

BIOCHEMICKÉ MONITOROVÁNÍ KOSTNÍCH ONEMOCNĚNÍ V KLINICKÉ PRAXI: PRŮMĚRNÉ HODNOTY KOSTNÍ ALKALICKÉ FOSFATÁZY, OSTEOKALCINU A 25 OH-VITAMINU D U DĚTÍ V ČESKÉ REPUBLICE

BIOCHEMICAL MONITORING OF BONE DISEASES IN CLINICAL PRACTICE: AVERAGE VALUES OF BONE ALKALINE PHOSPHATASE, OSTEOCALCINE AND 25 OH-VITAMIN D AT CHILDREN IN CZECH REPUBLIC

HULEJOVÁ H.¹⁾, MAŘÍK I.^{2, 3)}, MAŘÍKOVÁ O.^{2, 3)}

¹⁾ Revmatologický ústav, Na Slupi 4, 128 50 Praha 2

²⁾ Ambulantní centrum pro vady pohybového aparátu, Olšanská 7, 130 00 Praha 3

³⁾ Katedra antropologie a genetiky člověka, PřF UK Praha, Viničná 7, 128 43 Praha 2

SOUHRN

Sledování biochemických markerů kostní resorpce a novotvorby je důležité při posuzování růstu skeletu a kostních onemocnění u dětí i dospělých. Cílem práce bylo vytvořit referenční hodnoty markerů osteosyntézy (kostní alkalická fosfatáza, osteokalcin) a 25 OH-vitaminu D (S-kalcidiol) pro dětskou populaci v České republice. U skupiny zdravých dětí v období růstu bylo sledováno také sezónní kolísání koncentrace S-kalcidiolu v krevním séru. Ve vzorcích odebraných během zimních měsíců se prokázaly překvapivě nízké hodnoty, které vypovídají o deficitu vitamínu D nebo jsou považovány za limit pro osteomalicii (méně než 12,5 nmol/l). Vytvoření vlastních referenčních hodnot najde využití v diagnostice osteomalacie a jejích frustních forem a dále při léčení metabolických osteopatií u dětí různého věku s ohledem na roční období. Autoři navrhují preventivní podávání vitamínu D (ergokalciferol nebo cholekalciferol) nejen kojencům, ale v zimním období a na jaře i všem

batolatům, předškolním, školním dětem i dospělým pokročilejšího věku, žijícím dlouhodobě v České republice včetně dalších profylaktických opatření (dostatečný přísun kalcia, stopových kovových prvků ve stravě, motivace k dostatečnému pohybu, přiměřená insolace).

Klíčová slova: kostní alkalická fosfatáza, osteocalcin, 25 OH vitamín D (kalcidiol), křivice a osteomalacie, osteopatie, profylaxe

SUMMARY

The monitoring of biochemical markers of bone resorption and synthesis is important for evaluation of skeletal growth and bone disorders in children and adults as well. Aim of the study was to determine the reference values of osteosynthetic markers (bone alkaline phosphatase, osteocalcin) and 25 OH vitamin D for child population in Czech Republic. The seasonal fluctuations of vitamin D in the group of healthy children during the growth in blood serum were studied. There were proved surprisingly low values giving evidence of vitamin D deficiency and/or that are counted as a limit of osteomalacia (below 12,5 nmol/l) in the samples taken during winter. We prepared our own reference values which will be used for diagnostics of osteomalacia and the treatment of metabolic osteopathies in children of different age during the seasonal fluctuations. The authors propose preventive administration of vitamin D (ergocalciferol or cholecalciferol) not only to infants but in winter and in spring to all healthy children of preschool and school age and to adults of advanced age living in Czech Republic with other prophylactic precautions (abundant supplementation of calcium, trace metal elements, motivation to adequate movement, appropriate insolation, etc.).

Key words: Bone alkaline phosphatase, osteocalcin, 25 OH vitamin D (calcidiol), rickets and osteomalacia, metabolic osteopathies, prophylaxis

ÚVOD

V současné době se stalo rutinním vyšetřením stanovení markerů osteosyntézy a osteoresorpce u žen v postmenopauzálním věku spolu s vyšetřováním kostní hustoty (DEXA -dual energy X-ray absorptiometry). Vyšetřování markerů kostního obratu je cíleně indikováno po fraktuře v predilekční lokalitě (páteř, krček femuru, distální předloktí) u starší generace a při suspekci na různé vrozené a získané poruchy meta-

bolismu skeletu (tzv. metabolické osteopatie), které se vyskytují i v dětském věku. Snížené hodnoty kalcidiolu v plasmě a současné zvýšení koncentrace parathormonu spolu s urychlenou osteoresorpčí v zimním období byly v posledních letech referovány několika autory u postmenopauzálních žen, např. Dawson et al. (12). Referenční hodnoty markerů kostního obratu jsou dostupné pro dospělou populaci.

Stanovení vlastních referenčních hodnot markerů osteoresorpce v moči u dětí

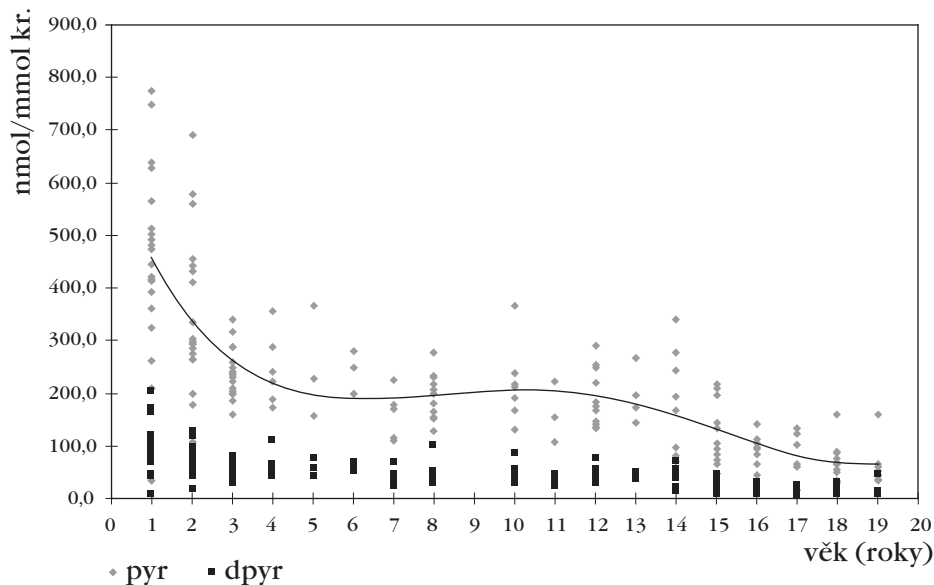
bylo součástí studie, hodnotící kostní metabolismus u některých kostních dysplasií (25). Ve shodě s některými zahraničními výzkumy dřívějšími i pozdějšími (16, 29, 24, 10, 38) naše studie potvrdila, že hodnoty močového pyridinolinu (UPD) a deoxy-

pyridinolinu (UDP) odpovídají pozitivně růstové rychlosti v dětském věku - **obr. 1 a tabulka 1, obr. 2**. Soubor pacientů tvořilo 166 dětí ve věku od 1-19 let, z toho 82 chlapců a 84 dívek. Děti byly rozděleny do skupin po 1 roce věku, v každé skupině bylo

