

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ОСТЕОПРОТЕГЕРИН (OPG) — ЛИГАНД РЕЦЕПТОРА-АКТИВАТОРА ЯДЕРНОГО ФАКТОРА КАППА-В (RANKL) У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ОСТЕОАРТРОПАТИЕЙ И МЕДИАКАЛЬЦИНОЗОМ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

М. В. ЯРОСЛАВЦЕВА, * И. Н. УЛЬЯНОВА, Г. Р. ГАЛСТЯН, А. В. ИЛЬИН, Л. В. НИКАНКИНА, О. В. РЕМИЗОВ

ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий, Москва
(директор — член-корр. РАМН Г. А. Мельниченко),

* Отдел стационарзамещающих технологий ФГУ ЭНЦ Росмедтехнологий

Обследовано 107 человек: 33 пациента с острой стадией диабетической остеоартропии (ДОАП); 24 пациента с хронической стадией ДОАП; 20 пациентов с выраженной диабетической нейропатией и медиакальцинозом артерий нижних конечностей, подтвержденным рентгенологически; группа контроля — 30 человек с нормальной толерантностью к глюкозе. Выявлено достоверное повышение уровня OPG в сыворотке крови у пациентов с сахарным диабетом (СД) ($p < 0,0001$). Наиболее высокие значения OPG отмечались у пациентов с медиакальцинозом ($p < 0,02$). Выявлены положительные корреляции между значениями КЩФ и OPG ($r = 0,2$, $p < 0,01$); КЩФ и RANKL ($r = 0,21$, $p < 0,01$) в группах пациентов с ДОАП. Содержание OPG обратно коррелировало с RANKL в группе пациентов с медиакальцинозом артерий нижних конечностей ($r = -0,68$, $p < 0,001$). Выявлена обратная корреляционная зависимость между значениями МПК и уровнем OPG в группе пациентов с медиакальцинозом артерий нижних конечностей ($r = -0,61$, $p < 0,002$).



Медиакальциноз артерий нижних конечностей ассоциируется со значительным снижением минеральной плотности костной ткани (МПК) стопы и является следствием диабетической нейропатии (ДН), являющейся одним из наиболее распространенных осложнений сахарного диабета (СД). В большинстве случаев эти изменения встречаются у пациентов с диабетической остеоартропатией (стопа Шарко), когда наблюдается локальный остеопороз (ОП) стоп и в 90% случаев происходит обызвествление сосудов [7].

Поиск связующего звена между повышенной резорбцией костной ткани и медиакальцинозом артерий нижних конечностей привел к выдвигению предположения, основанного на взаимодействии локальных молекулярно-биологических механизмов, в том числе между остеопротегерином (OPG) и лигандом рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL), являющихся членами семейств лигандов и рецепторов фактора некроза опухолей (TNF). Исследования последних лет свидетельствуют о том, что они играют ключевую роль в формировании, дифференцировке и активности клеток костной ткани [11, 12, 13].

Открытие OPG значительно ускорило выделение и двух других белков, входящих в число важнейших компонентов, контролирующих резорбцию кости в физиологических и патологических условиях. Так, RANKL является ключевым фактором активации остеокластов (ОК). Другой фактор, обозначаемый как рецептор-активатор ядерного фактора каппа-В (RANK), представляет собой рецептор ОК, активация которого после связывания с RANKL стимулирует резорбирующую активность этих клеток. Полагают, что характер ремоделирования костной ткани во многом определяется соотношением продукции OPG и RANKL. OPG, связывая RANKL, предотвращает активирующее влияние последнего

на RANK ОК, что снижает как остеокластогенез, так и активность ОК [1, 2].

В ряде исследований было показано, что экспрессия RANKL и остеолит индуцируются теми же факторами, что и кальцификация гладкомышечных клеток в средней оболочке артерий [8]. Механизм, посредством которого изменение скорости кровотока индуцирует патологические процессы в костных клетках, неизвестен, однако некоторые работы демонстрируют, что система OPG/RANKL играет важную роль как в процессе кальцификации артерий, так и в развитии локальной остеопении [3, 5, 9].

В этой связи представляет интерес изучение особенностей данного многофакторного взаимодействия при синдроме диабетической стопы, где дистальная полинейропатия, медиакальциноз и остеоартропатия носят сочетанный и прогрессирующий характер.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В отделении терапевтических и хирургических методов лечения диабетической стопы ФГУ ЭНЦ Росмедтехнологий было обследовано 107 человек. На основании результатов проведенного обследования все пациенты были разделены на следующие группы: 33 пациента с острой стадией диабетической остеоартропатии (ДОАП) (группа 1); 24 пациента с хронической стадией ДОАП (группа 2); 20 пациентов с выраженной диабетической полинейропатией (ДН) и медиакальцинозом артерий нижних конечностей (группа 3). Группу контроля составили 30 человек с нормальной толерантностью к глюкозе (4 группа).

