитических и аналитических проблем. Технические преаналитические вопросы, относящиеся к сбору проб, связаны главным образом со сбором анализов мочи [40]. Из-за громоздкости разового или 24-часового сбора мочи и необходимости коррекции в зависимости от уровня креатинина, исследование БКМ в моче в настоящий момент мало используется и редко выполняется. Таким образом, исследование активности БКМ в крови является предпочтительным способом диагностики.

Но главной проблемой является преодоление биологических факторов, которые вызывают вариабельность результатов тестов. Необходимо напомнить о ряде эндогенных и экзогенных детерминант, которые следует обязательно учитывать при интерпретации результатов тестов. Уровень БКМ в крови обычно выше у детей, чем у взрослых [12]. Уровни БКМ у пожилых людей обычно ниже, но, следует отметить, что у женщин сразу после наступления менопаузы обычно наблюдается повышение уровней этих лабораторных показателей [27]. Показатели БКМ также обычно выше у мужчин

по сравнению с женщинами [27]. Этническое происхождение пациента также следует учитывать, поскольку исследования свидетельствуют о том, что пациенты европеоидной расы обычно имеют более низкие уровни БКМ [12]. Концентрации маркеров повышаются во время беременности и кормления грудью и имеют тенденцию нормализоваться через несколько месяцев после прекращения лактации [41].

Значительное повышение уровня маркеров было отмечено у иммобилизованных пациентов или тех, кто находился длительно на постельном режиме по любой причине [39]. Уровни маркеров могут быть значительно повышены даже через 6 месяцев после перелома кости [42]. Повышение маркеров отмечается также при ХБП, множественной миеломе и метастатическом поражении костей [43,44, 45]. Нарушение функции почек обуславливает повышение уровня маркеров, особенно мономерного PINP, СТх и остеокальцина, которые в основном метаболизируются через почки [45].

Колебания биомаркеров зависят от многочисленных эндогенных факторов. Так, необходимо учитывать циркадный ритм, фазу менструального периода, сезонность, физические упражнения и диету. Костные маркеры, особенно маркеры резорбции, следуют циркадному ритму, когда

пиковые уровни наблюдаются в ранние утренние часы, а в течение дня снижаются [27]. Биомаркеры формирования кости повышаются после овуляции, то есть во время лютеиновой фазы [27]; с другой стороны, маркеры резорбции повышаются во время фолликулярной фазы менструального цикла [46]. Показатели биомаркеров как резорбции, так и костеобразования, отражают статус витамина D, и, следовательно, в зимние месяцы уровни БКМ выше [47].

Принимая во внимание данные литературы, в настоящее время, нет единого мнения о влиянии физических упражнений на колебания БКМ [48, 49]. Отмечено, что диета, богатая мясом или желатином, приводит к повышению уровня биомаркеров [50]. Поэтому пациентам рекомендуют не принимать пищу после 18 часов предыдущего дня перед обследованием, ограничить мясные продукты. Высокие уровни БКМ обычно наблюдаются у курильщиков и при низком индексе массы тела [51]. Поскольку большинство маркеров костного обмена также присутствуют в других, не скелетных органах с коллагеном I типа, было также показано, что сердечно-сосудистые заболевания и системный склероз могут обуславливать ложное повышение концентрации БКМ [52].

Применение биохимических маркеров костного обмена в повседневной деятельности врача

БКМ активно используются в исследовательских целях для лучшего понимания патофизиологии костных заболеваний и эффектов остеотропных препаратов, в настоящее время они также имплементированы в медицинскую практику с диагностической целью. Следует подчеркнуть, что всего несколько БКМ одобрено Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA), что также нашло подтверждение и в рекомендациях профильных экспертов. На основании качественного обзора опубликованных клинических данных и мнений экспертов, рабочие группы Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – IFCC) в сотрудничестве с Международным фондом остеопороза (IOF) рекомендуют преимущественное использование трех маркеров костного метаболизма в крови: СТх и остеокальцин для оценки костной резорбции и PINP - костеобразования [53]. Однако эксперты подчеркивают, что среди этих БКМ предпочтение следует отдавать СТх, учитывая его большую коммерческую доступность и более легкую лабораторную воспроизводимость. В настоящий момент в Украине СТх, как и PINP доступен не во всех клинических лабораториях и специалисты продолжают пользоваться менее достоверными и валидными БКМ.