Věk	UPD [nmol/mmol kr.]	UDP [nmol/mmol kr.]
1	462±170	98±45
2	351±143	77±27
3	237±46	52±13
4	245±62	61±23
5	251±87	58±13
6	242±33	58±7
7	159±43	42±15
8	194±42	46±19
10	218±68	51±17

Věk	UPD [nmol/mmol kr.]	UDP [nmol/mmol kr.]
11	162±47	35±10
12	190±52	43±14
13	195±46	45±6
14	183±92	38±19
15	124±58	27±13
16	93±27	20±8
17	83±40	18±8
18	68±33	13±7
19	62±38	15±12

Hladiny pyr a dpyr u zdravých dětí ve věku 1-19 let



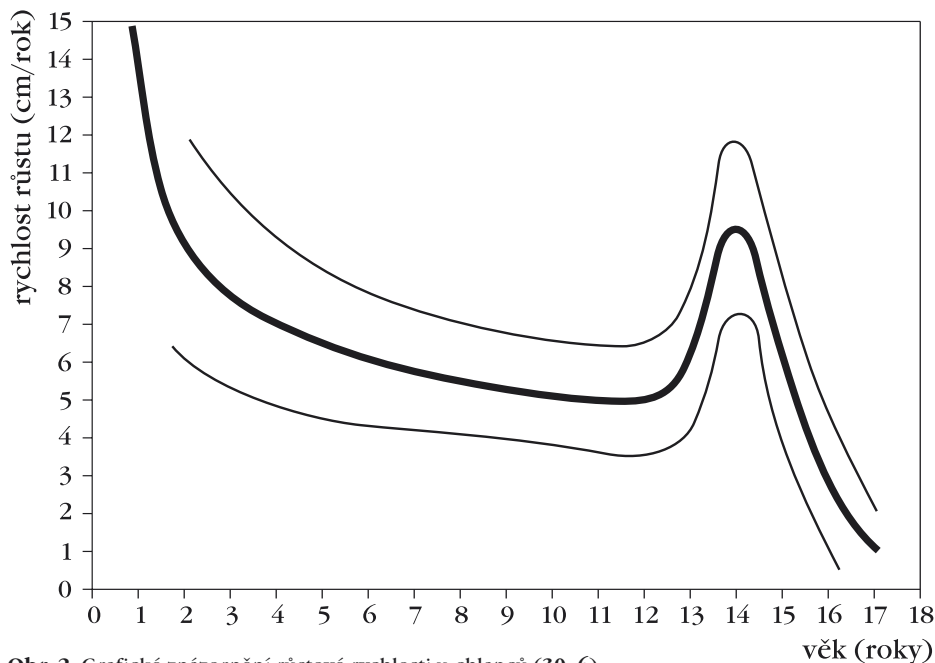
Obr. 1 a tabulka 1. Hladiny močového pyridinolinu a deoxypyridinolinu u zdravých dětí ve věku 1-19 let (25).

cca 7 jedinců. Naměřené hladiny UPD a UDPD byly nejvyšší u nejmladších dětí, potom mírně klesaly a k dalšímu, ale již menšímu vzestupu, došlo po 12. roce života. V době dospívání se hodnoty pomalu blíží kontrolním hodnotám zdravých dospělých jedinců (UPD: $41 \pm 10,6$ nmol/mmol kreatininu, UDPD: $8,1 \pm 2,8$ nmol/mmol kreatininu).

Poruchy kostního metabolismu u dětí se prokazují mimo jiné stanovením ukazatelů osteosyntézy a osteoresorpce, např. u deficitní křivice, vitamin D rezistentní křivice, onkogenní křivice, hypofosfatazie, osteogenesis imperfecta, juvenilní idiopatické osteoporózy, idiopatických osteolýz, mírné homocystinemie, homocystinurie, pseudoachondroplazie, mukopolysacharidóz a oligosacharidóz a některých jiných kost-

ních dysplazií. Do klinické praxe zavedené metody určování markerů kostního obratu našly své aplikace jak v diagnostice (27), tak i při monitorování léčby kalciotropními léky (např. vitamin D, kalcium, kalcitonin, bifosfonáty, raloxifen, parathormon a jiné).

Při léčení metabolických osteopatií u českých dětí jsme postrádali vlastní referenční hodnoty, které definují fázi osteosyntézy (osteoblastickou aktivitu). Cílem práce bylo vytvořit referenční hodnoty jednak markerů osteosyntézy (kostního isoenzymu alkalické fosfatázy – KAP a osteokalcinu – OK) a jednak 25 OH-vitaminu D (S-kalcidiol) pro dětskou populaci v České republice a srovnat s dostupnými zahraničními ukazateli. Cílem bylo i ověřit sezónní kolísání koncentrace S-kalcidiolu u skupi-



Obr. 2. Grafické znázornění růstové rychlosti u chlapců (30, 6).

ny zdravých českých dětí v období růstu. Vlastní referenční hodnoty pro S-kalcidiol najdou využití pro diagnostiku *vitamin D deficitní křivice a jejích frustních forem*, které ve většině případů unikají etiopatogenetické diagnóze (u dětí se často projevují jako tzv. genua et crura vara nebo genua valga), *osteomalacie* u dospělých a zejména starší generace, kde se osteomalacie často skrývá pod diagnózou osteoporóza (pozn. autorů) a u *metabolických osteopatií* (např. hypofosfatázie, hypofosfatemická a jiné vitamin D rezistentní křivice – viz. výše) u dětí různého věku.

Charakteristika sledovaných markerů osteosyntézy

Biochemické markery osteoresorpce a kostní novotvorby přispívají ke správnému posuzování růstu skeletu a kostních onemocnění u dětí i v dospělosti. Markery kostní novotvorby jsou přímými nebo nepřímými produkty aktivních osteoblastů v různých fázích jejich vývoje. Specifickými a nejčastěji užívanými markery jsou kostní alkalická fosfatáza nebo osteokalcin (18, 22, 1, 9).

