

Anwendung von Calciumisotopenfraktionierungen zur Diagnostik der Osteoporose

Michael Müller¹, Anton Eisenhauer², Alexander Heuser², Ana Kolevica², Stefan Kloth³

¹ Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

² GEOMAR Helmholtz-Zentrum für Ozeanforschung Kiel ³ osteolabs GmbH, Kiel

Eine wichtige Rolle in der leitliniengerechten Diagnostik der Osteoporose spielt die Knochendichtemessung (BMD) unter Verwendung der "Dual-Energy-Röntgen-Absorptiometrie, DXA". Das DXA-Verfahren wird durch Laborparameter unterstützt, um Differenzialdiagnosen ausschließen zu können. Alternativ zur DXA-Messung wird die "Quantitative Computertomographie, QCT" verwendet und in geringerem Maße auch die "Ultraschall"-Methode. Obwohl DXA und QCT das Potenzial haben, Osteoporose zu erkennen, sind beide Methoden gegenüber BMD-Zu-/Abnahme relativ unempfindlich, da der Substanzverlust schwerwiegend sein muss, bevor DXA und QCT ihn erkennen können. Somit liefern beide Methoden nur eine beschränkte Momentaufnahme, ohne die Möglichkeit, auch Osteoporose-Therapien begleiten zu können.

Dr. med. Michael Müller

Facharzt für Chirurgie, Orthopädie und Unfallchirurgie, Spezielle Unfallchirurgie
Leitender Oberarzt der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
Arnold-Heller-Str. 3, Haus 18, D-24105 Kiel
E-Mail: michael.mueller@uksh.de

Dr. Stefan Kloth

osteolabs GmbH
Wischhofstrasse 1-3, D-24148 Kiel
E-Mail: sk@osteolabs.de

In der Medizin können Calciumisotope eingesetzt werden, um Störungen des Calciumhaushalts (Calciumhomöostase) durch Quantifizierung der Calciumisotopenzusammensetzung in Körperflüssigkeiten, z.B. Blut und Urin, zu bestimmen. In dieser Hinsicht spielt das Skelett eine große Rolle, da es das größte Reservoir ist, in dem 99% des Calciums gespeichert und durch die Anreicherung an leichtem Calciumisotop ⁴²Ca gekennzeichnet ist und insbesondere das niedrigste Verhältnis von ⁴⁴Ca/⁴²Ca im Vergleich zu allen anderen Organen hat.

Die Tatsache, dass Knochen durch den niedrigsten ⁴⁴Ca/⁴²Ca-Wert gekennzeichnet ist, kann insbeson-

dere dazu verwendet werden, den Verlust an Knochenmasse im Zusammenhang mit Osteoporose zu erkennen. Ein Nettoverlust an Calcium (Differenz zwischen Knochenabsorption und Knochenschwund) im Knochen führt zu einer schnellen Verringerung des ⁴⁴Ca/⁴²Ca-Verhältnisses im Blut und im Urin innerhalb weniger Stunden.

Das Calcium im Blut stammt aus drei Quellen, der Nahrung, den Nieren und dem Skelettsystem. Eine Bestimmung der Calcium-Beiträge aus diesen drei Kompartimenten ist für die Diagnose pathologischer Veränderungen des Calcium-Haushalts von Bedeutung und erlaubt simultane Aussagen über die Funktionalität der

Nieren und des Skeletts. Letzteres ist mit den traditionellen Methoden nur schwer darstellbar, jedoch ergeben sich neue Möglichkeiten durch die Bestimmung der natürlichen und nicht radioaktiven Calcium-Isotopenverhältnisse (⁴⁴Ca/⁴²Ca) im Serum und im Urin, welche eine nicht-invasive Quantifizierung der Calcium-Beiträge aus den drei Kompartimenten Nahrung, Nieren und Skelett ermöglichen. Die OSTEO-Geo Studie NCT02967978 des OSTEO-LABS-Projektes zeigt, dass insbesondere osteoporotische Zustände des Skeletts durch die Veränderungen des Calcium-Isotopenverhältnisses in Blut und Serum indiziert und durch klar definierte Schwellenwerte bestimmt sind.

