

УДК 616.71-007.234-06:616.24-036.12

НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ОСТЕОПОРОЗА ПРИ ТЕРМИНАЛЬНОЙ ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

Е.А. Кочеткова¹, Л.Г. Угай¹, Ю.В. Майстровская¹, В.А. Невзорова¹, Н. Фроссар², Ж. Массар²

¹Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

²Страсбургский университет им. Луи Пастера (4 rue Blaise Pasca CS 90032 IF-67070 Strasbourg Cedex, Франция)

Ключевые слова: минеральная плотность костной ткани, легкие, жировая ткань, адипокины.

С целью изучения взаимосвязи между уровнем адипокинов, экспрессией рецепторов к лептину и адипонектину в жировой ткани и минеральной плотностью костной ткани (МПКТ) при терминальной легочной патологии обследованы 47 пациентов 36–64 лет, ожидавших пересадки легких. Выявлена зависимость между МПКТ и уровнями лептина, адипонектина и резистина в сыворотке крови. Концентрация фактора некроза опухоли- α находилась в обратной связи с МПКТ, а уровни его рецепторов были выше нормы у лиц с терминальной легочной патологией. У обследованных рецепторная активность к лептину понижалась, а к адипонектину повышалась в коже и подкожно-жировой клетчатке. Кроме того, проведенное исследование установило взаимосвязь между морфофункциональными изменениями кожи и поперечно-полосатой мускулатуры, а также рецепторной активностью адипокинов и выраженностью остеопенического синдрома у лиц с терминальной легочной патологией.

Пересадка легких остается единственным способом лечения терминальной стадии легочной патологии. При этом к относительным противопоказаниям для трансплантации легких служит тяжелый остеопороз (ОП) [11]. Пациенты с тяжелой легочной патологией имеют высокий риск развития ОП и атравматических переломов [5, 13]. К факторам риска остеопенического синдрома в терминальной стадии легочной патологии относятся выраженность вентиляционных нарушений и гипоксемии, ограничение физической активности, бедный нутритивный статус, снижение мышечной и жировой массы, снижение уровня витамина D, прием глюкокортикоидов, системное воспаление. Однако большинство существующих факторов, инициирующих остеопенический синдром, не могут до конца объяснить здесь повышенный риск ОП и переломов.

В последние годы повысился интерес к продуцируемым жировой тканью адипокинам (фактору некроза опухоли-альфа, адипонектину, лептину, резистину) при легочной патологии, активность которых тесно связана не только с состоянием нутритивного статуса, но и с регуляцией остеогенеза [8]. Так, *in vitro* было показано, что лептин стимулирует костное формирование, возможно действуя на костномозговые клетки, увеличивая количество остеобластов и ингибируя дифференцировку адипоцитов. Кроме того, лептин угнетает остеокластогенез посредством снижения экспрессии рецептора активатора нуклеарного фактора каппа- β и его лиганда, повышая продукцию остеопротегерина [4]. Поэтому снижение уровня лептина может быть результатом как угнетения формирования, так и повышения резорбции кости. Высокая концентрация адипонектина оказывает

негативное влияние на кость через повышение уровня лиганда рецептора активатора нуклеарного фактора каппа- β и ингибирование продукции остеопротегерина, что приводит к усилению костной резорбции. Так, показано, что адипонектин опосредованно усиливает формирование остеокластов, стимулируя лиганд рецептора активатора нуклеарного фактора каппа- β и угнетая выработку остеопротегерина в остеобластах [8]. Кроме того, было продемонстрировано, что адипонектин может оказывать независимое негативное воздействие на костную ткань [15].

Известно, что фактор некроза опухоли- α (TNF- α) является маркером кахексии и миопатии при различных хронических заболеваниях, включая легочную патологию. Кроме того, TNF- α , активация которого при хронической обструктивной болезни легких усиливает остеокластопосредованную резорбцию, индуцируя активность зрелых остеокластов и дифференцировку их предшественников, признан сильным предиктором снижения костной плотности [2]. Более того, установлена способность этого цитокина повышать экспрессию рецептора активатора нуклеарного фактора каппа- β , что может приводить к дисбалансу в системе остеопротегерин/лиганд рецептора активатора нуклеарного фактора каппа- β и усиливать процессы резорбции костной ткани при легочной патологии [10]. У пациентов, ожидающих легочную трансплантацию, продемонстрирована позитивная корреляция между экспрессией рецепторов TNF- α и костным обменом [2].

