

УДК 616.71'007.234'02:616.24]07:616'018.4

Е.А. Кочеткова, М.В. Волкова, Е.А. Коцюрбий

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОБМЕНА КОСТНОЙ ТКАНИ И ИХ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Владивостокский государственный медицинский университет

Ключевые слова: остеопороз, костный метаболизм, хроническая обструктивная болезнь легких, цитокины.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к числу наиболее распространенных и входит в число лидирующих по числу дней нетрудоспособности, причинам инвалидности и смертности [5]. ХОБЛ занимает третье место среди причин смерти в Европе, но только около 25% случаев заболевания диагностируется своевременно [6]. Клиническая картина болезни и ее осложнений многообразна. При наступлении стойких, не поддающихся регрессии нарушений бронхиальной проходимости, ведущими в клинической картине становятся облигатные осложнения, главным из которых является дыхательная недостаточность и индуцированные ею биохимические и иммунологические сдвиги. Некоторые варианты клинического течения ХОБЛ ограничиваются не только респираторными симптомами, но имеют и экстрапульмональные проявления. Среди последних наименее изученным является пульмоногенный остеопороз (ОП). Анализируя проблему пульмоногенных остеопений, в первую очередь обращают внимание на ятрогенный компонент, который связан с глюкокортикоидной терапией. Вместе с тем, возможные патофизиологические аспекты ремоделирования кости и ХОБЛ гораздо шире и в определенной мере обусловлены проявлением «системности» и расширением плацдарма биохимических и иммунологических нарушений, выходящих за границы органов дыхания. Именно поэтому важно определить ключевые механизмы патогенеза потери костной ткани при хронической легочной патологии.

Цель работы состояла в комплексной оценке цитокинового профиля, биохимических маркеров резорбции и формирования костной ткани в сопоставлении с ее плотностью для выяснения особенностей костного метаболизма при основных вариантах ХОБЛ.

Обследовано 95 пациентов (30 женщин, 65 мужчин), в возрасте $54,2 \pm 1,4$ года, а длительность болезни — от 4 до 22 лет. При постановке диагноза мы руководствовались рекомендациями Европейского респираторного союза (уровень снижения $ОФВ_1$ по отношению к должным величинам) [5]. Легкая форма ХОБЛ (1'я группа, $ОФВ_1 > 70\%$ от должных величин) диагностирована у 21, среднетяжелая (2'я группа,

$ОФВ_1 - 50-69\%$) — у 44, тяжелая (3'я группа, $ОФВ_1 < 50\%$) — у 30 пациентвтов.

По известным клинико-функциональным критериям было верифицировано два основных варианта ХОБЛ: преимущественно эмфизематозный и преимущественно бронхитический [11]. В клинической картине первого (57 больных) доминировали проявления эмфиземы легких. Вторым вариантом (38 больных) характеризовался типичными признаками хронического обструктивного бронхита. Оценка функции внешнего дыхания проводилась на спироанализаторе Spirosift'500 (Fucuda, Япония). Для определения обратимости бронхиальной обструкции применялась разгрузочная проба с ингаляцией 200 мкг сальбутамола, которая считалась положительной при приросте $ОФВ_1$ на 12% и более. Из обследования были исключены лица, получавшие глюкокортикоиды и имевшие другие сопутствующие заболевания, которые могли оказывать самостоятельное влияние на костный метаболизм. До начала обследования пациенты не получали антирезорбтивной терапии.

Плотность костной ткани (ПКТ) измеряли методом ультразвуковой денситометрии на аппарате Sound Scan Compact (Myriad Ultrasound System Ltd., Израиль) и выражали в стандартных отклонениях (SD) от нормативных показателей пиковой костной массы (Т-критерий). Нормальная ПКТ диагностировалась при значениях Т-критерия от +1 SD до -1 SD включительно, остеопения (преклинический ОП) — от -1 SD до -2,5 SD, клинически выраженный ОП — при SD менее -2,5. Диагностически значимыми показателями для тяжелого ОП являлись снижение Т-критерия менее -2,5 SD и наличие одного или нескольких переломов без значительной травмы в ближайшем анамнезе [3].