Прогнозирование потерь костной массы и риска переломов у пациентов, не принимающих лечение

Можно предположить, что БКМ могут использоваться у пациентов, не принимающих лечение

антирезорбтивными препаратами, для прогнозирования риска развития ОП и переломов. Проведенные популяционные исследования доказали эффективность определения показателей БКМ в прогнозировании риска переломов и оценке потери костной массы. Так, было продемонстрировано, что повышенные уровни БКМ предсказывают ускоренную потерю костной массы и увеличение риска нетравматических переломов вне зависимости от сопутствующие заболеваний, возраста и пола [55]. Несколько проспективных исследований так же показали связь между повышенным метаболизмом костной ткани и ускоренной потерей ее массы [56,57]. Среди пожилых мужчин и женщин повышенная концентрация маркеров резорбции и формирования костной ткани (высокий темп костного обмена) ассоциировалась с незначительным увеличением риска нескольких типов переломов, в том числе бедра и позвоночника, но эта связь была намного слабее, чем ассоциация между низкой МПК и риском переломов той же локализации [56].

Тем не менее, реализация данных этих исследований трудно имплементировать на индивидуальном уровне определенного пациента. Проспективные рандомизированные клинические испытания, предназначенные для оценки эффективности и рентабельности программ скрининга ОП, основанных на определении БКМ, отсутствуют. И в настоящее время использование оценки БКМ в качестве рутинного метода исследования не рекомендуются для идентификации пациентов с повышенным риском потери костной массы [57].

Прогнозирование эффективности лечения переломов

В большинстве исследований, посвященных антирезорбтивному и анаболическому лечению, сообщалось, что более высокий исходный метаболизм костной ткани связан с большим увеличением МПК в процессе лечения. Исследование, проведенное среди женщин, получавших алендронат, позволило обнаружить, что польза в предотвращении последующих переломов была выше среди пациентов с более высоким уровнем PINP перед началом лечения, но эта связь не наблюдалась ни в одном исследовании с другими бисфосфонатами [57, 58, 59].

Потенциальное использование биомаркеров костного метаболизма у пациентов, получающих лечение: возможность оценки приверженности к лечению и несоблюдения терапевтического режима

Учитывая значительные и быстрые изменения в концентрациях БКМ в процессе лечения ОП, некоторые исследователи выступали за использование последовательных измерений биомаркеров для определения приверженности пациентов к лечению и выявления несоблюдения ими режима лечения. Но несколько рандомизированных исследований показали, что серийные измерения биомаркеров не имеют общего влияния на приверженность пациентов к лечению и комплаентности с врачом. Исследование 2382 пациентов сообщило, что приверженность к пероральному приему бисфосфонатов становилось

хуже, когда пациентам говорили, что краткосрочный ответ на лечение, оцененный при помощи биомаркеров, был неоптимальным [57]. Во время лечения ожидаемые изменения в концентрации биомаркеров могут указывать на неоптимальное соблюдение режима приема препаратов. Но, оказывается, что простое поощрение приверженности более эффективно, чем мониторинг маркеров [16].

Мониторинг эффективности антиостеопоротического лечения

Самая большая часть наших знаний о клиническом применении БКМ юазируется на результатах, полученных в различных исследованиях эффективности антиостеопоротических препаратов [59,60,61,62,63,64]. Характер изменения маркеров в ответ на лечение хорошо задокументирован и может быть использован для оценки степени увеличения МПК в ответ на лечение и оценки терапевтической эффективности в снижении риска переломов.

Антирезорбтивные препараты препятствуют костной резорбции, способствуя апоптозу остеокластов и, следовательно, приводя к быстрому снижению концентрации маркеров костной резорбции. Доза и механизм действия препаратов демонстрируют степень торможения резорбции кости и уровни маркеров резорбции. Поскольку резорбция и образование кости являются взаимосвязанными процессами, ингибирование резорбции кости приводит и к уменьшению ее образования. Таким образом, эффективность лечения антиостеопоротическими

препаратами можно оценить и по уровням маркеров костеобразования.

Наблюдая за пациентами в процессе получения ими антирезорбтивной терапии, уровни БКМ следует определять каждые 3-6 месяцев для контроля приверженности к лечению и эффективности препаратов. Эти преимущества особенно очевидны, так как доказательства эффективности лечения при помощи оценки МПК (проведение ДРА) можно наблюдать только через 1 год непрерывного лечения, так как изменения МПК на макроскопическом уровне занимают больше времени [53].