Резистин – еще один провоспалительный цитокин, относящийся к группе адипокинов, который стимулирует синтез TNF- α и других цитокинов через активацию нуклеарного фактора каппа- β [12]. Так, показана корреляция между уровнями резистина и экспрессией рецепторов TNF- α I и II [14]. Однако роль резистина в костном обмене до сегодняшнего дня остается неясной. В этой связи изучение влияния адипокинов на костное ремоделирование при легочной патологии представляет определенный научный интерес.

Цель нашего исследования: определить возможные взаимосвязи между уровнем адипокинов (лептина, адипонектина, резистина, TNF- α и его растворимыми рецепторами I, II), экспрессией рецепторов к лептину и адипонектину в жировой ткани и минеральной плотностью костной ткани при терминальной легочной патологии.

Материал и методы. Обследовано 47 пациентов (19 женщин и 28 мужчин) 36–64 лет (средний – 54,6 \pm 7,2 года) с терминальной легочной патологией, ожидавших

Угай Людмила Григорьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ТГМУ; e-mail: lg.ugay@gmail.com

трансплантацию легких. Больные находились на обследовании в отделении пульмонологии университетской больницы г. Страсбурга (Service de Pneumologies Hôpitaux Universitaires de Strasbourg) и городской клинической больницы № 1 Владивостока с 2009 по 2012 гг. Информированное согласие было получено во всех случаях. Контрольную группу составили 45 практически здоровых добровольцев аналогичного возраста и пола.

До начала обследования пациенты не получали антирезорбтивную терапию, включая бисфосфонаты, терипаратид, кальцитонин, деносуаб или стронция ранелат. Во всех случаях исследована функция внешнего дыхания на спирографе Master Screen PFT Jaeger GmbH (Германия), проведена газометрия артериальной крови с помощью аппарата ABL 725 radiometer (Дания) в положении сидя в условиях комнатного воздуха и выполнен тест шестиминутной ходьбы.

Минеральная плотность костной ткани в поясничном отделе позвоночника (L_2-L_4) и недоминантной шейке левой бедренной кости оценивалась с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорциометрии (Hologic). Дефиниции остеопенического синдрома проводились в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения: Т-критерий (количество SD от пиковой костной массы) в диапазоне от -1 до $-2,5$ SD расценивался как остеопения; при Т-критерии ниже $-2,5$ SD – как ОП. Нормальные показатели костной ткани соответствовали Т-критерию больше -1 SD.

Объем общей жировой массы определяли с помощью специальной программы на двухэнергетическом рентгеновском денситометре. Концентрацию лептина, адипонектина, резистина, TNF- α и его растворимых рецепторов I и II исследовали в сыворотке крови в дубликаты с помощью стандартных коммерческих наборов (ELISA, Quantikine, R&D Systems, Inc.).

Забор материала для гистологического, иммунофлюоресцентного и электронно-микроскопического исследования проводился путем чрескожной тонкоигольной биопсии автоматической системой MAGNUM (Burd, Германия) одноразовыми стерильными иглами MN2010 с глубиной проникновения 22 мм и диаметром 0,9 мм.

Статистическая обработка результатов проводилась методом вариационной статистики с вычислением средних величин и их ошибок. Достоверность различий определялась с помощью критерия Стьюдента и с помощью критериев непараметрической статистики Вилкоксона и Ван-дер-Вана, так как для анализа были использованы малые объемы выборок и характер распределения данных был отличен от нормального. Для выявления связи между отдельными показателями применялся метод корреляционного анализа.

