

Peptídeos derivados do colágeno: novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo

D.M. VARGAS, L. AUDÍ, *A. CARRASCOSA

Unidad de Investigaciones Biomédicas. Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona, Espanha.*Serviço de Escolares e Adolescentes do Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d'Hebron. Universidade Autônoma de Barcelona, Barcelona, Espanha.

UNITERMOS: Marcadores ósseos. Pró-colágeno. Metabolismo ósseo.

KEY WORDS: Bone markers. Procollagen. Bone metabolism.

INTRODUÇÃO

O colágeno é a maior classe de proteína fibrosa insolúvel encontrada na matriz extracelular e nos tecidos conectivos. É uma família de proteínas relacionadas, geneticamente diferentes, cuja principal função é estrutural.

Estão classificados pelo menos 18 tipos de colágenos e suas subunidades (cadeias alfa) são codificadas por genes diferentes. Os colágenos tipo I, II e III são os mais abundantes do organismo. O tipo I está presente na pele, tendão e osso; o tipo II, em cartilagem e humor vítreo; e o tipo III, em pele e músculos.

Cada molécula de colágeno é um bastão pequeno e rígido formado pelo entrelaçamento em tríplice hélice de três cadeias polipeptídicas chamadas cadeias alfa (fig. 1). Essa estrutura protéica justifica as propriedades físicas e biológicas dos colágenos: rigidez, solidez e estabilidade.

Em nível celular, os colágenos são sintetizados como pró-colágenos. Após a secreção dessas moléculas, seus fragmentos terminais são clivados por meio de enzimas extracelulares chamadas colagenases e liberados à circulação sanguínea¹. Com a clivagem, são formadas as moléculas de colágeno que se polimerizam para formar fibrilas colágenas que, por sua vez, se agregam para constituir as fibras colágenas (fig. 2).

Diferentes tipos celulares podem sintetizar colágeno, dependendo de cada tecido. O colágeno tipo I é o principal produto de secreção do osteoblasto, célula responsável pela síntese da matriz óssea orgânica. Cerca de 90% da matriz extracelular óssea é constituída por colágeno tipo I, e os 10% restantes por proteínas não colágenas, como a osteocalcina, osteonectina e outras como alguns fatores de crescimento².

Durante o metabolismo ósseo, reabsorção e sín-

tese de tecido, são liberados à circulação fragmentos de moléculas de pró-colágenos (durante a síntese) e colágenos (durante a reabsorção) que, atualmente, podem ser dosificados em soro, plasma ou urina, por técnicas de imunoensaio.

O metabolismo ósseo, processo equilibrado em condições normais, e variável segundo as diferentes fases do desenvolvimento humano, pode alterar-se em uma série de doenças ósseas ou sistêmicas. Nessas situações, marcadores bioquímicos que refletem síntese e reabsorção ósseas podem ser úteis no diagnóstico, avaliação, tratamento e controle desses pacientes.

MARCADORES DE FORMAÇÃO ÓSSEA

Propeptídeo carboxiterminal do pró-colágeno tipo I (PICP) — Esse peptídeo é uma das porções terminais da molécula de pró-colágeno, liberado à corrente sanguínea durante a síntese do colágeno tipo I (fig. 2). Em várias situações, demonstrou-se a relação entre os níveis sanguíneos de PICP e a taxa de formação óssea^{3,4}, e vários estudos descrevem a utilidade desse peptídeo como marcador bioquímico da formação óssea ao longo do crescimento normal e em diversas doenças que evoluem com alteração do metabolismo ósseo⁵⁻⁷.

Em indivíduos normais, as concentrações séricas variam conforme a idade. Durante os três primeiros meses de vida, os níveis são elevados, diminuindo progressivamente até a idade de 4 anos, período em que se observa uma relação negativa entre os níveis de PICP e a idade, peso e altura. A partir de então, os níveis mantêm-se estáveis, sem modificação durante a puberdade, mas superiores aos níveis dos adultos^{5,8}. No entanto, estudo realizado em um grupo de adolescentes do sexo feminino, no qual as pacientes foram classificadas por estádios puberais, demonstrou aumento dos níveis de PICP nos estádios II e III de Tanner e que, ao final da puberdade, são atingidos os níveis dos adultos⁹.