Kostní alkalická fosfatáza (KAP) je sialoglykoprotein o mol. hm. 120000–200000, nachází se na povrchu buněk osteoblastů. Hladinu tohoto enzymu v séru je možno považovat za ukazatel aktivity osteoblastů.

Osteokalcin (OK) je také označován jako kostní Gla-bílkovina či BGP (bone Gla-protein). Je syntetizován převážně osteoblasty a má mol. hm. 5800. Tato bílkovina byla izolována z kostní tkáně (8). Její syntéza závisí jednak na přítomnosti 1,25-dihydroxy-vitaminu D, není-li tato forma D-vitaminu přítomna je syntéza OK zanedbatelná a dále na vitaminu K, který (podobně jako u prothrombinu) postrans-

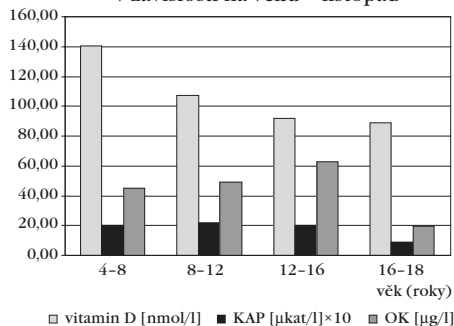
lačně zasahuje v peptidovém řetězci do přeměny zbytků glutamové kyseliny na zbytky kyseliny gama-karboxy-glutamové (Glu na Gla). Právě tato přeměna dává osteokalcinu vazebné vlastnosti pro vápník. Osteokalcin se nachází pouze v kostech, kde je zřejmě syntetizován osteoblasty. Za fyziologických poměrů organismu se nachází ve velmi nízké koncentraci i v cirkulující krvi. Zvýšení jeho hladiny signalizuje patologickou situaci v metabolismu kostní tkáně nebo vážné snížení filtrace v ledvinách. Je proto uznáván jako vhodný biochemický klinický marker. Hladina OK v krvi kolísá během dne, v noci se jeho hladina zvyšuje. Koncentrace OK je vyšší u dětí.

Vitamin D. Pojmeme vitamin D označujeme skupinu sloučenin, která je nezbytná pro minerální rovnováhu v organismu. Patří sem zejména vitamin D2 – ergokalciferol, který se vyskytuje v rostlinách, a vitamin D3 – cholekalciferol, vyskytující se v živočišných tkáních, který tvoří cca 80 % z celkové aktivity vitamínu D. Díky tomu, že cholekalciferol se syntetizuje v kůži působením UV světla (ultrafialové B fotony/290–315 nm/ pronikají do kůže, kde způsobují fotolýzu 7-dehydrocholesterolu na precholecalciferol, z něhož se formuje cholekalciferol), nesplňuje zcela definici vitamínů. Protože však jeho tvorbu v kůži ovlivňuje řada faktorů (např. zeměpisná šířka, sezónní změny, znečištění vzduchu, ozónová vrstva a také plocha osluněné kůže) a protože v některých případech není množství vitamínu D, získaného touto cestou, postačující, byl vitamin D mezi esenciálními (nepostradatelnými) nutrienty zařazen. Vitamin D obsažený v potravě se absorbuje v horní části tenkého střeva a je dále přeměňován na aktivní formy vitamínu D (převážně kalcitriol).

Kalcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol – 1,25-dihydroxyvitamin D – 1,25/OH/2D3) je biologicky nejaktivnějším metabolitem vitamínu D. Jeho koncentrace v krvi se zvyšují v důsledku účinku parathormonu (PTH), hypokalcemie a hypofosfatemie na α 1-hydroxylázu 25-hydroxyvitaminu D v ledvinách (vzniká hydroxylaci v ledvinách). Podobně jako PTH má také kalcitriol receptory na osteoblastech a stimuluje v nich tvorbu RANKL (receptor activator of NF-kappaB ligand nebo ligand receptoru aktivátor jaderného faktoru kappaB) a tím rekrutování nových osteoklastů z prekursorů. Tvorba kalcitriolu je regulována, mimo jiné, aktuální potřebou vápníku v organismu. Hladina kalcitriolu s věkem stoupá až do adolescence. Vitamin D má povahu hormonu s mnoha funkcemi. Receptory pro vitamin D byly kromě osteoblastů zjištěny i v endokrinních buňkách různých tkání, keratinocytech, svalových buňkách, neuronech, buňkách hematopoetického a imunitního systému, střevní sliznici, ledvinách a příštítné žláze. Kalcitriol vstupuje do cílové buňky a váže se na intranukleární receptorový protein. Vytvořený komplex působí na regulační sekvence chromozomální DNA a dochází k transkripci různých genů s následnou biologickou odpovědí. Postupná hydroxylace nutná ke vzniku aktivního metabolitu a způsob účinku v cílové tkáni odpovídá vzniku a funkci ostatních steroidních hormonů. Kromě udržování homeostázy kalcia se vitamin D uplatňuje v modulaci a produkci hormonů a cytokinů a při regulaci buněčné proliferace a diferenciaci (2). Podobně jako ostatní vitaminy rozpustné v tucích se i vitamin D ukládá v těle, hlavně v tukových tkáních a svalech. Zásoba vitamínu D stačí na 2–4 měsíce.

Kalcidiol (25-hydroxycholecalciferol – 25/OH/D3) nejlépe vypovídá o zásobě vitamínu D, a proto se využívá pro diagnostiku vitamínu D deficitní křivice. Naopak sérové hladiny kalcitriolu (1,25-dihydroxycholecalciferol – 1,25/OH/2D3) bývají u *vitamin D deficitní křivice (VDR)* normální nebo dokonce zvýšené (19). Při intoxikaci vitamínem D se zjišťuje vedle hyperkalcemie také zvýšení S-kalcidiolu na 500 nmol/l. Koncentrace kalcidiolu nižší než dolní hranice normálních hodnot (20 nmol/l) vypovídají o deficitu vitamínu D. Koncentrace nižší než 12,5 nmol/l jsou považovány jako limit pro osteomalacii. Vzhledem k sezónnímu kolísání expozice slunečního záření se během roku periodicky mění sérové koncentrace kalcidiolu (11, 14). U 16 % žen s revmatoidní artritidou byly hodnoty kalcidiolu v séru krevním v pásmu osteomalacie. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u pacientů s vysokou aktivitou revmatismu. Revmatoidní artritida zřejmě působí poruchu metabolismu D vitamínu, což hraje roli při vývoji osteoporózy sdružené s RA (17). Nověji bylo zjištěno, že fibroblasty vykultivované z revmatické synoviální tkáně účinně indukují osteoklastogenesi za přítomnosti vitamínu D cestou zvýšené regulace RANKL a snížené exprese osteoprotegerinu (OPG). Osteoklastogenese byla inhibována podáváním OPG. Zvýšení poměru RANKL k OPG je ovlivňováno především tumor nekrosní faktorem (TNF), který stimuluje přímo produkci cytokinu RANKL stromálními buňkami, T lymfocyty, B lymfocyty a endoteliálními buňkami. TNF také indukuje expresi makrofág – kolonie stimulujícího faktoru (M-CSF) stromálními buňkami, což je jeden z dalších obligatorních signálů pro osteoklastogenesi (32).