О состоянии костного метаболизма судили по концентрации в сыворотке крови биохимических маркеров: общей щелочной фосфатазы и остеокальцина. Последний является неколлагеновым протеином, специфичным для костной ткани, и синтезируется остеообластами. Также определялись маркеры резорбции кости: тарtrate-резистентная кислая фосфатаза (фермент, секретруемый остеокластами) и β CrossLaps (CL-компонент C-терминального телопептида коллагена I типа). У всех пациентов исследовали базальную секрецию паратгормона в сыворотке крови. Кровь забирали из локтевой вены утром после 12-часового голодания. Определение активности общей щелочной фосфатазы проводили на биохимическом анализаторе Cobas Mira S (Швейцария). Содержание остеокальцина, β CrossLaps и паратгормона в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы Hoffman La Roche (Швейцария) на аппарате Elecsis той же компании.

Определение интерлейкинов (1 β , 4, 6, 8, 10 и тумор-некротического фактора α) проводили с помощью реагентов фирмы R&D Diagnostics Inc. (США) методом иммуноферментного анализа в сэндвич-варианте. Учет результатов проводили на иммуноферментном анализаторе Multiscan (Финляндия). Количество цитокинов рассчитывали путем построения калибровочной кривой

с помощью специальной компьютерной программы. Индекс массы тела пациентов вычисляли по общепринятой формуле (масса тела в кг/квадрат роста в м). Контрольную группу составили 50 практически здоровых лиц аналогичного возраста и пола. Результаты обрабатывали в программе Microsoft Excel с использованием статистического пакета.

Исследование ПКТ показало, что у большинства пациентов с ХОБЛ развивался остеопенический синдром различной степени выраженности. Так, в целом по группе снижение ПКТ выявлено у 74 больных (77,8%). Причем остеопения диагностирована в 51,5% случаев, клинически выраженный ОП – в 16,8%, тяжелый ОП – в 9,4%. Спонтанные переломы имели место у 16,8% обследованных. Наиболее часто они локализовались в грудном отделе позвоночника и ребрах.

Значимым фактором, определяющим степень ПКТ, оказалась выраженность вентиляционных нарушений (табл. 1). Установлено, что снижение $ОФВ_1$ сопровождалось уменьшением ПКТ ($r = 0,86$). У всех больных с легким течением ХОБЛ ($ОФВ_1 - 80,6 \pm 2,2\%$) денситометрические показатели находились в пределах нормы, но были достоверно ниже контрольных значений. Показатели ПКТ во 2'й и 3'й группах ($ОФВ_1 - 64,3 \pm 1,7$ и $35,7 \pm 1,8\%$ соответственно) находились в диапазоне, характерном для остеопении, достигая минимума в постледемом случае. В зависимости от клинической формы заболевания имели место и определенные различия в структуре остеопенического синдрома. Так, по данным денситометрии, у 24,5% пациентов с хроническим обструктивным бронхитом показатели ПКТ соответствовали нормальным значениям, у 64,9% выявлена остеопения и лишь у 12,2% – ОП. В то же время все больные эмфиземой легких имели отклонения в сторону снижения ПКТ, причем в 57,8% случаев до уровня остеопении, в 42,2% – до уровня ОП. Несмотря на отсутствие существенных различий в частоте выявления преклинического ОП в обеих группах, при эмфиземе значительно возрастало число пациентов со снижением костной плотности, характерным для клинически выраженного ОП. При этом у основной части этих больных диагностирован тяжелый ОП, осложненный переломами.