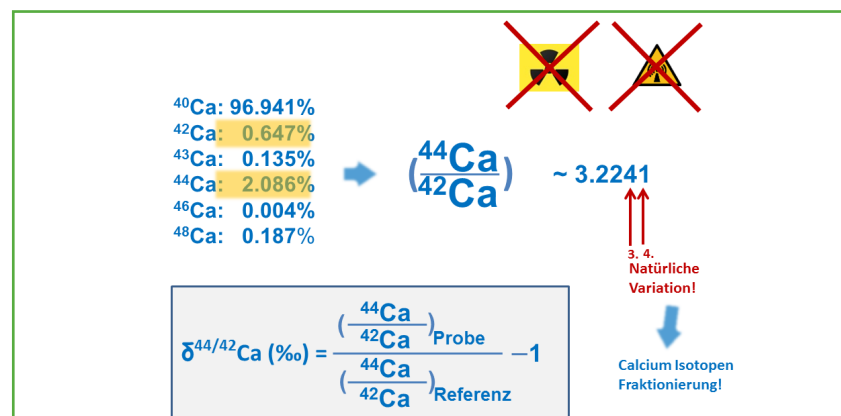


Abb. 1: Grundlagen der Calcium-Isotopenfraktionierung.

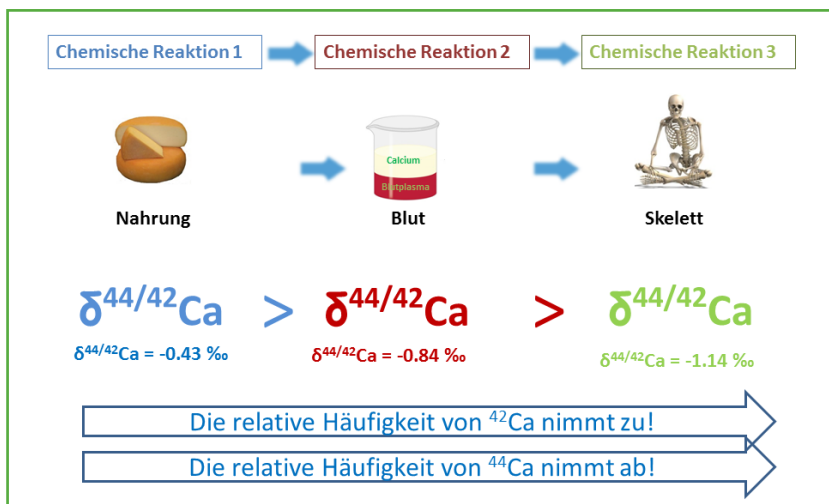


Abb. 2: Nicht-invasive Quantifizierung der Ca-Beiträge aus den 3 Kompartimenten Nahrung, Nieren und Skelettsystem.