Sérové hladiny **vitaminu D, KAP a OK** v závislosti na věku - listopad



Obr. 3

Věk	vitamin D (nmol/l)	KAP (μkat/l)×10	OK (μg/l)
4-8	140,6±60,2	20,2±6,7	44,8±18,7
8-12	107,7±65,1	22,0±4,4	49,2±13,5
12-16	91,7±60,6	20,2±7,8	62,8±32,3
16-18	91,2±75,0	8,9±7,1	19,8±10,8

Tabulka 2

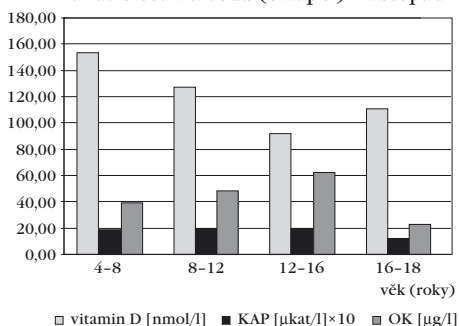
Obr. 3 a tabulka 2. Sérové hladiny vzorků 64 dětí ve věku 4-19 let odebraných během jara a léta.

METODY

Kostní izoenzym alkalické fosfatázy (KAP) byl stanoven v sérech imunochemicky metodou ELISA za použití specifických protilátek (Metra Biosystems, CA, USA). Enzymová aktivita navázané KAP byla detekována pomocí pNPP (p-nitrofenylfosfatáza) a intenzita zbarvení byla měřena při 405 nm (31).

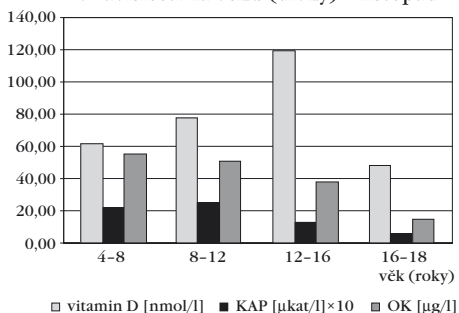
Osteokalcin (OK) byl měřen chemiluminiscenční analýsou na přístroji Immulite (DPC, USA). Vznikající emise světla je v lu-

Sérové hladiny **vitaminu D, KAP a OK** v závislosti na věku (chlapci) - listopad



Obr. 3a

Sérové hladiny **vitaminu D, KAP a OK** v závislosti na věku (dívký) - listopad



Obr. 3b

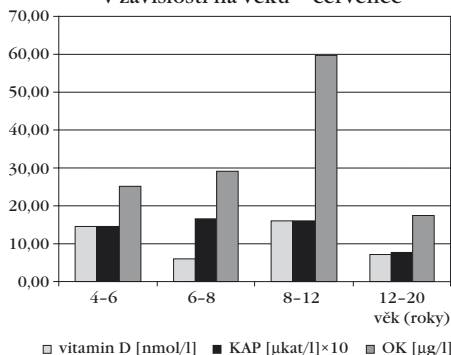
minometru zesílena fotonásobičem a je přímo úměrná množství analytu.

Vitamin D (S-kalcidiol) byl stanoven imunochemicky, kompetitivní ELISA metodou (Immunodiagnostik, Bensheim and Biomedica, Vídeň, Rakousko).

SOUBOR PACIENTŮ

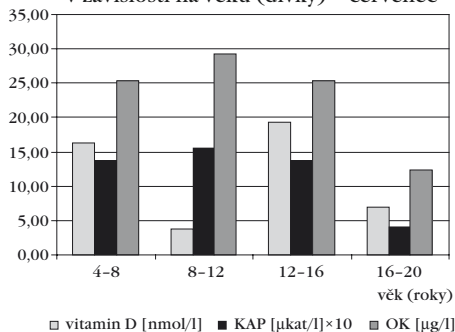
Krevní vzorky pro vyšetření KAP, OK a S-kalcidiolu byly získávány od zdravých dětí dlouhodobě sledovaných v alergolo-

Sérové hladiny vitamínu D, KAP a OK v závislosti na věku – červenec



Obr. 4

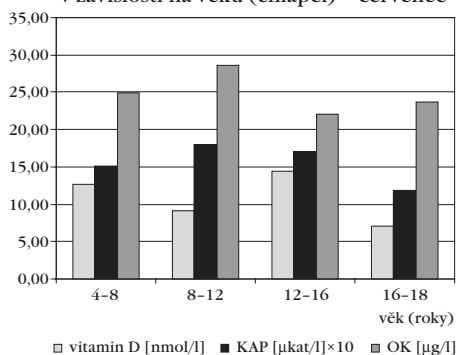
Sérové hladiny vitamínu D, KAP a OK v závislosti na věku (dívky) – červenec



Obr. 4b

gické poradně v Nemocnici Milosrdných sester sv. Karla Boromejského v Praze 1 (Nemocnice Pod Petřínem). První skupina vzorků zahrnovala 64 dětí (23 dívek, průměrný věk: $11,04 \pm 4,1$ (5–18) a 41 chlapců, průměrný věk: $11,46 \pm 4,5$ (4–19)). Vzorky byly odebrány v období květen – září 2001. Druhá skupina krevních vzorků byla shromážděna v období od listopadu 2001 do března 2002. V této skupině bylo 79 dětí (39 dívek, průměrný věk: $11,87 \pm 5,45$ (4–20) a 40 chlapců, průměrný věk:

Sérové hladiny vitamínu D, KAP a OK v závislosti na věku (chlapci) – červenec



Obr. 4a

Věk	vitamin D (nmol/l)	KAP (μ kat/l) $\times 10$	OK (μ g/l)
4-8	$14,5 \pm 12,5$	$14,5 \pm 7,1$	$25,1 \pm 10,1$
8-12	$5,9 \pm 6,2$	$16,7 \pm 3,7$	$29,0 \pm 9,0$
12-16	$16,0 \pm 15,0$	$16,1 \pm 5,3$	$59,8 \pm 14,2$
16-18	$7,0 \pm 6,8$	$7,6 \pm 5,1$	$17,5 \pm 7,0$

Tabulka 3

Obr. 4 a tabulka 3. Sérové hladiny vzorků 79 dětí ve věku 4–20 let odebíraných během zimních měsíců.