Результаты исследования. Уровень сывороточного лептина в группе пациентов с терминальной легочной патологией был ниже, а концентрация рецепторов TNF- α I и II выше, чем в контроле (табл. 1).

В основной группе выявлена достоверная позитивная корреляция между минеральной плотностью костной ткани и содержанием лептина в сыворотке крови (шейка бедра – $r=0,64$, позвоночник – $r=0,52$).

Таблица 1

Характеристика некоторых функционально-биохимических параметров у пациентов с терминальной стадией легочной патологии

Параметр*	Основная группа	Контроль
Возраст, лет	54,6 \pm 7,2	52,4 \pm 9,3
Индекс массы тела, кг/м ²	21,3 \pm 2,6	26,7 \pm 2,1
Общая жировая масса, кг	20,3 \pm 4,3	34,2 \pm 9,4
ОФВ ₁ , % от должного	35,9 \pm 22,3	97,6 \pm 8,5
Т-критерий – шейка бедра, SD	-1,7 \pm 1,4	1,9 \pm 0,6
Т-критерий – L_2-L_4 , SD	-2,1 \pm 1,1	1,9 \pm 0,7
Лептин, нг/мл	7,4 \pm 4,2	16,2 \pm 3,5
Адипонектин, нг/мл	140,9 \pm 45,3	65,2 \pm 22,6
Резистин, нг/мл	3,9 \pm 1,6	1,6 \pm 0,3
TNF- α , пг/мл	20,8 \pm 4,1	8,3 \pm 5,2
Рецептор TNF- α I, пг/мл	162,7 \pm 5,3	134,6 \pm 12,4
Рецептор TNF- α II, пг/мл	243,6 \pm 7,4	198,5 \pm 14,7

* ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю с.

Примечание: выделены ячейки со статистически значимыми различиями параметра.

Для адипонектина и TNF- α определена негативная корреляция с минеральной плотностью костной ткани как в бедренной кости, так и в позвоночнике; для адипонектина: шейка бедра – $r=-0,54$, позвоночник – $r=-0,47$, для TNF- α : шейка бедра – $r=-0,43$, позвоночник – $r=-0,41$. Уровни рецепторов TNF- α I и II и резистина позитивно коррелировали с костной плотностью только в позвоночнике ($r=0,42$, $r=0,44$ и $r=0,57$ соответственно).

Содержание сывороточного лептина напрямую коррелировало с индексом массы тела ($r=0,82$) и общей жировой массой ($r=0,84$). Напротив, уровень адипонектина демонстрировал обратную связь с индексом массы тела ($r=-0,68$), общей жировой массой ($r=-0,62$), сывороточным резистином ($r=-0,57$) и рецепторами TNF- α I и II ($r=-0,58$ и $r=-0,53$). Мы не обнаружили каких-либо взаимосвязей между концентрацией адипонектина, лептина и функциональными легочными параметрами больных, при этом установлена сильная обратная корреляционная связь между лептином и адипонектином ($r=-0,67$).

При иммуноморфологическом исследовании тканей представителей контрольной группы положительная реакция обнаруживалась в цитоплазме и на мембране клеток. Выраженная экспрессия рецепторов к лептину – 8,1 \pm 1,8 единиц оптической плотности (ЕОП) – наблюдалась во всех слоях эпидермиса и клетках дермы, в подкожно-жировой клетчатке и мышечной ткани. У пациентов с терминальной легочной патологией положительная экспрессия рецепторов к лептину обнаружена в клетках кожи и соединительной ткани (2,1 \pm 0,9 ЕОП), в мышечной ткани иммунопозитивная реакция не регистрировалась.