В таблице 3 обобщены изменения уровней БКМ при различных терапевтических режимах применения антиостеопоротических препаратов. Лечение антирезорбтивными лекарственными средствами, например, эстрогенами, селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов (ралоксифен), бисфосфонатами (алендронат, ризедронат), деносумабом связано с уменьшением концентрации как маркеров резорбции, так и маркеров образования костной ткани. Лечение человеческим рекомбинантным паратиреоидным гормоном (ПТГ) ассоциируется с увеличением маркеров формирования кости с последующим увеличением уровней маркеров резорбции [51]. Изменения уровней БКМ после начала терапии прогнозируют изменения МПК. Раннее снижение уровней костных маркеров при лечении бисфосфонатами и деносумабом коррелирует с 2-3-летним увеличением МПК [58,63].

Таблица 3. Изменения уровней биомаркеров костного метаболизма во время различных режимов лечения остеопороза

Маркер	Тип	Вид терапии	Целевые уровни	Кратность исследования
СТх	Биомаркер костной резорбции	Антирезорбтивная	↓мин. 35%	Исходный уровень и каждые 6 месяцев
Общий PINP	Биомаркер костеобразования	Антирезорбтивная	↓мин.40%	Исходный уровень и каждые 6 месяцев
		Анаболическая	↑ мин.40%	Исходный уровень и каждые 6 месяцев
Остеокальцин	Биомаркер костного метаболизма	Антирезорбтивная	↓мин. 20%	Исходный уровень и каждые 6 месяцев

Примечание. СТх - карбокси (С)- терминальный телопептид, PINP – аминокислотный терминальный пропептид.

Снижение риска переломов позвоночника и шейки бедра коррелирует с ранним снижением уровня маркеров (PINP, ОКЦ, СТх), особенно часто это было продемонстрировано с самого начала терапии алендронатом [59]. Ралоксифен-индуцированные изменения концентрации ОК превосходили снижение риска переломов лучше, чем изменения МПК [65]. Аналогичная связь наблюдалась также между PINP и применением золендроновой кислоты [66].

Использование в нефрологии

Терминальная стадия почечной недостаточности ассоциирована с развитием почечной остеодистрофии. Отличительные признаки этой патологии включают гипокальциемию и повышенный уровень ПТГ (вторичный гиперпаратиреоз) [45]. Уровни маркеров костного метаболизма при почечной остеодистрофии значительно повышены. ТРКФ и КСЦФ - единственные биомаркеры, которые не элиминируются почками и отражают состояние костного метаболизма. Мономерный PINP, остеокальцин и СТх могут быть так же повышенными, но эти показатели не отражают истинное состояние костной ткани при ХБП. Уровни ПТГ также

показывают тесную корреляцию с метаболизмом костной ткани при ХБП [67]. В практическом отношении сывороточные уровни ТРКФ, КСЦФ и ПТГ являются единственными надежными БКМ у пациентов с хроническими болезнями почек.

Использование в онкологии

Солитарные опухоли, такие как рак простаты, легких и молочной железы, обычно метастазируют в кости. Первичное поражение костной ткани характерно для множественной миеломы характерно. В зависимости от опухоли, очаги поражения кости могут быть остеолитическими или остеобластическими. Это потенциально предполагает, что повышение маркеров резорбции доминирует при остеолитическом поражении, а повышение маркеров формирования характерно для остеобластических очагов [68]. Кроме того, костные биомаркеры функционируют и как опухолевые маркеры, когда секретируются на первичную опухоль костной ткани. Остеоидная остеома секретирует остеокальцин [69], а остеосаркома - КСЦФ [70].

Использование в ревматологии

Воспалительный патогенез большинства ревматических заболеваний способствует резорбции костной ткани и подавлению формирования кости. Такие изменения были обнаружены при ревматоидном артрите, псориатическом артрите, анкилозирующем спондилите и реактивном артрите [71]. Кроме того, уровни маркеров резорбции тесно коррелируют с показателями активности ревматических заболеваний [72].

Использование при болезни Педжета

Болезнь Педжета - хроническое локальное заболевание костей, относящееся к группе метаболических остеопатий. Характеризуется перестройкой костной ткани, в ходе которой первоначально развивающаяся резорбция сменяется избыточным хаотичным и неполноценным костеобразованием. Очаги перестройки отмечаются в одной или нескольких костях, могут увеличиваться и приводить к деформации скелета. У пациентов обычно присутствует заметное увеличение всех маркеров метаболизма кости [73]. Концентрации PINP коррелируют с активностью заболевания и с ответом на антирезорбтивную терапию. БКМ полезны как для диагностики и мониторинга течения болезни Педжета, так и в оценке терапевтического ответа.