Crianças portadoras de deficiência de hormônio de crescimento (GHD) apresentam níveis séricos

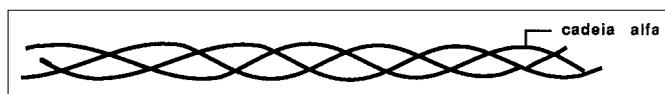


Fig. 1 — Molécula de colágeno: molécula em triplice hélice formada pelo entrelaçamento de três cadeias alfa.

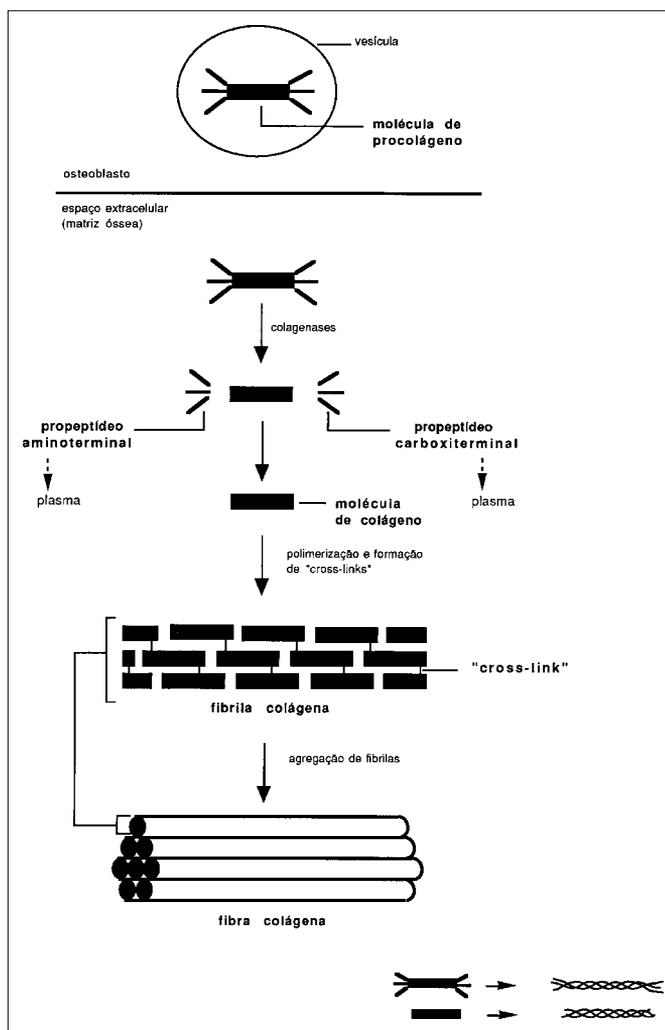


Fig. 2 — Esquema representativo da síntese do colágeno tipo I. (Adaptado de Darnell J, Lodish H, Baltimore D. (eds): Molecular cell biology. 2nd ed, Nova York, Scientific American Books, 1990; 903-51.)

baixos de PICP. Depois de três meses de tratamento com hormônio de crescimento recombinante (hGH), observa-se aumento nesses níveis com uma correlação positiva entre a velocidade de crescimento e os valores de PICP⁵. Em pacientes com doença intestinal inflamatória crônica que foram submetidos à cirurgia, observa-se aumento nos níveis de PICP que é paralelo à elevação na velocidade de crescimento¹². Pacientes pediátricos em corticoterapia, situação que pode cursar com diminuição da formação óssea, apresentam valores de PICP diminuídos^{10,11}. Considerando esses achados, observa-se

que durante a infância e a adolescência, além de marcador do metabolismo ósseo, o PICP também pode ser útil como marcador do crescimento longitudinal, podendo ser utilizado na monitorização da recuperação do crescimento. Em adultos, enfermidades metabólicas ósseas, caracterizadas por uma elevada atividade osteoblástica, como hiperparatireoidismo e doença de Paget, determinam níveis elevados de PICP, assim como a insuficiência renal crônica^{13,14}. Na esclerose sistêmica, pode ser um indicador da gravidade da doença¹⁵ e, na osteomalácia, varia conforme o tempo de evolução, com valores elevados na primeira fase da doença e dentro dos limites da normalidade na fase crônica¹⁶.