Исследование биохимических маркеров ремоделирования кости служит неинвазивным методом диагностики и установления темпа потери костной массы при метаболических заболеваниях скелета. Кроме того, определение маркеров костного метаболизма использует

ся для выяснения прогноза эффективности антирезорбтивной терапии и контроля адекватности лечения. Для всех заболеваний скелета характерны те или иные нарушения процессов ремоделирования кости, что сопровождается отклонением уровня биохимических маркеров. Анализ изменений маркеров костного метаболизма существенно расширяет представления и о патофизиологических механизмах остеопенического синдрома у больных ХОБЛ. Установлено, что у обследованных концентрация β CrossLaps резко повышалась, превосходя аналогичный показатель в контроле почти в 3 раза. При этом степень повышения данного маркера зависела от клинического варианта ХОБЛ: концентрация его была максимальной у пациентов с эмфиземой ($0,94 \pm 0,04$ нг/мл, при ХОБ – $0,65 \pm 0,06$ нг/мл, $p < 0,01$).

По данным литературы известно, что β CrossLaps надежно характеризует выраженность остеопенического синдрома и имеет важное значение для идентификации больных с быстрой потерей костной массы

[9]. Это подтвердилось и в нашем исследовании. Так, установлена тесная обратная корреляционная зависимость между его уровнем и значением ПКТ как при хроническом бронхите ($r = 0,64$), так и при эмфиземе ($r = 0,78$). Резкое увеличение данного показателя в сыворотке крови и его более тесная взаимосвязь со снижением ПКТ при эмфиземе легких свидетельствует о более выраженной костной резорбции у данной категории больных. Анализ изменений концентрации β CrossLaps в зависимости от тяжести ХОБЛ показал его закономерное снижение по мере уменьшения $ОФВ_1$ ($r = 0,72$). Так, максимальный уровень данного показателя зарегистрирован у пациентов 3'й группы с резким ограничением вентиляционной функции легких. Следовательно, усугубление респираторных нарушений при ХОБЛ сопровождалось достоверным увеличением костных потерь.

Считается, что широкому использованию тартрат-резистентной кислой фосфатазы в качестве маркера костной резорбции препятствуют ее нестабильность, относительно низкая специфичность фотометрического метода, наличие в сыворотке ингибитора этого фермента [1]. Но необходимо отметить, что повышение уровня этой фосфатазы в сыворотке крови при состояниях, характеризующихся усилением костной резорбции, наличие корреляции между ее активностью и данными гистоморфометрии, позволяет использовать этот фермент в качестве дополнительного маркера для определения выраженности резорбтивных процессов [4]. Несмотря

на относительно низкую чувствительность фотометрии, в нашем исследовании у всех пациентов выявлено достоверное увеличение концентрации тартрат-резистентной кислой фосфатазы в сыворотке крови ($10,2 \pm 1,9$, в контроле – $3,1 \pm 1,2$ ЕД/л), активность которой в большей степени зависела от клинического варианта ХОБЛ. Так, у больных хроническим обструктивным бронхитом уровень фермента превышал контрольные значения более чем

Таблица 1

Уровень ПКТ и маркеры костного метаболизма у больных ХОБЛ

Степень тяжести ХОБЛ	ПКТ, SD	Общая щелочная фосфатаза, нг/мл	Остеокальцин, нг/мл	β CrossLaps, нг/мл
Легкая	$0,6 \pm 0,4$	$37,8 \pm 3,0$	$39,3 \pm 2,2$	$0,56 \pm 0,07$
Средняя	$1,4 \pm 0,1$	$38,4 \pm 3,1$	$28,2 \pm 2,6$	$0,65 \pm 0,08$
Тяжелая	$2,2 \pm 0,3$	$37,5 \pm 2,3$	$39,2 \pm 2,3$	$0,94 \pm 0,01$
Контроль	$0,7 \pm 0,3$	$64,2 \pm 2,4$	$33,1 \pm 1,6$	$0,29 \pm 0,08$

в 1,5 раза, а при эмфиземе легких – почти в 5 раз. Взаимосвязь между уровнем тартратрезистентной кислой фосфатазы и выраженностью остеопенического синдрома свидетельствовала об увеличении активности остеокластов и усилении процессов костной резорбции при ХОБЛ, наиболее заметных при эмфиземе.