Выводы. Биохимические маркеры костного метаболизма отражают гомеостаз кости, то есть активность остеобластов и остеокластов как в физиологических, так и патофизиологических условиях. Хотя БКМ достаточно чувствительны к множеству экзогенных и эндогенных преаналитических факторов, эти маркеры отлично зарекомендовали себя в мониторинге эффективности антиостеопоротического лечения. Комбинированное использование оценки МПК с помощью DEXA и биохимических маркеров ремоделирования костной ткани, по крайней мере при помощи одного маркера костной резорбции и одного костеобразования, может

потенциально улучшить раннее обнаружение лиц с повышенным риском развития ОП и в итоге нетравматического перелома. Кроме того, они имеют достаточно большую диагностическую ценность при остеопорозе, почечной остеодистрофии, болезни Педжета, определенных онкологических и ревматических заболеваниях.

Abstract

LABORATORY ASPECTS AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF BONE TURNOVER MARKERS

Yehudina Ye.D., Golovach I.Yu.

Introduction. With an aging population, there is a marked increase in prevalence of metabolic bone diseases, especially osteoporosis. A serious complication of osteoporosis is non-traumatic bone fractures, which significantly impair quality of life and are associated with comorbid conditions and high mortality. Diseases associated with impaired bone remodeling require timely diagnosis, treatment and monitoring. The consequent public health and socioeconomic burden warrant timely diagnosis, treatment and follow-up of these disorders. Knowing the limitations of radiological techniques, biochemical markers of bone turnover measurements come handy since the changes in their levels readily reflect bone physiology. **Material and methods.** This paper presents a literature review concerning bone turnover biomarkers with the aim of providing comprehensive information on the applicability of these biomarkers for clinical use. A literature search was conducted in the PubMed, MedLine, Scopus and Embase databases from 1987–2019. Keywords used for search: bone turnover, bone formation, bone resorption, bone biomarkers, biochemical markers of bone turnover. We aimed to determine the clinical effectiveness, test accuracy, reliability, reproducibility and cost-effectiveness of bone turnover markers for monitoring the response to osteoporosis treatment, predicting bone loss and fracture risk, diagnostic of osteoporosis, Paget's disease, renal osteodystrophy, and certain oncological conditions and rheumatic diseases. **Results and discussion.** Bone turnover markers are a series of protein or protein derivative biomarkers released during bone remodeling by osteoblasts or osteoclasts. Bone biomarkers typically analyzed in high throughput automated routine laboratories are collagen degradation products, reflecting osteoclast activity and collagenous or non-collagenous proteins produced by the osteoblasts. All these markers can be quantitated well from blood samples, serum being the preferred sample of choice. Although assays for urine examination were developed for quite a few markers, blood sampling generally detours the pre-analytic issues usually involving urine sampling. The most commonly used bone resorption and bone formation markers are discussed in this article. Biochemical markers of bone resorption are mainly different fragments of type I collagen, as well as non-collagen proteins that enter the circulation from the bone matrix resorption zone. The main biochemical indicators

used in clinical practice as a criterion for bone tissue resorption are pyridinoline, deoxypyridinoline, tartrate-resistant acid phosphatase, and degradation products of type I collagen - C- and N-terminal telopeptide. All the afore mentioned markers have since been superseded by the more sensitive and specific telopeptides of type I collagen, namely the C-terminal telopeptide (CTX). As compared to the bone resorption biomarkers, there is a larger repertoire of biomarkers of bone formation, reflecting osteoblast activity, namely serum bone-specific alkaline phosphatase, osteocalcin and procollagen type I N-terminal propeptide (PINP). Although produced by the osteoblasts, osteocalcin may be defined as a bone turnover marker reflecting both bone formation and bone resorption, since it is also released from the bone matrix during bone resorption. PINP is more extensively described in literature are compared to the other bone formation biomarkers. **Conclusion.** Biochemical markers of bone turnover reflect bone homeostasis, i.e., the activity of osteoblasts and osteoclasts in both physiological and pathophysiological conditions. Although quite sensitive to a multitude of exogenous and endogenous pre-analytical factors, bone markers are best used in monitoring anti-osteoporosis therapy efficacy and compliance. Combination of bone mineral density measurement by dual energy x-ray absorptiometry with biochemical markers of bone turnover levels, at least one bone resorption and one bone formation marker, may potentially improve early detection of individuals at increased risk for bone loss and eventually non-traumatic bone fracture. Furthermore, they have widespread clinical utility in osteoporosis, renal osteodystrophy, certain oncological conditions and rheumatic diseases.