Клиническая характеристика исследуемых групп представлена в таблице 1.

Контрольная группа включалась в исследование на этапе определения биохимических маркеров костного метаболизма и липидного обмена.

Таблица 1

Клиническая характеристика исследуемых групп

Параметр	1 группа (острая стадия ДОАП)	2 группа (хроническая стадия ДОАП)	3 группа (медиакальциноз артерий нижних конечностей)	4 группа (контроль)
Число, n	33	24	20	30
Возраст, M (min—max)	43,5 18—66	50,2 28—68	58,3 40—82	23,5 23—45
Пол, М/Ж	18/15	13/11	9/11	8/22
СД1/СД2	17/16	12/12	4/16	—
Длительность СД, M (min—max)	14,9 5—35	19,8 6—43	18,7 5—42	—
Длительность ДОАП, M (min—max)	3,4 1—6 месяцев	6,4 2—15 лет	—	—
HbA1c, % M±SD	9,95±1,66	9,52±1,53	9,47±1,47	—

Все пациенты с ДОАП (1 и 2 группы) имели медиакальциноз артерий нижних конечностей, выявляемый рентгенологически.

С целью оценки компенсации углеводного обмена пациентам с СД определялся уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) (анализатор «Diastat» «BioRad», США).

Присутствие и степень выраженности ДН оценивали с помощью определения различных видов чувствительности. Вибрационную чувствительность измеряли градуированным камертоном (Kircher&Wilhelm, Германия) в стандартных точках (медиальная лодыжка и основание 1 пальца). Тактильную чувствительность определяли с помощью монофиламента массой 10 г (North Coast Medical, Inc., США) в стандартных точках. Температурную чувствительность оценивали с помощью стандартного цилиндра Тип-терм (Neue Medizintechnik GmbH, Германия). Пациентам с острой и хронической стадиями ДОАП проводилась инфракрасная термометрия стоп и голеностопных суставов.

В качестве маркеров костеобразования в сыворотке крови иммуноферментным методом определяли уровень активности костного изофермента щелочной фосфатазы (КЩФ), OPG и RANKL. Наборы: Alkphase-B, Metra biosystems, США; Osteoprotegerin, Biomedica, Австрия; sRANKL, Biomedica, Австрия, соответственно.

Для оценки состояния костных структур нижних конечностей и выявления медиакальциноза артерий нижних конечностей пациентам с СД проводилась цифровая рентгенография пораженных суставов в прямой и боковой проекциях на аппарате «Axiom Iconos R 200» (Siemens, Германия).

В качестве метода диагностики острой стадии ДОАП 10 пациентам была проведена мультиспиральная компьютерная томография пораженных суставов, аппарат «Sometom Emotion 16» (Siemens, Германия, ФРГ).

Для изучения МПК у пациентов с остеоартропатией и медиакальцинозом проводилось денситометрическое исследование с помощью двойной энергетической рентгеновской абсорбциометрии (аппарат «Prodigy», Lunar, США). Определялась МПК в поясничном сегменте L₁—L₄, прокси-

мальном отделе бедренной кости, с избирательной оценкой костной плотности в отдельных зонах (шейка бедра, область Варда, L₁—L₄ и большой вертел). Полученные значения выражались в г/см². Изменения МПК оценивались по T-критерию (сравнение с пиковыми значениями в возрасте до 30 лет) и Z-критерию (сравнение со средними нормативами для данного возраста и пола). Для характеристики нарушений МПК использовались рекомендации ВОЗ, согласно которым снижение МПК по T-критерию более чем на 1 SD рассматривается как остеопения, а более 2,5 SD — как остеопороз.

Анализ клинических данных проводился с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения для ПК: Microsoft Excel и Statistica 6.0. Количественные данные в группах проверялись на нормальность распределения с помощью теста Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test). Для проверки статистических гипотез были использованы следующие непараметрические критерии — критерий χ^2 Пирсона (Pearson chi-square), точный критерий Фишера (Fisher exact p), критерий Манна—Уитни (Mann—Whitney) и коэффициент ранговой корреляции Спирмена (Spearman). Выявление меры линейной связи между параметрами проводилось с помощью коэффициента корреляции Пирсона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости (если не оговорено иное) принимался равным 5%, то есть нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех группах пациентов было выявлено повышение HbA1c (M min—max): 1 группа — 9,9% (6,9—13,4); 2 группа — 9,5% (6,3—12,7); 3 группа — 8,8% (5,2—12), что связано с декомпенсацией углеводного обмена на момент обследования.