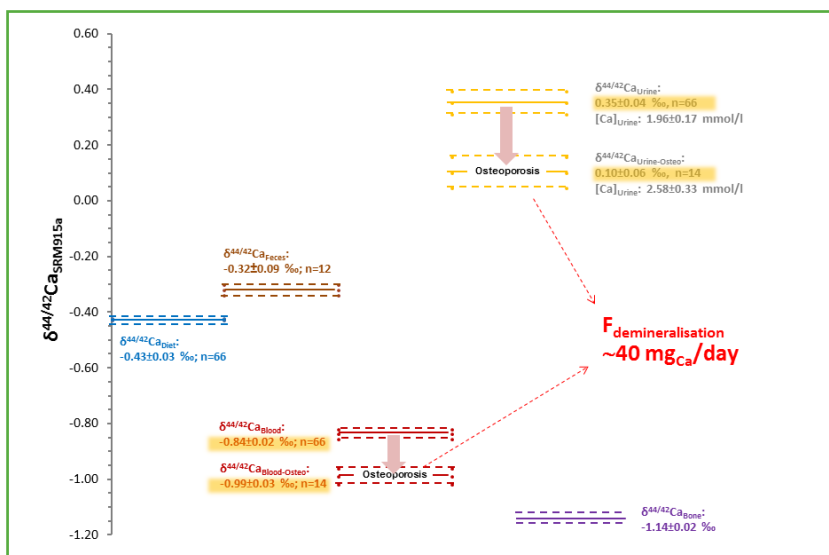


Abb. 3: Darstellung des Calcium-Isotopenwertes in den einzelnen Kompartimenten Nahrung, Urin und Blut in Abhängigkeit der bestimmten Knochendichte.

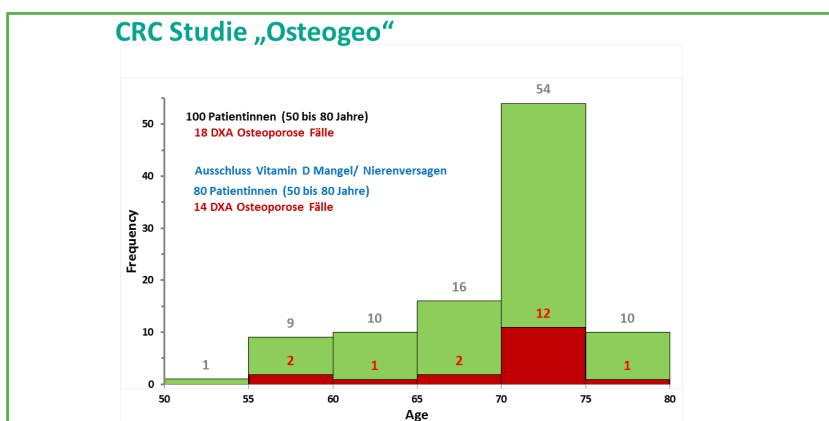


Abb. 4: Die Graphik zeigt die Verteilung der Probanden nach dem Lebensalter mit einer Häufung zwischen dem 70. und 75. Lebensjahr. In 18 Fällen konnte eine Osteoporose an Hand der DXA-Messung nachgewiesen werden.

Material und Methode

Im Rahmen einer klinischen Studie (OSTEO-Geo) wurde die Calcium-

isotopenzusammensetzung ($^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$) in Blutserum und Urin zusammen mit anderen relevanten klinischen Parametern von 100

postmenopausalen Frauen zwischen 50 und 75 Jahren bestimmt. Insbesondere wurde für alle Frauen der DXA-Wert als “Golden Standard“ bestimmt, um diesen mit den Calciumisotopenwerten direkt zu vergleichen. Osteomalazie wurde anhand der Vitamin-D-Konzentration ausgeschlossen (<25 nmol/l).

Ergebnisse

Von den 100 postmenopausalen Frauen wiesen 80 Frauen keinen Vitamin-D-Mangel auf. Aus dieser Gruppe wurden 14 Probandinnen mit DXA Werten zwischen -2.7 und -3.4 als osteoporotisch diagnostiziert. Die Messergebnisse zeigen, dass die Calciumisotopenverhältnisse sowohl im Serum als auch im Urin von Probandinnen mit DXA-diagnostizierter Osteoporose signifikant niedriger (Blutserum: $-0.99 \pm 0.05\text{‰}$; Urin: $0.10 \pm 0.06\text{‰}$) sind als bei Probandinnen ohne Befund (Blutserum: $-0.84 \pm 0.05\text{‰}$; Urin: $0.36 \pm 0.1\text{‰}$). Die DXA- und $^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ -Werte im Blutserum und im Urin sind statistisch (Spearman Rang Koeffizient) signifikant positiv korreliert (Blutserum: $r=0.32$, $p=0.004$, Urin: $r=0.25$, $p=0.025$). Weiterhin zeigen statistische ROC-Analysen Schwellenwerte auf, die eine Klassifizierung von Probandinnen mit und ohne Osteoporose anhand der Calciumisotopenwerte erlauben. Die Sensitivität für die Erkennung durch die Calciumisotope liegt dabei bei 100 % für Blutserum und bei 79 % für Urin. Für Blutserum wird eine Spezifität von ca. 55 % und für Urin von ca. 71 % im Vergleich mit dem “Golden Standard“ erreicht.