В контрольной группе обнаруживалось яркое свечение иммунофлюоресцентной метки к адипонектину

Таблица 2

Характеристика некоторых клинико-функциональных параметров и показателей адипокинов в зависимости от наличия или отсутствия остеопороза

Параметр	ОП	Без ОП
Возраст, лет	54,2±15,5	55,3±14,2
Индекс массы тела, кг/м ²	18,7±1,3	23,8±2,4
Общая жировая масса, кг	14,2±3,6	26,3±7,4
T-критерий – шейка бедра, SD	-2,6±0,7	-0,7±0,6
T-критерий – L ₂ -L ₄ , SD	-3,1±0,8	-0,9±0,7
Лептин, нг/мл	3,6±1,6	11,2±3,6
Адипонектин, нг/мл	187,2±22,3	94,5±31,1
Резистин, нг/мл	5,6±1,1	2,2±0,6
TNF-α, пг/мл	25,3±3,2	16,3±2,7
Рецептор TNF-α I, пг/мл	168,2±28,6	157,1±19,6
Рецептор TNF-α II, пг/мл	251,7±38,6	235,5±18,3
Рецептор к лептину, ЕОП	1,3±0,4	2,9±0,7
Рецептор к адипонектину I, ЕОП	20,6±1,2	13,6±0,8

Примечание: оценка достоверности проводилась по критериям непараметрической статистики: Вилкоксона и Ван-дер-Вана (выделены ячейки со статистически значимыми различиями параметра).

1-го типа в коже, соединительной и мышечной тканях – в цитоплазме и на мембране клеток. В отличие от рецепторов к лептину количество рецепторов к адипонектину 1-го типа клеток кожи и поперечно-полосатой мускулатуры в группе контроля составило 11,1±1,4 ЕОП. У пациентов основной группы экспрессия рецепторов к адипонектину 1-го типа обнаруживалась преимущественно в коже и соединительной ткани с яркостью свечения 117,1±0,6 ЕОП. В поперечно-полосатой мускулатуре эти рецепторы не регистрировались. Корреляционный анализ между экспрессией рецепторов к адипокинам и минеральной костной плотностью показал разнонаправленный характер связей: обратная зависимость между количеством рецепторов к адипонектину 1-го типа в клетках тканей кожи (шейка бедра – $r=-0,46$, позвоночник – $r=-0,51$) и прямая связь между количеством рецепторов к лептину (шейка бедра – $r=0,56$, позвоночник – $r=0,46$).

Основываясь на денситометрических данных, все пациенты с легочной патологией были условно разделены на две группы: с ОП (33 человека) и без ОП (14 человек). Экспрессия рецепторов к лептину в жировой ткани была значительно ниже, а концентрация адипонектина, резистина, TNF-α, а также экспрессия рецепторов к адипонектину – выше у пациентов с ОП. При этом содержание лептина, рецепторов TNF-α I и II, а также индекс массы тела и общая жировая масса достоверно между группами не различались (табл. 2).

Обсуждение полученных данных. По данным литературы, ОП наблюдается у 36–61 % больных, ожидающих пересадки легких [5, 13]. Только у 9 % кандидатов

на легочную трансплантацию обнаруживаются нормальные показатели минеральной костной плотности [13]. В нашем исследовании 91 % пациентов с терминальной легочной патологией имел остеопенический синдром, из них у 70 % денситометрические показатели были снижены до уровня ОП. Нормальные показатели минеральной плотности кости как в позвоночнике, так и в шейке бедра были только у 4 (9 %) обследованных.

По данным ряда исследований, установлена ассоциация между уровнем лептина, адипонектина в сыворотке крови и минеральной костной плотностью [3, 14, 15]. При этом обнаружена обратная зависимость между содержанием лептина и адипонектина. Так, уровень сывороточного лептина был значительно ниже, а концентрация адипонектина – выше у мужчин с тяжелой хронической обструктивной болезнью легких и ОП [14]. Уровень лептина сильно коррелировал с индексом массы тела и тощей массой тела у лиц с хронической обструктивной болезнью легких [6]. В нашем исследовании уровни сывороточного лептина, адипонектина и резистина были ассоциированы с минеральной костной плотностью в группе пациентов, ожидавших трансплантацию легких.