Key words: diagnostics, bone metabolism, bone formation, bone resorption, biomarkers of bone tissue, biochemical markers of bone metabolism.

Список литературы

1. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. // *Nature*. 2003. Vol. 423. P. 693-701. DOI:10.1038/nature01658
2. Szulc P, Bauer DC, Eastell R. Biochemical markers of bone turnover in Osteoporosis. In *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 8th edition*. Ed. Rosen CJ. // American Society of Bone and Mineral Research, Washington DC, USA. 2013. pp. 297-306.
3. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. // *J Bone Miner Res*. 2011. Vol. 26. P. 2762-2769. doi: 10.1002/jbmr.499.
4. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. // *Osteoporosis International*. 2008. Vol. 19. P. 385-397. doi: 10.1007/s00198-007-0543-5.
5. Devogelaer JP, Boutsen Y, Gruson D, Manicourt D. Is there a place for bone turnover markers in the assessment of osteoporosis and its treatment? // *Rheum Dis Clin North Am*. 2011. Vol. 37. N 3. P. 365-386. doi: 10.1016/j.rdc.2011.07.002.
6. Vervloet MG, Brandenburg VM; CKD-MBD working group of ERA-EDTA. Circulating markers of bone turnover. // *J Nephrol*. 2017. Vol. 30. N5. P. 663-670. doi: 10.1007/s40620-017-0408-8
7. Ott SM. Histomorphometric measurements of bone turnover, mineralization, and volume. // *Clin J Am Soc Nephrol* 2008. Vol. 3. N 3. P. 151-156. doi: 10.2215/CJN.04301206.
8. Wheeler G, Elshahaly M, Tuck SP, Datta HK, van Laar JM. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. // *J Transl Med*. 2013. Vol. 11. P. 201. doi: 10.1186/1479-5876-11-201.
9. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Vaananen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption // *J. Bone Miner. Res*. 2000. Vol. 15. P. 1337-1345. DOI:10.1359/jbmr.2000.15.7.1337
10. Halleen JM, Karp M, Viloma S, et al. Two-site immunoassays for osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase based on characterisation of six monoclonal antibodies // *J. Bone Miner. Res*. 1999. Vol. 14. P. 464-469.
11. Pobel EA, Bengus LM, Dedukh NV. Bone metabolism markers with fusion of long bone fractures. // *Osteoporosis and osteopathy number*. 2012. Vol. 2. P. 25-32.
12. Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis // *J. Bone Miner. Res*. 1997. Vol. 12. N 1. P. 59-65.
13. Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, [et al.] The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. // *J Bone Miner Res*. 2003. Vol. 18. P. 859-67. DOI:10.1359/jbmr.2003.18.5.859
14. Kamel S, Brazier M, Neri V, [et al.] Multiple molecular forms of pyridinolines cross-links excreted in human urine evaluated by chromatographic and immunoassay methods. // *J Bone Miner Res*. 1995. Vol. 10. P. 1385-92.
15. Randall AG, Kent GN, Garcia-Webb P, [et al.] Comparison of biochemical markers of bone turnover in Paget disease treated with pamidronate and a proposed model for the relationships between measurements of the different forms of pyridinoline cross-links. // *J Bone Miner Res*. 1996. Vol. 11. P. 1176-84.
16. Douglas C. Bauer, Clinical Use of Bone Turnover Markers. // *JAMA*. 2019. doi:10.1001/jama.2019.9372. [Epub ahead of print].
17. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover - uses and limitations. // *Ann Clin Biochem*. 2014. Vol. 51. N 2. P. 189-202. doi: 10.1177/0004563213515190
18. Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. // *Clin Chem*. 2017. Vol. 63. N 2. P. 464-474. doi: 10.1373/clinchem.2016.259085