Все больные имели выраженную ДН, проявляющуюся нарушениями вибрационной, тактильной и температурной чувствительности. Наиболее значимое снижение вибрационной чувствительности отмечено у пациентов 1 и 3 групп

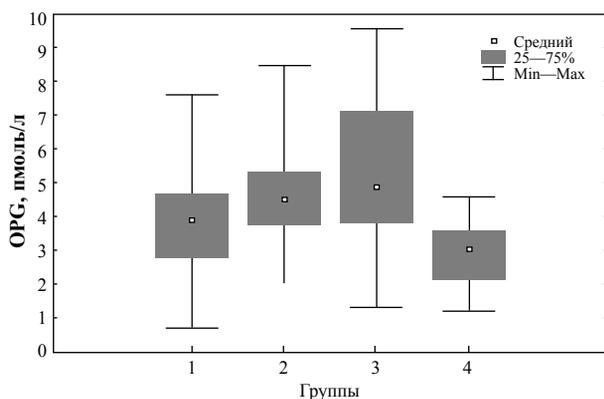


Рис. 1.
Уровень OPG в исследуемых группах

в сравнении со 2 группой ($p < 0,001$); температурной — в группах пациентов с ДОАП ($p < 0,05$); тактильной — во 2 и 3 группах в сравнении с 1 группой ($p < 0,05$). Это подтверждает вклад нейропатии в формировании как ДОАП, так и медиакальциноза артерий нижних конечностей.

При сравнении частоты различных рентгенологических изменений у пациентов с ДОАП статистически значимые различия определялись в наличии остеолита (80%) и остеопороза (100%), которые преобладали в острой стадии ДОАП ($p < 0,01$), а также гиперостозов (32%), параоссалных обызвествлений (86%) и деформаций (97%), которые чаще преобладали у пациентов с хронической стадией ДОАП ($p < 0,01$).

У пациентов с хронической стадией ДОАП (2 группа) отмечен чрезвычайно высокий процент наличия язвенных дефектов (91%) ($p < 0,05$) и различных по объёму ампутаций стоп (45%) ($p < 0,01$) по сравнению с 1 (6%; 10%) и 3 (30%; 10%) группами, что отражает значительное влияние деформации костных структур стопы на развитие вторичных инфекционных процессов нижних конечностей.

Значительное повышение уровня общего холестерина (ХС) отмечалось у пациентов 1 ($6,16 \pm 0,9$ ммоль/л) и 2 ($6,26 \pm 1,36$ ммоль/л) групп (ДОАП) по сравнению с группой контроля ($4,37 \pm 0,52$ ммоль/л) ($p < 0,05$). У пациентов 3 группы уровень ХС был повышен до $5,01 \pm 1,15$ ммоль/л, что, по всей видимости, связано с декомпенсацией углеводного обмена.

Уровень триглицеридов (ТГ) у исследуемых групп — в пределах нормальных значений, однако отмечено повышение концентрации ТГ у всех больных СД ($p < 0,05$). Не было выявлено достоверных различий между группами по уровню ЛПНП и ЛПВП, однако уровень ЛПНП был несколько выше у пациентов 1 ($4,12 \pm 1,11$ ммоль/л) и 2 ($4,09 \pm 1,1$ ммоль/л) групп по сравнению с группой контроля ($2,46 \pm 0,57$ ммоль/л). Выявлена прямая корреляционная связь значений ХС ($r = 0,3$, $p < 0,0003$) и ТГ ($r = 0,2$, $p < 0,001$) с значениями OPG в группах больных СД. Полученные данные позволяют предположить влияние дислипидемии на формирование и развитие ДОАП. В связи с одновременным увеличением образования конечных продуктов гликирования, при ДН, происходят ин-

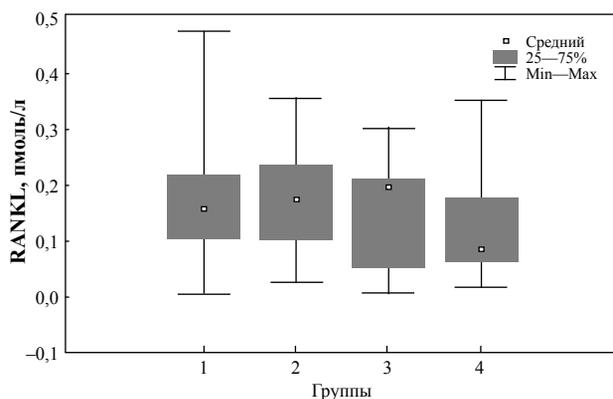


Рис. 2.
Уровень RANKL в исследуемых группах

дуцирование образования ЛПНП и их накопление в сосудистой стенке, что вызывает пролиферацию гладкомышечных клеток.