Použité zkratky: *vitamin D* – S-kalcidiol (25 OH-vitamin D, 25-hydroxycholekalCIFerol, 25/OH/D3), *KAP* – kostní isoenzym alkalické fosfatázy, *OK* – osteokalcin

$12,35 \pm 4,36$ (4–18)). Většina dětí užívala antihistaminika. Děti dlouhodobě léčené inhalačními kortikoidy a děti s abnormálními biochemickými hodnotami v krevním séru (včetně zánětlivých reaktantů) a krevním obraze nebyly do studie zařazeny.

VÝSLEDKY

Stanovená množství KAP a OK vykazují zvýšené hladiny v krevním séru v období puberty, kdy dochází k aktivaci růstu a kostního metabolismu vlivem růstového hormonu podobně jako tomu je v případě UPD a UDPD. Tyto nálezy se shodují i s výše uvedenou růstovou křivkou (**obr. 2**). Hladiny vitamínu D (S-kalcidiol) se výrazně lišily mezi soubory zdravých dětí podle toho v jakém ročním období jim byl odebrán vzorek krevního séra. Vzorky sbírané během jara a léta 2001 (laboratorní stanovení provedené v listopadu, **obr. 3**) měly hladiny vitamínu D výrazně vyšší (6,72–295,64 nmol/l) než u souboru dětí, kde byly vzorky odebírané během zimních měsíců roku 2002 (0,1–42,6 nmol/l) – **obr. 4**. Vyšší obsah vitamínu D byl naměřen u obou skupin dětí, a to ve věkovém rozmezí 4–8 let a dále pak především u dívek okolo 12 let. U každé skupiny dětí bylo provedeno samostatné hodnocení pro chlapce a pro dívky – **obr. 3a, 3b a obr. 4a, 4b**.

DISKUSE

Studie provedená na reprezentativním souboru českých dětí ověřila charakteristické pozitivní kolísání markerů kostní syntézy a resorpce v závislosti na období růstu (zvýšené hladiny KAP, OK, vitamínu D v séru, UPD a UDPD v moči /20/) a ročním období ve shodě s jinými studiemi. Např. Heidelbergská studie (39) prokázala, že specifické markery kostního obratu ukazují významný cirkaduální rytmus v přímém vztahu k změnám hormonální regulace kostní homestázy. Bylo potvrzeno sezónní kolísání koncentrace kalcidiolu v krevním séru citované i v jiných lokalitách Evropy

(viz dále). Ve vzorcích odebraných českým dětem ve věkovém rozmezí 4–20 let během zimních měsíců se prokázaly překvapivě nízké hodnoty, které vypovídají o deficitu vitamínu D anebo jsou považovány za limit pro křivici či osteomalacii (méně než 12,5 nmol/l). Současně bylo ve stejných vzorcích séra prokázáno signifikantní kolísání markerů osteosyntézy (zvýšení hladiny KAP a OK v zimních měsících).

V sousedním Německu se odhaduje vysoká incidence vitamínu D deficitní křivice (VDR) u dětí, a to 400 nových případů ročně i přes tradičně pediatrii prováděnou profylaxi vitamínem D₃ v prvních 2 letech života. Kromě křivice u zdravých dětí byla VDR diagnostikována u dětí léčených antiepileptiky, dětí s motorickým či mentálním onemocněním a dětí imigrantů. Manifestace onemocnění byla převážně v lednu až červnu. U souboru 115 pacientů 50 % mělo hypokalcemii, ve 20 % prvním projevem byly hypokalcemické křeče. Pouze 63 % mělo hypofosfatémii, ve 100 % byl sekundární hyperparathyreoidismus. Aktivita celkové ALP byla zvýšená u 107 dětí, sérové hladiny kalcidiolu (25/OH/D₃) u 106 dětí ze 115 pacientů (19).

Případy osteomalacie nebo křivice jsou popisovány u emigrantů či skupin lidí, kteří se přestěhovali za prací do jiné zeměpisné šířky, např. za severní polární kruh. Méně známé jsou případy osteomalacie u Afričanů žijících v Kanadě, USA nebo Evropě. V klinické praxi se stále setkáváme s VDR u rizikových dětí, dětí z romských rodin a u dětí s malabsorpčními syndromy (VDR může být prvním projevem coeliakie), kde je indikována parenterální aplikace vitamínu D₃ (kalcitriolu).

Je známo, že kožní pigmentace, vlivy sezónní, zeměpisná šířka, ozónová vrstva v atmosféře, okenice, vitríny, oblečení

(náboženské zvyky, zahalené tváře), opalovací krémy mající sluneční ochranný faktor aj. významnou měrou omezují množství ultrafialových B fotonů, které pronikají do kůže a působí produkci cholekalciferolu. Zejména u starých lidí nebo lidí chronicky nemocných se sníženou pohybovou aktivitou se prohlubuje insuficience vitamínu D se všemi nežádoucími důsledky pro skelet (osteoporóza, osteomalacie, fraktury v predilekčních krajínách), kardiiovaskulární aparát, regulaci krevního tlaku, sacharidový metabolismus a další systémy. Je třeba varovat i před hypervitaminózou D, s kterou se můžeme setkat zejména u dívek a mladých žen, které z módních důvodů využívají horské sluníčko ve „fit“ centrech nebo při pobytu u moře používají různé opalovací „elixíry“ (které neobsahují sluneční ochranný faktor). Rostand (33) upozornil na pozorování vyššího tlaku v souvislosti se změnami hladin vitamínu D, kalcia, parathormonu (PTH) v závislosti na zeměpisné šířce a ročním období. Uvedl hypotézu, že utlumení fotosyntézy vitamínu D v kůži je sdruženo s vysokým obsahem melaninu a zvýšenou sekrecí PTH. Tyto změny mohou stimulovat růst hladkých svalů cévní stěny a posilovat její kontraktilitu. Hypertenze se zlepšuje léčením D vitamínem. Nedostatek vitamínu D progresivně redukuje sekreci insulinu a vzniká glukózová intolerance, která se stává ireversibilní (hyperinsulinemie). Defekt vitamínu D může být odvrátitelný rizikový faktor pro *syndrom X* (5), který se manifestuje zpravidla u neobézních mužů anginou pectoris, ischemickými projevy po tělesném zatížení, koronarografie bývá normální („mikrovaskulární angina“), rozvíjí se hypertenze, kardiomyopatie, valvulární choroba. V séru je vysoká koncentrace triglyceridů a nízké hladiny HDL cholesterolu.