19. Zimmermann EA, Busse B, Ritchie RO. The fracture mechanics of human bone: influence of disease and treatment. // *Bonekey Rep.* 2015. Vol. 4. P. 743. doi: 10.1038/bonekey.2015.112.
20. Vasikaran SD, Chubb SP, Ebeling PR, [et al.] Harmonised Australian reference intervals for serum PINP and CTX in adults. *Clin Biochem Rev.* 2014. Vol.35. N 4. P. 237–242.
21. Wallace JM, Erickson B, Les MC, Orr BG, Banaszak Holl M. Distribution of Type I Collagen Morphologies in Bone: Relation to Estrogen Depletion. // *Bone.* 2010. Vol.46. N 5. P. 1349–1354. doi: 10.1016/j.bone.2009.11.020
22. Coulibaly MO, Sietsema DL, Burgers TA, Mason J, Williams BO, Jones CB. Recent advances in the use of serological bone formation markers to monitor callus development and fracture healing. // *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2010. Vol. 20, N 2. P. 105–127.
23. Han B, Copeland M, Geiser AG, [et al.] Development of a highly sensitive, high-throughput, mass spectrometry-based assay for rat procollagen type-I N-terminal propeptide (PINP) to measure bone formation activity // *J. Proteome Res.* 2007. Vol.6. N 11. P. 4218–4229.
24. Adami S, Gatti D, Viapiana O, [et al.]. Physical activity and bone turnover markers: a cross-sectional and a longitudinal study. // *Calcif. Tissue Int.* 2008. Vol. 83. N 6. P. 388–392.
25. Watts NB, Miller PD, Kohlmeier LA, Sebba A, Chen P, Wong M, Krohn K. Vertebral fracture risk is reduced in women who lose femoral neck BMD with teriparatide treatment // *J. Bone Miner Res.* 2009. Vol. 24, N 6. P. 1125–1131.
26. Lein M, Miller K, Wirth M, [et al.] Bone turnover markers as predictive tools for skeletal complications in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic acid // *Prostate.* 2009. Vol. 69, N 6. P. 624–632.
27. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. // *Clin Biochem Rev.* 2005. Vol. 26. N 4. P. 97-122.
28. Price PA, Lothringer JW, Baukol SA, Hari Reddi A. Developmental appearance of the vitamin K-dependent protein of bone during calcification. Analysis of mineralizing tissues in human, calf, and rat. // *J Biol Chem.* 1981. Vol. 256. P. 3781–3784.
29. Oury F, Sumara G, Sumara O, [et al.] Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. // *Cell.* 2011. Vol. 144. P. 796–809. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.004
30. Oury F, Khrimian L, Denny CA, [et al.] Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. // *Cell.* 2013. Vol. 155. P. 228–241. doi: 10.1016/j.cell.2013.08.042.
31. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, [et al.] Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. // *Cell.* 2010. Vol. 142. P. 296–308. doi: 10.1016/j.cell.2010.06.003
32. Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. // *Rev Endocr Metab Disord.* 2015. Vol. 16. N 2. P. 93–98. doi: 10.1007/s11154-014-9307-7
33. Rosenquist C, Qvist P, Bjarnason N, Christiansen C. Measurement of a more stable region of osteocalcin in serum by ELISA with two monoclonal antibodies. // *Clin Chem.* 1995. Vol. 41. P. 1439–1445.
34. Burch J, Rice S, Yang H, et al. Systematic review of the use of bone turnover markers for monitoring the response to osteoporosis treatment: the secondary prevention of fractures, and primary prevention of fractures in high-risk groups. // *Health Technol Assess.* 2014. Vol. 18. N 11. P. 1-180. doi:10.3310/hta18110
35. Magnusson P, Sharp CA, Magnusson M, [et al.] Effect of chronic renal failure on bone turnover and bone alkaline phosphatase isoforms. // *Kidney Int.* 2001. Vol. 60. N 1. P. 257–265. DOI:10.1046/j.1523-1755.2001.00794.x
36. Johnson KA, Hessle L, Vaingankar S, [et al.] Osteoblast tissue-nonspecific alkaline phosphatase antagonizes and regulates PC-1. // *Am J Physiol.* 2000. Vol. 279. N 4. P. 1365-1377. DOI:10.1152/ajpregu.2000.279.4.R1365
37. Singer FR, Eyre DR. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice // *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2008. Vol. 75. N 10. P. 739–750.
38. Maruyama Y, Taniguchi M, Kazama JJ, [et al.] A higher serum alkaline phosphatase is associated with the incidence of hip fracture and mortality among patients receiving hemodialysis in Japan. // *Nephrol Dial Transplant.* 2014. Vol. 29. N 8. P. 1532–1538. doi: 10.1093/ndt/gfu055
39. Bhattoa HP. Laboratory aspects and clinical utility of bone turnover markers. // *EJIFCC.* 2018. Vol. 29. N 2. P. 117–128.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; formerly NCCLS). Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline – Second Edition. 2001. Vol. 21. N. 19. Document GP-16A2.
41. More C, Bhattoa HP, Bettembuk P, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on hormonal status and biochemical markers of bone turnover. // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003. Vol. 106. N 2. P. 209-213.
42. Veitch SW, Findlay SC, Hamer AJ, [et al.] Changes in bone mass and bone turnover following tibial shaft fracture. // *Osteoporos Int.* 2006. Vol. 17. P. 364–372 DOI:10.1007/s00198-005-2025-y
43. Brown JE, Sim S. Evolving role of bone biomarkers in castration-resistant prostate cancer. // *Neoplasia.* 2010. Vol. 12. P. 685–696.
44. Seibel MJ. Clinical use of markers of bone turnover in metastatic bone disease. // *Nat Clin Pract Oncol.* 2005. Vol. 2. P. 504–517. DOI:10.1038/ncponc0320
45. Malmgren L, McGuigan F, Christensson A, Akesson KE. Reduced kidney function is associated with BMD, bone loss and markers of mineral homeostasis in older women: a 10-year longitudinal study. // *Osteoporos Int.* 2017. Vol. 28. N 12. P. 3463-3473. doi: 10.1007/s00198-017-4221-y
46. Zittermann A, Schwarz I, Scheld K, [et al.] Physiologic fluctuations of serum estradiol levels influence biochemical markers of bone resorption in young