Средние значения сывороточного остеокальцина по всей группе наблюдения достоверно не отличались от таковых в контроле, что указывало на сохранение функции остеобластов. Однако внутригрупповой анализ показал различия в поведении данного показателя. Так, у больных с эмфиземой легких наблюдалась тенденция к снижению концентрации остеокальцина по сравнению с контролем, в то время как при хроническом бронхите она превышала аналогичный параметр. Имелась определенная динамика уровня остеокальцина и в зависимости от тяжести ХОБЛ. При легкой форме его содержание превышало контрольные значения ($39,3 \pm 2,2$, $p < 0,05$), а при среднетяжелом течении было существенно ниже, чем при тяжелом. Вероятно, данный феномен объяснялся значительным разбросом индивидуальных значений этого протеина в сыворотке крови. При этом обращали на себя внимание особенности взаимосвязей уровней остеокальцина и β CrossLaps, которые группировались в несколько вариантов. Так, у 15 пациентов (15,8%) зарегистрировано отчетливое повышение обоих показателей по сравнению с контрольными значениями. У 10 пациентов (10,5%) снижение уровня остеокальцина сопровождалось увеличением концентрации β CrossLaps. Среди остальных больных показатели остеокальцина не отличались от контрольных значений, а уровень β CrossLaps был повышен.

Своеобразный профиль маркеров костного метаболизма при ХОБЛ свидетельствовал о различной направленности и интенсивности костного ремоделирования, которое в первом случае связано с симметричным усилением процессов резорбции и формирования, а во втором сопровождалось ослаблением созидания кости на фоне усиления ее потерь. В остальных наблюдениях имел место третий вариант нарушений костного ремоделирования, который ассоциирован с интенсификацией костной резорбции при относительно стабильном костеобразовании. Активность общей щелочной фосфатазы в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ по сравнению с контрольной группой была снижена ($37,64 \pm 1,7$ и $64,2 \pm 2,4$ ЕД/л соответственно, $p < 0,01$), но ее уровень ни в одном случае не выходил за пределы нормативных значений. Не отмечено отклонений от нормы и в базальной секреции паратормона, а также внутригрупповых различий по данному параметру.

Среди возможных причин нарушения процессов костного ремоделирования при ХОБЛ обсуждался и дефицит массы тела [2]. Известно, что по мере утяжеления ХОБЛ, нарастании дыхательной недостаточности на первый план в клинической симптоматике выходят ее осложнения, связанные с усилением катаболических процессов, одним из проявлений которых является зна-

чительная потеря массы тела, миопатия и др. [2, 5]. В связи с этим у пациентов с ХОБЛ была рассмотрена зависимость плотности кости от индекса массы тела. Диапазон данного показателя у обследованных находился от 17,9 до 23,8 кг/м². В зависимости от значения этого индекса все больные были ранжированы на 3 группы. Индекс массы тела в диапазоне от 17,5 до 18,4 кг/м², соответствующий дефициту веса, имели 9 человек (9,5%), индекс массы тела, равный 18,5–19,4 кг/м², соответствующий пониженному питанию, – 27 человек (28,4%). Нормальное соотношение роста и веса (индекс выше 19,5 кг/м²) наблюдалось у 59 пациентов (62%). Необходимо отметить, что для больных хроническим бронхитом был характерен более высокий показатель индекса ($19,6 \pm 0,2$ кг/м²) по сравнению с таковым при эмфиземе ($18,1 \pm 0,1$ кг/м²). Установлено, что у пациентов с ХОБЛ и дефицитом массы тела (индекс – $17,8 \pm 0,1$ кг/м²) частота ОП была достоверно выше, чем у пациентов с нормальным ростом и весом соотношением, а при пониженном питании усредненные денситометрические показатели соответствовали остеопении. Выявлена тесная отрицательная зависимость между индексом массы тела и концентрацией β CrossLaps в сыворотке крови ($r = -0,74$). Следовательно, низкий индекс массы тела можно считать дополнительным фактором риска остеопенического синдрома при ХОБЛ.