Přiměřené zásobení vitamínem D je nezbytné pro normální kostní homeostázu. Významné sezónní kolísání zjistili Davies et al. (11) ve Velké Británii u předškolních dětí, suplementace D vitamínu je nutná v zimě, aby se minimalizovalo riziko křivice zejména u rizikových dětí. Lethonen et al. (20) prokázali hypovitaminózu D u finských dívek ve věku 9–15 let v zimním období. Suplementace 10 ug (= 400 IU) D vitamínu za den po dobu 3 měsíců nezabránila hypovitaminóze. Španělští autoři Docio et al. (13) zjistili sezónní deficienci vitamínu D u dětí. Nejnižší limit sérových hladin kalcidiolu (25/OH/D3) u normálních dětí vyšetřených v létě byl mezi 12–20 ng/ml. Avšak 31 % z 51 zdravých dětí odebraných v zimě mělo hladiny pod 12 ng/ml a 80 % mělo hladiny nižší než 20 ng/ml. Tyto děti mají pravděpodobně suboptimální míru (stupeň) absorpce vitamínu D, jež by mohla bránit dosažení adekvátního peak bone mass. V závěru studie, která prokázala omezenou syntézu vitamínu D v zimě, doporučují ke zvážení perorální podávání vitamínu D3. Francouzští autoři Guillemant et al. (14) hodnotili hodnoty vitamínu D u 175 chlapců ve věku 13–17 let vyšetřených v září–říjnu (koncentrace 25/OH/D3 byla 58,5 +18,0 nmol/l) a v březnu–dubnu (hladiny 25/OH/D3 20,6+6,9 nmol/l). Průměrná hladina parathormonu (PTH) byla v tomto období 4,97 pmol/l, což odpovídalo dvojnásobku průměrné hodnoty. Nízké koncentrace 25(OH)D3 byly sdruženy se zvýšením PTH a snížením sérového kalcia. Obdobné nálezy snížení hodnot kalcidiolu v plasmě a současně zvýšení koncentrace PTH spolu s urychlenou osteoresorcí v zimním období byly zjištěny u postmenopauzálních žen a mužů pokročilejšího věku (12). V těchto případech u dětí i dospělých se na vzniku osteomalacie (která se u dospělých skrývá

v obrazu osteoporózy verifikované denzitometrickým vyšetřením) uplatňuje aktivace receptorů parathormonu na osteoblastech a stimulace exprese RANKL. PTH současně inhibuje produkci osteoprotegerinu (OPG) osteoblasty. Nerovnováha těchto dvou faktorů (cytokinů vznikajících v osteoblastech) ve smyslu zvýšení poměru RANKL/OPG odporuje diferenciaci osteoklastů (osteoklastogenezi) a tak aktivuje a podporuje kostní resorpci (21). K systémovým faktorům, které zvyšují poměr RANKL/OPG patří glukokortikoidy, imunosupresiva, deficiencie estrogenů a trvalé vystavení účinkům PTH. Naopak intermitentní podávání PTH stimuluje IGF-1 (insulin like growth factor 1) mRNA, což je anabolický kostní růstový faktor (23). V současnosti se již PTH úspěšně využívá k léčení nejtěžších případů osteoporózy, kde byla verifikována utlumená osteosyntéza. (markery kostní formace, histomorfometrické vyšetření). Obnovení rovnováhy poměru RANKL/OPG úpravou endogenní produkce RANKL a OPG anebo blokádou RANKL protilátkami proti RANKL či pomocí OPG-like molekul se ukazuje jako strategie léčeni a prevence patologické osteoresorpce v blízké budoucnosti (15).

Růst skeletu je charakterizován také změnami v anorganické složce, např. zvýšením koncentrací kovových stopových prvků (Zn, Sr, Pb, Cu, Co a dalších včetně vzácných zemin). Tyto prvky působí v koncových částech dlouhých kostí pravděpodobně ve formě metaloenzymů (34, 35). Pro proximální část femurů jsou zřejmé tyto fáze urychlení a stabilizace růstu projevující se změnami obsahu stopových prvků: 1. do 2 let věku urychlení, 2. 2.–10. rok stabilizace, 3. 10.–15. rok urychlení a 4. 15.–20. rok věku stabilizace. Zvýšení koncentrací kovových stopových prvků v dlouhých kostech vztažených vzhledem

k věku připomíná antropometricky určené růstové křivky (30, 4, 5) (viz též obr. 2). Na růstu se tak podílí organické a anorganické složky kostní tkáně včetně vzácných zemin (36). Přírůstky výšky dětí, na kterých se významně uplatňují stopové kovové prvky (Zn, Fe, Cu), jsou dle antropometrických zjištění největší na jaře (6). Suplementace vitamínu D v zimě a jarním období je z výše uvedených důvodů pro správné formování kostí nezastupitelná.

Pediatry pozorované varozní a valgózní deformity dolních končetin u dětí předškolního věku jsou často sledovány dětským ortopedem jako tzv. idiopatické deformity (crura et genua vara seu valga idiopathica). Tyto deformity mají kromě nadváhy, obezity a kloubní hypermobility ve vysokém procentu příčinu v porušeném kostním metabolismu. U souboru dětí s idiopatickými deformitami (25) jsme prokázali signifikantní zvýšení markerů osteoresorpce (močový pyridinolin a deoxypyridinolin) a osteosyntézy (celková ALP a její kostní isoenzym, osteokalcin). Velmi pravděpodobně se jedná o důsledky deficitu vitamínu D (frustní formy vitamin D deficitní křivice). Adekvátní léčení kalciotropními léky (nejčastěji suplementace D vitamínu a ionizovaného kalcia nebo i stopových prvků Zn, Cu, Mg), kombinované u biomechanicky závažných deformit s ortotickým léčením, vede ve většině případů k vyrovnání osy dolních končetin (27, 28).