Diskussion und Fazit

Die Werte für die Spezifität reflektieren die höhere Sensitivität der Calciumisotopenwerte im Hinblick auf den Calcium-Stoffwechsel des gesamten Skeletts im Vergleich zum DXA-Verfahren, welches sich bei der Untersuchung auf spezifische Bereiche des Skeletts – Hüftgelenke und LWS – beschränkt.

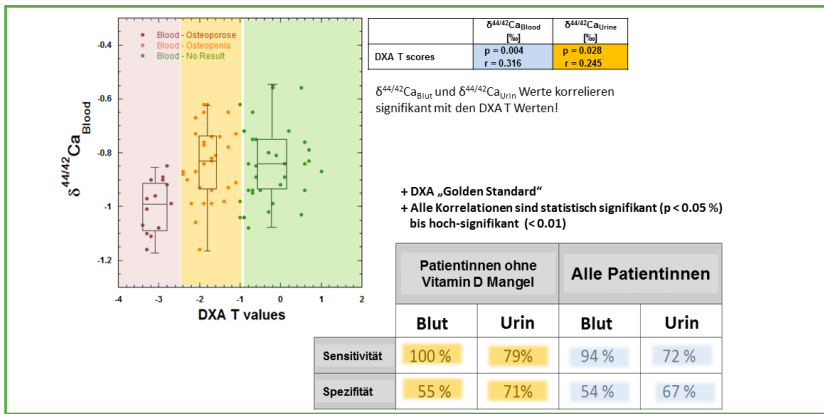


Abb. 5: Das Diagramm links zeigt für die Ca-Isotopenwerte im Blut die Vorhersage von Knochenstoffwechselstörungen (Osteoporose). Der optimierte $\delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{Blood}}$ -Wert wurde mit ca. -0,85 ‰ berechnet, welcher bei Unterschreitung indikativ für Osteoporose ist (ohne Vitamin-D-Mangel). Dieser optimierte Wert geht mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 54,5% einher. Der optimierte $\delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{Urin}}$ -Isotopenwert wurde mit ca. 0,16 ‰ berechnet, welcher bei Unterschreitung indikativ für Osteoporose ist (ohne Vitamin-D-Mangel). Dieser optimierte Wert weist eine Sensitivität von 78,6% und eine Spezifität von 71,2% auf.