- women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000. Vol. 85. N 1. P. 95-101. DOI:[10.1210/jcem.85.1.6250](https://doi.org/10.1210/jcem.85.1.6250)
47. Woitge HW, Scheidt-Nave C, Kissling C, [et al.] Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. // *J Clin Endocrinol Metab.* 1998. Vol. 83. N 1. P. 68-75.
48. Gombos Császár G, Bajsz V, Sió E, [et al.] The direct effect of specific training and walking on bone metabolic markers in young adults with peak bone mass. // *Acta Physiol Hung.* 2014. Vol. 101. P. 205-215. doi: [10.1556/APhysiol.101.2014.001](https://doi.org/10.1556/APhysiol.101.2014.001).
49. Lombardi G, Lanteri P, Colombini A, Banfi G. Blood biochemical markers of bone turnover: pre-analytical and technical aspects of sample collection and handling. // *Clin Chem Lab Med.* 2012. Vol. 50. N 5. P. 771-789. doi: [10.1515/cclm-2011-0614](https://doi.org/10.1515/cclm-2011-0614).
50. Hannon R, Eastell R. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. // *Osteoporos Int.* 2000. Vol. 11. N 6. P. 30-44.
51. Glover SJ, Garnero P, Naylor K, Rogers A, Eastell R. Establishing a reference range for bone turnover markers in young, healthy women. // *Bone.* 2008. Vol. 42. P. 623-630. doi: [10.1016/j.bone.2007.12.218](https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.12.218)
52. Kunishige M, Kijima Y, Sakai T, [et al.] Transient enhancement of oxidant stress and collagen turnover in patients with acute worsening of congestive heart failure. // *Circ J.* 2007. Vol. 71. P. 1893-1897.
53. Vasikaran S, Eastell R, Bruyere O, [et al.] IOF-IFCC Bone Marker Standards Working Group. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. // *Osteoporos Int.* 2011. Vol. 22. N 2. P. 391-420. doi:[10.1007/s00198-010-1501-1](https://doi.org/10.1007/s00198-010-1501-1)
54. Schafer AL, Vittinghoff E, Ramachandran R, Mahmoudi N, Bauer DC. Laboratory reproducibility of biochemical markers of bone turnover in clinical practice. // *Osteoporos Int.* 2010. Vol. 21. N 3. P. 439-445. doi:[10.1007/s00198-009-0974-2](https://doi.org/10.1007/s00198-009-0974-2)
55. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, [et al.] Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. // *J Bone Miner Res.* 1996. Vol. 11. P. 337-349.
56. Johansson H, Odn A, Kanis JA, [et al.] IFCC-IOF Joint Working Group on Standardisation of Biochemical Markers of Bone Turnover. A meta-analysis of reference markers of bone turnover for prediction of fracture. // *Calcif Tissue Int.* 2014. Vol. 94. N 5. P. 560-567. doi:[10.1007/s00223-014-9842-y](https://doi.org/10.1007/s00223-014-9842-y)
57. Burch J, Rice S, Yang H, [et al.] Systematic review of the use of bone turnover markers for monitoring the response to osteoporosis treatment: the secondary prevention of fractures, and primary prevention of fractures in high-risk groups. // *Health Technol Assess.* 2014. Vol. 18. P. 1-180. doi: [10.3310/hta18110](https://doi.org/10.3310/hta18110)
58. Eastell R, Szulc P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. // *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017. Vol. 5. N 11. P. 908-923. doi:[10.1016/S2213-8587\(17\)30184-5](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30184-5)
59. Bauer DC, Garnero P, Hochberg MC, [et al.] Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: the fracture intervention trial. // *J Bone Miner Res.* 2006. Vol. 21. N 2. P. 292-299. DOI:[10.1359/JBMR.051018](https://doi.org/10.1359/JBMR.051018)
60. Black DM, Delmas PD, Eastell R, [et al.] Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. // *N Engl J Med.* 2007. Vol. 356. P. 1809-1822.