Комплексный анализ ПКТ и биохимических маркеров показал, что у большинства пациентов минимальные значения костной плотности совпадали с соответствующими патологическими сдвигами в костном метаболизме. Крайними проявлениями этих изменений являются остеопоретические переломы. Вместе с тем у 7 больных ХОБЛ, имевших переломы, снижение ПКТ не достигало денситометрических критериев выраженного ОП, но концентрация β CrossLaps в сыворотке крови была повышенной. Вероятно, увеличение костной резорбции существенно увеличивало риск переломов независимо от исходной, часто высокой ПКТ, что согласуется с данными литературы [3, 12]. Это можно объяснить тем, что хрупкость кости при ОП определяется не только ее плотностью, но в значительной мере нарушениями микроархитектоники, выраженность которых можно оценить с помощью биохимических маркеров [3]. Таким образом, маркеры костного метаболизма являются надежными предикторами не только темпа потери кости, но и риска развития переломов.

В последние годы появились новые данные, касающиеся связи между медиаторами воспаления, к которым относят некоторые цитокины, и ОП. Полагают, что цитокины играют важную роль и в регуляции активности остеокластов и остеобластов [2, 10]. Поэтому иммунные патологические механизмы, которые занимают определенное место в патогенезе ХОБЛ, рассматриваются с точки зрения их возможного влияния на ремоделирование кости [8]. В ответ на гипоксию в крови увеличивается концентрация интерлейкинов 1 β , 6, 8 и тучно-клеточного фактора α . По мнению ряда авторов, они инициируют остеокластопосредованную

резорбцию, причем интерлейкин'1 β является одним из самых мощных ее стимуляторов [2, 10]. Нами установлен тесная корреляция данного показателя с ПКТ ($r = 0,71$) и с маркером костной резорбции β CrossLaps ($r = 0,62$). Аналогичный уровень корреляционных отношений отмечен и для интерлейкина'6, увеличение концентрации которого по мере утяжеления ХОБЛ было максимальным. Заметно повышалась в крови и концентрация туморнекротического фактора, которая достигала пиковых значений при тяжелой ХОБЛ. Интересно отметить, что у больных с эмфиземой этот показатель был достоверно выше, чем у пациентов с бронхитом. Известно, что туморнекротический фактор' α играет важную роль и в процессе резорбции костной ткани [7, 10]. Более значительная потеря массы тела у больных с эмфиземой легких на фоне более заметных костных потерь была связана, очевидно, и с цитокиноопосредованными механизмами, что подтверждается корреляционными связями туморнекротического фактора с ПКТ ($r = 0,74$), индексом массы тела ($r = 0,84$) и β CrossLaps ($r = 0,71$). Интересно, что повышение интерлейкина'8 у всех пациентов ХОБЛ коррелировало только со значением остеокальцина ($r = 0,55$) и не было связано с уровнем β CrossLaps. На сегодняшний день способность сывороточного интерлейкина'8 влиять на костную резорбцию не доказана, а его участие в процессе костного ремоделирования обсуждается [3, 8]. По'видимому, цитокиноопосредованная костная резорбция связана не столько с парциальной гиперцитокинемией, сколько с системным синергическим действием цитокинов на костную ткань [2], что имеет место при ХОБЛ. У пациентов повышалось не только количество провоспалительных цитокинов, но достоверно изменялся системный уровень их оппозиционных пулов, что приводило к существенному дефекту цитокиновой сети. Так, в группе пациентов с ХОБЛ отмечалось заметное снижение провоспалительных цитокинов – интерлейкинов 4 и 10, которые по современным представлениям играют и определенными антиостеопоротическими эффектами, связанными со способностью ингибировать остеокластически опосредованную костную резорбцию, возможно, посредством повышения уровня внутриклеточного кальция в остеокластах [4].