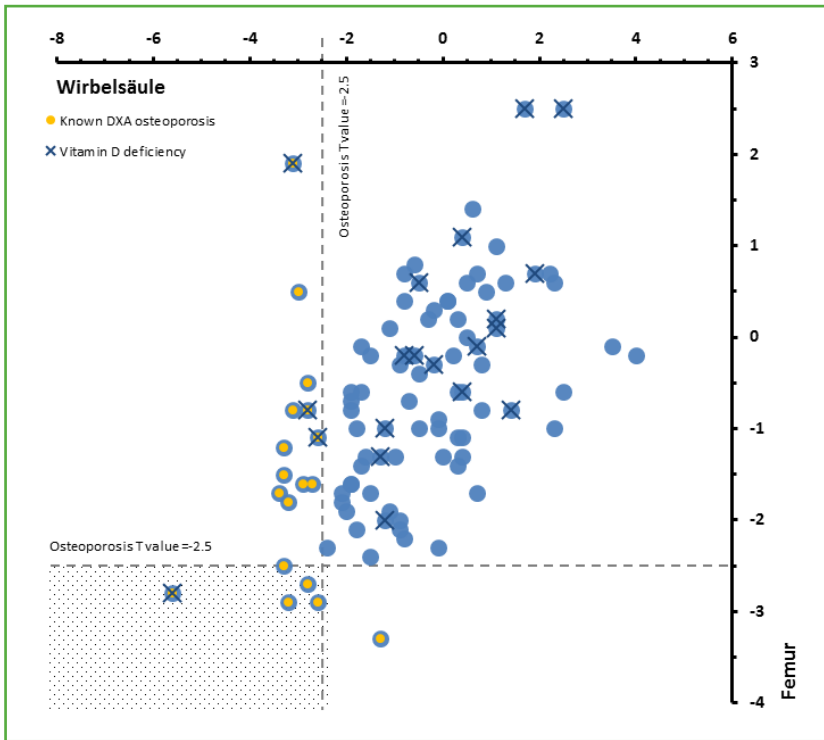


Abb. 6: Korrelationen zwischen DXA-T-Scores von Schenkelhals und Lendenwirbel für alle 100 Probandinnen. Die unterbrochenen horizontalen und vertikalen Linien repräsentieren T-Score-Schwellenwerte von -2,5 für die Diagnose von Osteoporose. DXA-diagnostizierte Osteoporose und Vitamin-D-Mangel-Probandinnen sind markiert. Von den insgesamt 18 Osteoporosefällen basieren nur 5 Fälle der diagnostizierten Osteoporose auf gemeinsamen T-Werten unterhalb des Schwellenwertes von Schenkelhals und Lendenwirbelsäule (markierter Bereich). Nur in einem Fall beruht die Osteoporose auf der Messung im Bereich des Schenkelhalses, aber in 12 Fällen allein auf den T-Werten der Lendenwirbelsäule.

Schlussfolgerung

- Die DXA- und die Calcium-Isotopen-Biomarker-Methode ergänzen sich in ihrem diagnostischen Ansatz.
- Der Calcium-Isotopen-Biomarker reflektiert den osteoporotischen

Zustand des gesamten Skeletts.

- DXA reflektiert den Zustand ausgewählter Skelettabschnitte und deren Knochenbruchrisiko.
- Patienten, die bei einem Calcium-Biomarker-Screening unterhalb des Schwellenwertes fallen, wird eine zusätzliche DXA-Messung empfohlen.
- Patienten, die bei einem Calcium-Biomarker-Screening oberhalb des Schwellenwertes fallen, benötigen keine weitere DXA-Messung.
- Der nicht-invasive Calcium-Isotopen-Biomarker eignet sich zur Medikations- und Therapiekontrolle.

Literatur

- J.L.L. Morgan, J.L. Skulan, G.W. Gordon, S.J. Romaniello, S.M. Smith, A.D. Anbar, Rapidly assessing changes in bone mineral balance using natural stable calcium isotopes, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 109(25) (2012) 9989-9994.
- J. Skulan, T. Bullen, A.D. Anbar, J.E. Puzas, L. Shackelford, A. LeBlanc, S.M. Smith, Natural calcium isotopic composition of urine as a marker of bone mineral balance, Clinical Chemistry 53(6) (2007) 1155-1158.
- A. Heuser, A. Eisenhauer, A pilot study on the use of natural calcium isotope ($\delta^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$) fractionation in urine as a proxy for the human body calcium balance, Bone 46(4) (2010) 889-896.
- A. Heuser, A. Eisenhauer, N. Gussone, B. Bock, B.T. Hansen, T.F. Nägler, Measurement of Calcium Isotopes ($d^{44}\text{Ca}$) Using a Multicollector TIMS Technique, International Journal of Mass Spectrometry 220 (2002) 385-397.
- A. Heuser, A. Eisenhauer, The calcium isotope composition ($\delta^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$) of NIST SRM 915b and NIST SRM 1486, Geostandards and Geoanalytical Research 32(3) (2008) 311-315.
- A. Eisenhauer, M. Müller, A. Heuser, A. Kolevica, C.-C. Glüer, M. Both et al., Schrenzenmeir, J. (2019). Calcium isotope ratios in blood and urine: A new biomarker for the diagnosis of osteoporosis. Bone Reports, 10(100200). doi:https://doi.org/10.1016/j.bonr.2019.100200.