При определении значений КЩФ в сыворотке крови отмечено достоверное повышение этого показателя в группе пациентов с острой ($258,8 \pm 62,05$ Ед/л) и хронической ($239,1 \pm 159,7$ Ед/л) стадиями ДОАП по сравнению с группой контроля ($150,8 \pm 23,5$ Ед/л) ($p < 0,0001$). При сравнении групп с ДОАП между собой наиболее высокие значения КЩФ были в острой стадии ($p < 0,04$). Это объясняется высокой скоростью костного метаболизма со значительным усилением синтетической функции остеобластов (ОБ) в ответ на резорбцию.

Выявлено достоверное повышение OPG у пациентов с СД (суммарно 1, 2, 3 группы) по сравнению с группой контроля ($p < 0,0001$). Определялся достоверно более высокий уровень OPG у пациентов 1 группы ($p < 0,05$) и 2, 3 групп ($p < 0,0001$) по сравнению с группой контроля (рис. 1). Результаты проведенных исследований позволяют предположить, что концентрация OPG в сыворотке крови выше у лиц, имеющих СД [4, 10]. Полученные нами данные подтверждают это.

Достоверных различий по уровню RANKL в сыворотке крови пациентов с СД получено не было, однако отмечалось его повышение у пациентов 1 ($0,18 \pm 0,12$ пмоль/л) и 2 ($0,17 \pm 0,09$ пмоль/л) групп по сравнению с группой контроля ($0,13 \pm 0,08$ пмоль/л) ($p < 0,05$) (рис. 2).

Представляет интерес тот факт, что у пациентов с СД наиболее высокие значения RANKL выявлены в группе пациентов с острой стадией ДОАП, в то же время уровень значений OPG был самым низким. Это объясняет выраженную степень костной резорбции в острой стадии ДОАП.

У пациентов с хронической стадией ДОАП уровни OPG, и RANKL были повышены. Обнаружена положительная корреляционная связь между значениями показателя синтеза костной ткани — костного изофермента щелочной фосфатазы и значениями OPG ($r = 0,2$, $p < 0,01$) и RANKL ($r = 0,21$, $p < 0,01$). КЩФ продуцируется ОБ, и ее синтез возрастает при активации дифференцировки этих клеток, происходящей в условиях ускоренного костеобразования. Полу-

БИВАЛОС®

Стронция ранелат

НОВОЕ
в лечении
постменопаузального
остеопороза

- ▶ Единственный препарат, который одновременно стимулирует образование и уменьшает резорбцию кости¹

“Восстанавливает и нормализует физиологический обмен в костной ткани”²

- ▶ Снижает риск переломов позвонков и шейки бедра³⁻⁴



Состав: Одно саше содержит: действующее вещество: Стронция ранелат 2 г. **Вспомогательные вещества:** аспартам (E951), мальтодекстрин, маннитол. **Способ применения и дозь:** Внутрь. Рекомендуемая доза составляет 2 г (содержимое одного саше) в сутки. Рекомендуется препарат БИВАЛОС® перед сном. **Показания к применению:** Лечение остеопороза у женщин в периоде постменопаузы с целью снижения риска переломов позвонков и шейки бедра. **Свойства:** БИВАЛОС® является негормональным лекарственным препаратом для лечения остеопороза у женщин в постменопаузе. Стимулирует формирование и ингибирует резорбцию костной ткани, нормализует структуру кости, значительно уменьшает риск переломов позвонков и шейки бедра. **Противопоказания:** Известная повышенная чувстви-

тельность к стронция ранелату и любому из вспомогательных веществ препарата. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами:** Молоко и молочные продукты, а также лекарственные средства, содержащие кальций, могут уменьшать биодоступность стронция ранелата примерно на 60-70%. В этой связи, прием препарата БИВАЛОС® и указанных веществ должен разделяться промежутком времени не менее 2 часов. Прием антацидных препаратов через 2 часа после приема стронция ранелата. При назначении антибиотиков из группы тетрациклинового или хинолонового ряда лечение препаратом БИВАЛОС® следует приостановить. **Побочное действие:** общие: тошнота, диарея, головная боль и раздражение кожи. Данные эффекты выражены слабо, носят кратковременный характер и обычно не требуют прекращения приема препарата. **Предосторожность в применении:** В связи с отсутствием данных по безопасности применения стронция ранелата у больных с тяжелой почечной недостаточностью, препарат не рекомендуется назначать больным с клиренсом креатинина менее 30 мл/мин. БИВАЛОС® должен с осторожностью применяться у больных с высоким риском венозной тромбоэмболии (ВТЭ), в том числе, у больных с эпизодами ВТЭ в анамнезе. Наличие в БИВАЛОСЕ® вспомогательного вещества аспартам может вызвать нежелательную реакцию у больных фенилкетонурией.