Por ser esse peptídeo de metabolização hepática, em situações de insuficiência hepática os níveis de PICP podem estar aumentados, independentemente da existência de elevações na atividade osteoblástica devido a alterações no seu aclaramento¹⁷. Nas alterações da função tireoidiana, não é um marcador fiável de atividade osteoblástica porque sua metabolização pode variar em resposta aos hormônios tireoidianos com um aumento na taxa de eliminação no hipertireoidismo e diminuição no hipotireoidismo¹⁸.

Alguns autores mencionam a baixa especificidade do PICP como marcador de atividade osteoblástica diante de outros marcadores de formação óssea, como a osteocalcina e a fosfatase alcalina óssea específica^{13,19}. É possível que a presença de colágeno tipo I em outros tecidos, além do osso, e o fato de que certa fração dos peptídeos terminais se incorporem à matriz extracelular durante o processo de formação óssea determinem essas diferenças. Por outro lado, convém lembrar que esses marcadores procedem de diferentes fases do processo de formação óssea e, portanto, as alterações nos seus níveis podem depender de mecanismos diferentes, dependendo da fisiopatologia de cada doença.

Para a determinação desse marcador, está disponível um radioimunoensaio (RIA) convencional que utiliza anticorpos policlonais³.

Propeptídeo aminoterminais do pró-colágeno tipo I (PINP) — Também liberado à circulação sanguínea durante o processo de síntese de matriz óssea (fig. 2). Uma pequena porção desse fragmento terminal pode ser incorporada durante a formação da matriz óssea e liberada, posteriormente, durante a sua degradação. No entanto, estudos comparativos revelam que os níveis de PINP apresentam uma boa correlação com os níveis de PICP²⁰. Esse marcador seria de especial relevância na avaliação da função osteoblástica em pacientes com hiper ou hipotireoidismo¹⁸, uma vez que seu metabolismo não é influenciado pelos hormônios tireoidianos.

Estão descritas duas técnicas para sua dosificação: um RIA e um ELISA^{20,21}.

MARCADORES DE REABSORÇÃO ÓSSEA

No tecido ósseo, as moléculas de colágeno estão unidas por três resíduos do aminoácido hidroxilisina, lisina ou seus derivados, de maneira que cada duas moléculas de colágeno estão unidas entre si por uma estrutura cíclica fluorescente chamada piridinolina. Os telopeptídeos (extremidades da cadeia protéica) carboxiterminal e aminoterminal do colágeno tipo I, cujas cadeias protéicas estão unidas entre si através da estrutura piridinólica (fig.3), são liberados durante a degradação do colágeno tipo I²², dando origem aos telopeptídeos carboxiterminal (ICTP) e aminoterminal do colágeno tipo I (INTP). Essas substâncias circulam no sangue e são excretados em urina.

Telopeptídeo carboxiterminal cross-linked do colágeno tipo I – Demonstrou-se, *in vivo* e *in vitro*, uma correlação significativa entre os níveis do ICTP e a taxa de degradação da matriz óssea por meio de histomorfometria^{23,24}.

Níveis elevados de ICTP são observados em condições que cursem com uma reabsorção óssea aumentada como o mieloma múltiplo²⁵, as metástases ósseas²⁶, a artrite reumatóide²⁷, o hiperparatireoidismo²⁸ e a imobilização. No mieloma múltiplo, parece ser um indicador útil do prognóstico, e em carcinomas com metástases ósseas extensas foram descritos aumentos nas metástases puramente osteolíticas e nas metástases com componente osteolítico e osteoblástico. Em mulheres pós-menopáusicas, situação caracterizada por uma elevada reabsorção óssea, observa-se uma diminuição de seus níveis depois do tratamento com estrogênio. Existem poucos dados na literatura sobre as variações nos níveis de ICTP sérico durante a infância e adolescência. Estão descritos valores elevados ao nascimento e no primeiro mês de vida, com valores 60% inferiores à idade de 1 ano²⁹. Durante a puberdade, os valores são elevados, se comparados aos valores dos adultos, mas inferiores aos valores observados na idade de 1 ano mencionados no estudo anterior⁹.

Atualmente, dispõe-se de um RIA policlonal²² e um ELISA³⁰ para sua determinação em soro e urina, respectivamente.