Интересно отметить, что выраженность эффектов лептина в разных участках скелета может быть неодинаковой. Так, при исследовании лептиндефицитных мышей было обнаружено истончение кортикального слоя на фоне повышения объема трабекул по сравнению с контрольной группой. Инфильтрация адипоцитами у этих животных была более выражена в костном мозге бедренной кости по сравнению с позвоночником [7]. Мы обнаружили более выраженную корреляцию между уровнем лептина и минеральной костной плотностью в шейке бедренной кости по сравнению с позвоночником. Аналогичные результаты продемонстрировали и S.F. Vondracek et al. [14].

TNF-α является одним из ключевых факторов, усиливающих костную резорбцию и ингибирующих костное формирование [6]. Так, в ряде работ показано повышение концентрации TNF-α и его растворимых рецепторов I и II в сыворотке крови у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких со сниженной массой тела и их ассоциация с костным обменом [1, 6]. По нашим данным, уровень TNF-α был выше у пациентов с ОП и негативно коррелировал с минеральной плотностью кости как в позвоночнике, так и в шейке бедра. Мы не нашли достоверной разницы между концентрацией рецепторов TNF-α I и II у пациентов с ОП и без него. Однако уровни рецепторов TNF-α I и II были достоверно выше у лиц с терминальной легочной патологией в целом по сравнению с группой контроля и имели позитивную корреляционную связь только с минеральной костной плотностью позвоночника.

Несмотря на то что на сегодняшний день роль резистина в формировании остеопенического синдрома неизвестна, существует несколько исследований, посвященных влиянию этого полипептида на костный

метаболизм. Так, Oh K.W. et al. продемонстрировали значительную обратную корреляцию между уровнем сывороточного резистина и минеральной плотностью позвонков поясничного отдела у мужчин среднего возраста [9]. Напротив, S.F. Vondracek et al. не нашли какой-либо связи между уровнем резистина и минеральной плотностью костной ткани у мужчин с тяжелой хронической обструктивной болезнью легких [14]. При этом была зарегистрирована прямая зависимость между уровнями резистина и рецепторов TNF- α I и II. В нашем исследовании содержание резистина было выше у пациентов с ОП и позитивно коррелировало с минеральной костной плотностью только в поясничном отделе позвоночника.

Ранее было показано, что дисбаланс в локализации и активности рецепторов к адипокинам может быть связан с воспалительными процессами при легочной патологии, в частности, при хронической обструктивной болезни легких, и свидетельствовать об их участии в развитии не только дисфункции поперечно-полосатой мускулатуры, но и структурных изменений кожи и подкожно-жировой клетчатки на фоне питательной недостаточности [1].

При терминальной легочной патологии, в отличие от нормы, рецепторная активность к лептину становится ниже, а к адипонектину – выше в коже и подкожно-жировой клетчатке. Кроме того, проведенное исследование установило взаимосвязь между морфофункциональными изменениями кожи и поперечно-полосатой мускулатуры, а также рецепторной активностью адипокинов и выраженностью остеопенического синдрома у лиц с терминальной легочной патологией.

Таким образом, остеопороз является достаточно частым тяжелым системным проявлением различной терминальной легочной патологии. Установленные ассоциации между адипокинами и плотностью костной ткани позволяют говорить о роли данных маркеров в патогенезе остеопенического синдрома при хронических заболеваниях легких. В свою очередь более глубокое понимание механизмов остеопороза при терминальной легочной патологии в дальнейшем поможет разработать новые стратегии лечения, направленные не только на снижение активности системного воспаления и нормализацию белково-катаболического состояния, но и на торможение потери костной ткани.