Deformity páteře a končetin u dětí s metabolickými osteopatiemi, kam řadíme např. syndrom vrozené lomivosti kostní (osteogenesis imperfecta), juvenilní idiopatickou osteoporózu, hypofosfatazii, hyperhomocysteinemii, homocystinurii a další méně známé nosologické jednotky, které se řadí mezi sekundární osteoporotické syndromy, jsou další skupinou pacientů, kde je

nezbytné zjišťovat zvýšený kostní obrat případně deficit D vitamínu a včas zavést komplexní monitorované léčení kalciotropními léky spolu s rehabilitací a ortotickým léčením (26). Je třeba mít na paměti obecně známou poučku: „bez růstu není křivice“, kterou lze z aspektu komplexního léčení formulovat takto: „křivice v období růstu je léčitelná“, pokud známe včas její příčinu a máme dost času na ovlivnění růstu (růstových epifýz) medikamentosní, ortotickou či chirurgickou léčbou. Analogicky zjišťování kostního obratu najde využití i u všech kostních dysplazií, které jsou charakterizované patognomonicky disproportionálně zkrácenou postavou a deformitami končetin, páteře, hrudníku (i lebky), protože včasným léčením poruchy kalciofosfátového metabolismu lze příznivě ovlivnit geneticky predeterminovanou poruchu růstu včetně vývoje deformit skeletu.

ZÁVĚR

Určování markerů kostního obratu využíváme v současnosti v klinické praxi u dětí s vrozenými i získanými deformitami končetin a páteře, kde předpokládáme na základě klinicko-antropologického a rentgenologického vyšetření poruchu kostního metabolismu. Vytvoření vlastních referenčních hodnot najde využití v diagnostice osteomalacie a jejích frustních forem a dále při monitorování léčení tzv. metabolických osteopatií u dětí různého věku s ohledem na roční období.

Přiměřené zásobení vitamínem D po celý lidský život je podstatné pro zachování optimální kostní homeostázy. Cílem profylaxe je příznivě ovlivnit jednak individuálně naprogramovaný (geneticky predeterminovaný) růst dětí a nárůst vrcholu kostní hmoty

v dospělosti a jednak zpomalit úbytek kostní hmoty v období involuce jedince (z aspektu prodlužujícího se lidského věku).

Preventivní aplikace D vitamínu kojencům pediatri má v České republice tradici již od padesátých let 20. století. U skupiny zdravých českých dětí ve věku od 4 do 20 jsme zjistili významné sezónní kolísání hladin vitamínu D (kalcidiolu, 25/OH/D₃), a proto ve světle výše diskutovaným prací evropských (11, 13, 14, 19, 20) i našich (2, 3) autorů doporučujeme preventivní podávání vitamínu D (ergokalciferol nebo kolekalciferol) nejen kojencům, ale v zimním období a na jaře i všem batolatům, předškolním a školním dětem. Preventivní podávání vitamínu D je oprávněno z aspektu jeho podílu na udržování homeostázy kalcia, dále z aspektu jeho funkce při modulaci produkce hormonů a cytokinů a funkce při regulaci buněčné proliferace a diferenciaci, ale i z aspektů jeho širšího terapeutického využití např. u autoimunních chorob. Otázkou zůstává analogicky prosadit profylaxi vitamínu D u dospělých pokročilejšího věku, kde se osteomalacie zcela nepochybně skrývá ve vysokém procentu pod obrazem postmenopauzální nebo senilní osteoporózy. Dnes již rutinně prováděné denzitometrické vyšetření nerozliší úbytek minerálů u primární osteoporózy od osteomalacie. I v těchto případech je vyšetření markerů kostního obratu včetně zjištění vitamínu D (a parathormonu) rozhodující pro indikaci léčení kalciotropními léky. K racionální profylaxi křivice resp. osteomalacie patří kromě suplementace vitamínu D přes zimu (20 µg = 800 IU/den) a dostatečného přísunu kalcia (včetně stopových kovových prvků Zn, Fe, Cu) ve stravě motivace dětí i dospělých k dostatečnému pohybu (se zohledněním věku a zdravotního stavu), a přiměřené insolaci v letních měsících s vědomím rizika

solárního karcinomu kůže. Jako alternativní řešení je nutno zvážit obohacení potravin vitamínem D.

Poděkování

Autoři děkují Dětskému oddělení Nemocnice milosrdných sester sv. Karla Boromejského, zvláště paní primářce MUDr. H. Maršálkové za umožnění získat krevní vzorky pro studii a firmě BioVendor (www.biovendor.cz) za poskytnutí setu pro stanovení hladin kalcidiolu v krevním séru ELISA metodou (Immunodiagnostik, Bensheim and Biomedica, Vídeň, Rakousko).

LITERATURA

1. BERTHOLD H. K., UNVERDORBEN S., ZITTERMANN A., DEGENHARDT R., BAUMEISTER B., UNVERDORBEN M., KRONE W., VETTER H., GOUNI-BERTHOLD I.: Age-dependent effects of atorvastatin on biochemical bone turnover markers: a randomized controlled trial in postmenopausal women. *Osteoporos Int.*, 15, 2004 Jun; 6, p. 459-67.
2. BAYER M., KUTÍLEK Š., CHOVIKOVÁ E., NOVÁK J.: Nezapomínejte na vitamin D. *Čs. Pediat.*, 51, 1996, č. 1, s. 38-41.
3. BAYER M.: Křivice. In: *Metabolická onemocnění skeletu u dětí*. Ed. M. Bayer et al., Grada Publishing a.s., Praha, 2002, s. 195-215.
4. BLÁHA P. et al.: Antropometrie československé populace od 6 do 55 let. 1986, Díl I, část 1, 288 s., Díl I, část 2, s. 337.
5. BLÁHA P. et al.: Antropometrie československé populace od 6 do 55 let (Čs spartakiáda 1985) 1987, Díl II, část I, 185 s., Díl II, část 2, s. 244.
6. BOUCHALOVÁ M.: *Vývoj během dětství a jeho ovlivnění*. Avicenum Praha 1987, 384 s.
7. BOUCHER B. J.: Inadequate vitamin D status: Does it contribute to the disorders comprising syndrome X? *British Journal of Nutrition*, 79, 1998, 4, p. 315-327.
8. BOUILLON R., VAN ASSCHE F. A., VAN BAELAN H.: Influence of the vitamin D binding protein on the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J. clin. Invest.*, 67, 1981, p. 589-596.
9. BRAGA V., GATTI D., ROSSINI M., COLAPIETRO F., BATTAGLIA E., VIAPIANA O., ADAMI S.: Bone turnover markers in patients with osteogenesis imperfecta. *Bone*, 34, 2004 Jun; 6, p. 1013-6.
10. CONTI A., FERRERO S., GIAMBONA S., SARTORIO A.: Urinary free deoxypyridinoline levels during childhood. *J Endocrinol Invest*, 21, 1998, 5, p. 318-22.
11. DAVIES P. S., BATES C. J., COLE T. J. et al.: Vitamin D: seasonal and regional differences in preschool children in Great Britain. *Eur J Clin Nutr*, 53, 1999, 3, p. 195-8.
12. DAWSON HUGHES B., HARRIS S. S., DALLAL G. E.: Plasma calcidiol, season, and serum parathyroid hormone concentrations in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr*, 65, 1997, 1, p. 67-71.
13. DOCIO S., RIANCHO J. A., PEREZ A. et al.: Seasonal deficiency of vitamin D in children: a potential target for osteoporosis - preventing strategies? *J Bone Miner Res*, 13, 1998, 4, p. 544-8.
14. GUILLEMANT J., TAUPIN P., LE H. T., TARIHGT N.: Vitamin D status during puberty in French healthy male adolescents. *Osteoporos Int*, 10, 1999, 3, p. 222-5.
15. HOFBAUER L. C., KÜHNE C. A., VIERECK V.: The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskel Neuron Interact*, 4, 2004, 3, p. 268-275.
16. HUSAIN S. M., MUGHAL Z., WILLIAMS G., WARD K., SMITH C. S., DUTTON J., FRASER W. D.: Urinary excretion of pyridinium crosslinks