Таким образом, вышеописанный профиль синтеза цитокинов при данной легочной патологии может иметь самостоятельное значение в регуляции костного метаболизма и способствовать нарушению динамического равновесия между процессами резорбции и формирования костной ткани.

Выводы

1. Снижение ПКТ диагностируется у 78% пациентов с ХОБЛ. Преклинический ОП (остеопения) встречается у 51,5% больных, а клинически выраженный – у 16,8%. Частота ОП выше при эмфиземе легких, чем при хроническом обструктивном бронхите. Степень снижения ПКТ в значительной мере определяется выраженностью бронхиальной обструкции.

- Усиление костной резорбции при относительно стабильном костеобразовании встречается у 73,6% больных ХОБЛ, усиление процессов резорбции и формирования – у 15,8%, интенсификация резорбции и ослабление костного формирования – у 10,5%.
- Индекс массы тела является дополнительным маркером остеопенического синдрома при ХОБЛ, что подтверждается тесными корреляционными связями между данным показателем и плотностью костной ткани.
- Наличие тесных корреляционных отношений между провоспалительными цитокинами, костной плотностью и маркерами костного метаболизма у больных ХОБЛ подчеркивают значительную роль цитокиноопосредованных механизмов в патогенезе пульмоногенных остеопений.

Литература

- Долгов В.В., Ермакова И.П.// *Остеопороз и остеопатии*. – 2000. – № 4. – С. 29q39.
- Насонов Е.Л., Гукасян Д.А., Насонова М.Б.// *Остеопороз и остеопатии*. – 2000. – № 2. – С. 4q7.
- Насонов Е.Л., Скрипникова И.А., Насонова В.Л. *Проблема остеопороза в ревматологии*. – М., 1997.
- Риггз Б.Л., Мелтон Л.Д. III. *Остеопороз*. – СПб., 2000.
- Чучалин А.Г. *Хронические обструктивные болезни легких*. – М., 1998.
- Barnes P.J.// *New Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 4. – P. 269q281.
- Engelen M.P., Schols A.M., Doel J.D. et al.// *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 22, No. 1. – P. 26q33.
- Ershler W.B., Harman S.M., Keller E.T.// *Dev. Comp. Immunol.* – 1997. – Vol. 21. – P. 487q499.
- Looker A.S., Bauer D.C., Chesnut C.H. III et al.// *Osteoporotic. Int.* – 2000. – Vol. 11. – P. 407q410.
- Rifas L.// *Calcif. Tissue Int.* – 1999. – Vol. 64. – P. 1q7.
- Siafakas N.M., Vermeire P., Pride N.B.// *Eur. Respir. J.* – 1995. – Vol. 8. – P. 1398q1420.
- Smith B.J., Phillips P.J., Heller R.F.// *Respirology*. – 1999. – Vol. 4. – P. 101q109.

Поступила в редакцию 07.07.03.

BIOCHEMICAL MARKERS OF BONE TISSUE METABOLISM AND THEIR CLINICAL VALUE UNDER CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNGS DISEASE

E.A. Kochetkova, M.V. Volkova, E.A. Kotsyurby
Vladivostok State Medical University

Summary – So as to research the features of bone metabolism under all main variants of the chronic obstructive lungs diseases the authors examined 95 patients (30 women and 65 men) and diagnosed diminution of bone density at 78% of patients. The rate of osteoporosis was higher when there was lungs emphysema than under chronic obstructive bronchitis, and the degree of the decrease in bone density depended on the intensity of the bronchial obstruction. At 73,6% of cases the authors detected the increase of bone resorption under relatively stable bone formation that became apparent by increasing in CrossLaps concentration. Close correlation ratios between proinflammatory cytokines, bone density and bone metabolism markers define the important role of cytokine-mediated mechanisms in pathogenesis of pulmonary osteopenia.