61. Cummings SR, San MJ, McClung MR, [et al.] Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. // *N Engl J Med.* 2009. Vol. 361. P. 756-765. doi: [10.1056/NEJMoa0809493](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0809493).
62. Glover SJ, Eastell R, McCloskey EV, [et al.] Rapid and robust response of biochemical markers of bone formation to teriparatide therapy. // *Bone.* 2009. Vol. 45. N 6. P. 1053-1058. doi: [10.1016/j.bone.2009.07.091](https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.07.091).
63. Clowes JA, Peel NF, Eastell R. The impact of monitoring on adherence and persistence with antiresorptive treatment for postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. // *J Clin Endocrinol Metab.* 2004. Vol. 89. N 3. P. 1117-1123. DOI: [10.1210/jc.2003-030501](https://doi.org/10.1210/jc.2003-030501)
64. Delmas PD, Vrijens B, Eastell R, [et al.] Effect of monitoring bone turnover markers on persistence with risedronate treatment of postmenopausal osteoporosis. // *J Clin Endocrinol Metab.* 2007. Vol. 92. N 4. P. 1296-1304. DOI:[10.1210/jc.2006-1526](https://doi.org/10.1210/jc.2006-1526)
65. Sarkar S, Reginster J-Y, Crans GG, [et al.] Relationship between changes in biochemical markers of bone turnover and BMD to predict vertebral fracture risk. // *J Bone Miner Res.* 2004. Vol. 19. N 3. P. 394-40. DOI:[10.1359/JBMR.0301243](https://doi.org/10.1359/JBMR.0301243)
66. Jacques RM, Boonen S, Cosman F, [et al.] Relationship of changes in total hip bone mineral density to vertebral and nonvertebral fracture risk in women with postmenopausal osteoporosis treated with once-yearly zoledronic acid 5 mg: the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). // *J Bone Miner Res.* 2012. Vol. 27. N 8. P. 1627-1634. doi: [10.1002/jbmr.1644](https://doi.org/10.1002/jbmr.1644).
67. Garrett G, Sardiwal S, Lamb EJ, Goldsmith DJA. PTH—a particularly tricky hormone: why measure it at all in kidney patients? // *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013. Vol. 8. N 2. P. 299-312. doi: [10.2215/CJN.09580911](https://doi.org/10.2215/CJN.09580911)
68. Coleman R, Costa L, Saad F, [et al.] Consensus on the utility of bone markers in the malignant bone disease setting. // *Crit Rev Oncol Hematol.* 2011. Vol. 80. N 3. P. 411-432. doi: [10.1016/j.critrevonc.2011.02.005](https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2011.02.005)
69. Confavreux CB, Borel O, Lee F, [et al.] Osteoid osteoma is an osteocalcinoma affecting glucose metabolism. // *Osteoporos Int.* 2012. Vol. 23. N 5. P. 1645-1650. doi: [10.1007/s00198-011-1684-0](https://doi.org/10.1007/s00198-011-1684-0)
70. Wang J, Pei F, Tu C, Zhang H, Qiu X. Serum bone turnover markers in patients with primary bone tumors. // *Oncology.* 2007. Vol. 72. N 5-6. P. 338-342. doi: [10.1159/000113063](https://doi.org/10.1159/000113063)
71. Barnes TC, Daroszewska A, Fraser WD, Bucknall RC. Bone turnover in untreated polymyalgia rheumatica. // *Rheumatology.* 2004. Vol. 43. N 4. P. 486-490. DOI:[10.1093/rheumatology/keh072](https://doi.org/10.1093/rheumatology/keh072)

72. Krabben A, Knevel R, Huizinga TWJ, [et al.] Serum pyridinoline levels and prediction of severity of joint destruction in rheumatoid arthritis. // *J Rheumatol*. 2013. Vol. 40. N 8. P. 1303–1306. doi: 10.3899/jrheum.121392.
73. Al Nofal AA, Altayar O, BenKhadra K, [et al.] Bone turnover markers in Paget's disease of the bone: a systematic review and meta-analysis. // *Osteoporos Int*. 2015. Vol. 26. N 7. P. 1875–1891. doi: 10.1007/s00198-015-3095-0