- in healthy 4-10 year olds. Arch Dis Child, 80, 1999 Apr; 4, p. 370-3.
17. KROGER H., PENTTILA I. M., ALHAVA E. M.: Low serum vitamin D metabolites in women with rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol, 22, 1993, 4, p. 172-7.
18. KRUPA B., MIAZGOWSKI T.: Bone mineral density and markers of bone turnover in boys with constitutional delay of growth and puberty. J Clin Endocrinol Metab, 90 2005 May; 5 p. 2828-30. Epub 2005 Feb 1.
19. KRUSE K.: Actual aspects of vitamin D deficiency rickets. Monatsschr. Kinderheilkd, 148, 2000, 6, p. 588-595
20. LEHTONEN VEROMAA M., MOTTONEN T., IRJALA K. et al. Vitamin D intake is low and hypovitaminosis D common in healthy 9 to 15 years old Finnish girls. Eur J Clin Nutr, 53, 1999, 9, p. 746-51.
21. LEE S. K., LORENZO J. A.: Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: Correlation with osteoclast-like cell formation.. Endocrinology, 140, 1999, p. 3552-3561.
22. LELLO S., PAOLETTI A. M., MIGLIACCIO S., MELIS G. B.: Bone markers: biochemical and clinical significance. Aging Clin Exp Res, 16, 2004 Jun; Suppl 3, p. 33-6.
23. LOCKLIN R. M., KHOLA S., TURNER R. T., RIGGS B. L.: Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. J Cell Biochem, 89, 2003, p. 180-190.
24. MAROWSKA J., KOBYLINSKA M., LUKASZ-KIEWICZ J., TALAJKO A., RYMKIEWICZ-KLUCZYNSKA B., LORENC R. S.: Pyridinium cross-links of collagen as a marker of bone resorption rates in children and adolescents: normal values and clinical application. Bone, 19, 1996 Dec; 6, p. 669-77.
25. MAŘÍK I., HULEJOVÁ H., ŠPAČEK P., HYÁNEK J., ADAM M., HYÁNKOVÁ E., MAZUROVÁ F., ZEMKOVÁ D.: Hodnoty některých biochemických ukazatelů kostního metabolismu u kostních dysplazií. Čs Pediat, 55, 2000, č. 1, s. 9-15.
26. MAŘÍK I.: Systémové, končetinové a kombinované vady skeletu - 2. část: kasuistická sdělení. Monografie. In: Pohybové ústrojí, 8, 2001, č. 3+4, s. 102-256.
27. MAŘÍK I., CULÍK J., CERNÝ P., ZEMKOVÁ D., ZUBINA P., HYÁNKOVÁ E.: New Limb Orthoses with High Bending Pre-Stressing. Orthopädie-Technik Quarterly, English edition III/2003, p. 7-12.
28. MAŘÍK I.: Řízená remodelace u systémových vad skeletu v období růstu: metoda volby konzervativního léčení deformit dlouhých kostí. Iatrike Techné, č. 2/2003, s. 73-77.
29. MORA S., PRINSTER C., PROVERBIO M. C., BELLINI A., DE POLI S. C., WEBER G., ABBIATI G., CHIUMELLO G.: Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty. Calcif Tissue Int, 63, 1998 Nov; 5, p. 369-74.
30. NOVÁKOVÁ M., HLOUŠKOVÁ.: Klinická antropologie, Praha, Avicenum, 1984.
31. PRICE C. P., THOMPSON P. W.: The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. Ann. Clin. Biochem., 32, 1995, p. 244-260.
32. RITCHLIN C. T., SCHWARZ E. M., O'KEEFE R. J., LOONEY R. J.: RANK, RANKL and OPG in inflammatory arthritis and periprosthetic osteolysis. J Musculoskel Neuron Interact, 4, 2004, 3, p. 276-284.
33. ROSTAND S. G.: Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences. Hypertension, 30, 1997, 2, p. 150-156.
34. SMRČKA V., JAMBOR J., SALAŠ M.: Diet in the 1st-2nd Centuries along the Northern Border of the Roman Empire (a Reconstruction on the Basis of an Analysis of Chemical Elements found

in Skeletal Remains). *Anthropologie* XXVI/1, 1988, p. 39–54.

35. SMRČKA V., JAMBOR J.: Trace Elements and the European Skeleton through 5000 Years In: Smrčka V, Tattersall I. Proceedings of the Symposium „European Dietary Trends from Past to Present“ from the IVth International Congress of Aleš Hrdlička, August 31–September 4, Prague and Humpolec 1999, *Acta Universitatis Carolinae Medica* 41/1–4, 2000, p. 59–68

36. SMRČKA V.: Trace Elements in Bone Tissue. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2005, 213 s.

37. TANNER J. M., WHITEHOUSE R. H., MARUBINI E., AND RESELE L: (1976) The adolescent growth spurt of the boys and girls of the Harpenden Growth Study. *Annals of Human Biology*, 3, 109–126.

38. VAN COEVERDEN SCCM., NETELENBOS J. C., DE RIDDER C. M. et al.: Bone metabolism markers and bone mass in healthy pubertal boys and girls. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 57, 2002 Jul, 1, p. 107–16.

39. WOITGE H. W., KNOTHE A., WITTE K., SCHMIDT GAYK H., ZIEGLER R., LEMMER B., SEIBEL M. J.: Circaannual rhythms and interactions of vitamin D metabolites, parathyroid hormone, and biochemical markers of skeletal homeostasis: a prospective study. *J Bone Miner Res*, 15, 2000 Dec, 12, p. 2443–50.

Adresa autorky:

Ing. Hana Hulejová

Revmatologický ústav

Na Slupi 4

128 50 Praha 2

e-mail: hule@revma.cz