Telopeptídeo aminoterminal cross-linked do colágeno tipo I — Recentemente, descreveu-se um ELISA monoclonal para a quantificação desse peptídeo em urina³¹. Desde então, realizaram-se alguns estudos nos quais se verifica sua relação com a reabsorção óssea³¹⁻³³. Alguns desses estudos indi-

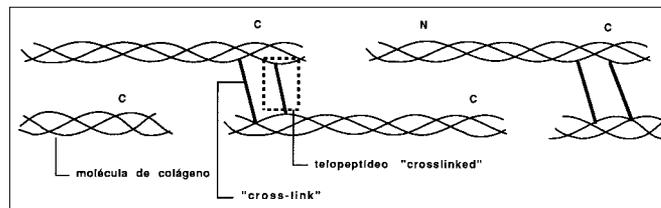


Fig. 3 - Esquema representativo de uma fibrila colágena. Os cross-links ou pontes de ligações covalentes entre duas moléculas de colágeno podem ser liberados durante a degradação do tecido ósseo unidos ao telopeptídeo (porção terminal de uma cadeia protéica) N-terminal ou C-terminal de uma cadeia alfa.

cam uma sensibilidade superior desse peptídeo como marcador da reabsorção óssea ao compará-lo com as piridinolinas, outro marcador de reabsorção óssea amplamente utilizado^{32,33}.

Estudo recente demonstrou que os níveis de INTP são muito elevados durante o primeiro ano de vida, com um descenso progressivo com a idade, sem elevações durante a puberdade. Nesse estudo, também se observou uma correlação positiva entre os níveis de INTP e a velocidade de crescimento, sugerindo que a determinação sérica do INTP também pode ser útil na monitorização do crescimento³⁴.

Em resumo, os marcadores de formação e reabsorção ósseas derivados do colágeno podem ser úteis no diagnóstico e acompanhamento de uma série de doenças caracterizadas por alterações do metabolismo ósseo.

Durante a infância e adolescência, podem ser de utilidade na monitorização do metabolismo ósseo em diversas doenças que possam prejudicar a aquisição da massa óssea, como a desnutrição, hipotireoidismo, excesso de corticosteróide, deficiência de hormônio de crescimento e deficiência de esteróides sexuais. Também pode ser útil na avaliação da recuperação do crescimento posterior a enfermidades graves ou posterior à instauração de tratamentos específicos nas deficiências hormonais.

Em adultos, podem ajudar no diagnóstico e predição de perda de massa óssea característica da menopausa e do envelhecimento, no acompanhamento de determinados tumores e na artrite reumatóide.