Литература

1. Бурцева Е.В., Невзорова В.А., Дюйзен И.В., Коцюрбий Е.А. Локализация рецепторов к лептину и адипонектину в коже и мышечной ткани при питательной недостаточности у пациентов ХОБЛ // Бюллетень Сибирского отделения РАМН. 2012. № 2. С. 54–58.
2. Bon J.M., Zhang Yi., Duncan S.R. et al. Plasma inflammatory mediators associated with bone metabolism in COPD // COPD. 2010. No. 7. С. 186–191.
3. Calikoglu M., Sahin G., Unlu A. et al. Leptin and TNF-alpha levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease and their relationship to nutritional parameters // Respiration. 2004. Vol. 71, No. 1. P. 45–50.
4. Cirmanova V., Bayer M., Starka L., Zajickova K. The effect of leptin on bone – an involving concept of action // Physiological Research. 2008. No. 57. P. 143–151.
5. Coin A., Sergi G., Marin S. et al. Predictors of low bone mineral density in elderly males with chronic obstructive pulmonary disease: the role of body mass index // Aging Male. 2010. Vol. 13, No. 2. P. 142–147.
6. Forli L., Mellbye O.J., Halse J. et al. Cytokines, bone turnover markers and weight change in candidates for lung transplantation // Pulmonary Pharmacology and Therapeutics. 2008. No. 21. P. 188–195.
7. Hamrick M.W., Pennington C., Newton D. et al. Leptin deficiency produces contrasting phenotypes in bones of the limb and spine // Bone. 2004. Vol. 34, No. 3. P. 376–383.
8. Magni P., Dozio E., Galliera E. et al. Osteoporosis and inflammation // Curr. Mol. Med. 2010. No. 10. P. 522–532.
9. Oh K.W., Lee W.Y., Rhee E.J. et al. The relationship between serum resistin, leptin, adiponectin, ghrelin levels and bone mineral density in middle-ages men // Clin. Endocrinol. 2005. Vol. 63, No. 2. P. 131–138.
10. Olesen P., Ledet T., Rasmussen L.M. Arterial osteoprotegerin: increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF- α // Diabetologia. 2005. No. 48. P. 561–568.
11. Orens J.B., Estenne M., Arcasoy S. et al. International guidelines for the selection of lung transplant candidates: 2006 Update-A consensus report from the Pulmonary Scientific Council of the International Society for Heart and Lung Transplant // J. Heart Lung Transplant. 2006. Vol. 25. P. 745–856.
12. Tilg H., Moschen A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity // Nature Reviews Immunology. 2006. Vol. 6, No. 10. P. 772–783.
13. Shane E., Silverberg S.J., Donovan D. et al. Osteoporosis in lung transplantation candidates with end stage pulmonary disease // Am. J. Med. 1996. No. 101. P. 262–269.
14. Vondracek S.F., Voelkel N.F., McDermott M.T., Valdez C. The relationship between adipokines, body composition, and bone density in men with chronic obstructive pulmonary disease // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2009. No. 4. P. 267–277.
15. Wu N., Wang Q.-P., Li H. et al. Relationships between serum adiponectin, leptin concentrations and bone mineral density, and biochemical markers in Chinese women // Clinica Chimica Acta. 2010. Vol. 411. P. 771–775.

Поступила в редакцию 09.07.2013.

NEW MECHANISMS OF OSTEOPOROSIS FORMATION IN CASE OF TERMINAL LUNG DISEASE

E.A. Kochetkova¹, L.G. Ugay¹, Yu.V. Maystrovskaya¹, V.A. Nevzorova¹, N. Frossard², J. Massard²

¹ Pacific State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russian Federation), ² Louis Pasteur University, Strasbourg (4 Rue Blaise Pascal CS 90032 IF-67070 Strasbourg Cedex France)
 Summary – The authors have examined 47 patients aged 36–64 waiting for lung transplantation to study relations between the adipokine level, expression of leptin and adiponectin receptors in fatty tissue and bone mineral density in case of terminal lung disease. As reported, there is a correlation between the bone mineral density and levels of lectin, adiponectin and resistin in blood serum. The tumour necrosis factor alpha concentration has been inversely related to the bone mineral density, and its receptor levels have exceeded the normal range in patients with terminal lung disease. The patients under examination had the leptin receptor activity decreased and the adiponectin receptor activity increased in skin and subcutaneous fat. Additionally, the studies have allowed to identify a relationship between the morphofunctional skin changes and striped muscles and the adipokine receptor activity and the intensity of osteopenic syndrome in patients with terminal lung disease.
Key words: bone mineral density, lungs, fatty tissue, adipokines.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 4, p. 72–75.