Convém lembrar que os valores de normalidade desses marcadores variam conforme a idade, com valores superiores durante a infância e adolescência. Isto ocorre devido ao crescimento longitudinal do esqueleto, característico dessa fase, o que proporciona um metabolismo ósseo mais ativo nessas idades. Portanto, deve-se tomar cuidado na interpretação dos resultados porque os valores de referência não são os mesmos para todas as idades.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, Guzman NA. The biosynthesis of collagen and its disorders. *New Engl J Med* 1979; 301: 13-23.
2. Triffitt JT. The special proteins of bone tissue. *Clin Sci* 1987; 72: 399-408.
3. Melkko J, Niemi S, Risteli L, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 1990; 36: 1.328-32.
4. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxy terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res* 1987; 2: 427-36.
5. Trivedi P, Risteli J, Risteli L et al. Serum concentrations of the type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr Res* 1991; 30(3): 276-80.
6. Ericson EF, Charles P, Melsen F et al. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation to bone histomorphometry. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 127-32.
7. Carey DE, Goldberg B, Ratzan SK, Rubin KR, Rowe DW. Radioimmunoassay of type I procollagen in growth hormone deficient children before and during treatment with growth hormone. *Pediatr Res* 1985; 19: 8-11.
8. Hertel NT, Stoltenberg M, Juul A et al. Serum concentrations of type I and III procollagen propeptides in healthy children and girls with central precocious puberty during treatment with gonadotropin-releasing hormone analog and cyproterone acetate. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76(4): 924-7.
9. Blumsohn A, Hannon RA, Wrate R et al. Biochemical markers of bone turnover in girls during puberty. *Clin Endocrinol* 1994; 40: 663-70.
10. Allen DB, Goldberg BD. Stimulation of collagen synthesis and linear growth by growth hormone in glucocorticoid-treated children. *Pediatrics* 1992; 89(3): 416-20.
11. Sorva R, Turpeinen M, Juntunen-Backman K, Karonen SL, Sorva A. Effects of inhaled budesonid on serum markers of bone metabolism in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90(5): 808-15.
12. Hyams JS, Moore RE, Leichtner AM, Carey DE, Golberg BD. Longitudinal assessment of type I procollagen in children with inflammatory bowel disease subjected to surgery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 68-74.
13. Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL. Utility of type I collagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone diseases. *J Bone Miner Res* 1992; 7 (11): 1.243-50.
14. Coen G, Mazzaferro S, Ballanti P et al. Procollagen type I C-terminal extension peptide in predialysis chronic renal failure. *Am J Nephrol* 1992; 12: 246-51.
15. Kikuchi K, Ihn H, Sato S et al. Serum concentration of procollagen type I carboxyterminal propeptide in systemic sclerosis. *Arch Dermatol Res* 1994; 286: 77-80.
16. Li F, Iqbal J, Wassif W, Kaddam I, Moniz C. Carboxyterminal propeptide of type I procollagen in osteomalacia. *Calcif Tissue Int* 1994; 55: 90-3.
17. Smedsrod B, Melkko J, Risteli L, Risteli J. Circulating carboxy-terminal propeptide of type I procollagen is cleared mainly via the mannose receptor in liver endothelial cells. *Biochem J* 1990; 271: 345-50.
18. Risteli L, Risteli J. Metabolism of the procollagen propeptides PICP and PIINP, indicators of collagen synthesis. *Hormones Markers* 1994; 9: 2-3.
19. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover I: theoretical considerations and clinical use in osteoporosis. *Am J Med* 1993; 95(5A): 11-6.
20. Linkhart SG, Linkhart TA, Taylor AK et al. Synthetic peptide-based immunoassay for amino-terminal propeptide of type I procollagen: application for evaluation of bone formation. *Clin Chem* 1993; 39(11): 2.254-8.
21. Davis BH, Madri JA. An immunohistochemical and serum ELISA study of type I and III procollagen aminopeptides in primary biliary cirrhosis. *Am J Pathol* 1987; 128: 265-75.
22. Risteli J, Elomaa S, Trivedi P, Mäentausta O, Rowe DW. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone resorption. *Clin Chem* 1993; 39(4): 635-40.
23. Eriksen EF, Charles P, Melen F et al. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation to bone histomorphometry. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 127-32.
24. Ljunggren Ö, Ljunghall S. Carboxyterminal telopeptide of type I collagen, ICTP, as a marker of matrix degradation in neonatal mouse calvarial bones, *in vitro*. *Biosci Reports* 1992; 12(5): 407-11.
25. Elomaa I, Virkkunen P, Risteli L, Risteli J. Serum concentration of the cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP) is a useful prognostic indicator in multiple myeloma. *Br J Cancer* 1992; 66: 337-41.
26. Kylmälä T, Tammela T, Risteli L et al. Evaluation of the effect of oral clodronate on skeletal metastases with type I collagen metabolites. A controlled trial of the Finnish Prostate Cancer Group. *Eur J Cancer* 1993; 29A: 821-5.
27. Ktaniemi A, Isomäki H, Hakala M, Risteli L, Risteli J. Increased type I collagen degradation in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994; 21: 1.593-6.
28. Piedra C, Diaz Mmartin MA, Diaz Diego EM et al. Serum concentration of carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP), serum tartrate resistant acid phosphatase, and serum levels of intact parathyroid hormone in parathyroid hyperfunction. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54: 11-5.
29. Mora S, Cella D, Puzovio M, Cairella R, Chiumello G. Radioimmunoassay for a new bone resorption marker and results for pediatric subjects. *Clin Chem*. 1993; 39(8): 1.745-7.
30. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Evaluation of an immunoassay (CrossLaps™, ELISA) for the quantification of type I collagen degradation products in urine. *Clin Chem* 1994; 40 (11PT 1): 2.022-5.
31. Hanson DA, Weis MAE, Bollen AM et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptide in urine. *J Bone Miner Res* 1992; 7(11): 1.251-8.
32. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA et al. Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res* 1994; 9(2): 135-42.
33. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC et al. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 26-9.
34. Bollen AM, Eyre DR. Bone resorption rates in children monitored by the urinary assay of collagen type I cross-linked peptides. *Bone* 1994; 15(1): 31-4.