115054, Москва, Павелецкая пл., д. 2, стр. 3.
Тел.: (495) 937 0700; факс: (495) 937 0701.

1 пакетик (саше) в день

References: 1. Marie PJ, Ammann P, Boivin G, et al. *Calcif Tissue Int.* 2001;69:121-129. 2. European Summary of Product Characteristics.

3. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, et al. *N Engl J Med.* 2004;350:459-468. 4. Rizzoli R, Reginster JY, Diaz-Curiel M, et al. *Osteoporos Int.* 2004;15:S18. Abstract OC39.

ченные результаты позволяют судить о роли системы OPG/RANKL в развитии локальной остеопении при ДОАП и требуют дальнейшего изучения данного взаимодействия.

Наиболее высокие значения OPG отмечены у пациентов с медиакальцинозом артерий нижних конечностей. В то же время значения RANKL существенно снижены по сравнению с группами пациентов, имеющих ДОАП. Содержание OPG обратно коррелировало с RANKL ($r = -0,68$, $p < 0,001$) у пациентов 3 группы. По-видимому, это связано с дисбалансом в системе OPG/RANKL, проявляющимся избыточной экспрессией OPG и, как следствие, пролиферацией и кальцификацией медиаартерий нижних конечностей, что подтверждается данными литературы [6, 8].

Выявлена обратная корреляционная зависимость между значениями МПК и уровнем OPG в группе пациентов с медиакальцинозом артерий нижних конечностей ($r = -0,61$, $p < 0,002$). Это объясняет вклад нейропатии в усиление и осуществление регуляции микроциркуляции в дистальном кровеносном русле, сопровождающейся снижением МПК в проксимальном отделе бедра.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ведущую роль в патогенезе ДОАП и медиакальциноза артерий нижних конечностей играет диабетическая нейропатия. ДОАП также сопровождается выраженным локальным остеопорозом костных структур стопы.

Выявлены характерные признаки поражения костных структур стоп при острой и хронической стадиях ДОАП. Для острой стадии ДОАП наиболее характерными являются локальный остеопороз и остеолит, для хронической — склеротические и гипертрофические изменения.

Концентрация OPG в сыворотке крови выше у лиц с СД.

Острую стадию ДОАП характеризует высокая активность костного метаболизма: повышение уровней маркеров костеобразования: КЩФ, OPG, RANKL.

Наиболее высокие значения OPG выявлены у пациентов с медиакальцинозом артерий нижних конечностей.

Таким образом, изменение состояния системы OPG/RANKL влияет на формирование и развитие как диабетической остеоартропатии, так и медиакальциноза артерий нижних конечностей, что требует дальнейшего изучения данного взаимодействия.

SUMMARY

That were 107 patients included. 33 patients with acute stage of diabetic osteoarthropathy, 24 patients with chronic stage; 20 patients with severe diabetic neuropathy and medial arterial calcification (MAC) of the low extremity, confirmed X-rays; control group included 30 persons with normal glucose tolerance. Significant increased level of OPG revealed in all groups of patients with diabetes ($p < 0,0001$). The highest values OPG were marked in patients with MAC ($p < 0,02$). Positive correlations revealed between bone-specific alkaline phosphatase (BAP) values and OPG ($r = 0,2$ $p < 0,01$)

and BAP and RANKL ($r = 0,21$ $p < 0,01$) in groups of patients with diabetic osteoarthropathy. Negative correlation revealed between OPG and RANKL in patients with MAC ($r = -0,68$ $p < 0,001$) and negative correlation revealed between values of mineral bone density and OPG in patients with MAC ($r = -0,61$ $p < 0,002$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беневоленская Л. И. / Руководство по остеопорозу. // — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. — с.82
2. Шварц Г. Я. / Молекулярно-биологические основы создания новых лекарственных средств для лечения остеопороза: 1. Остеопротегерин, ЛОПГ (RANKL) и RANK: физиологический механизм (ы) регуляции костной резорбции. Обзор литературы. // Остеопороз и остеопатии № 2, 2003. — с.21—22
3. Abedin M., Tintut Y., Demer L. / Vascular calcification: mechanisms and clinical ramifications. // Atherosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2004; 24; 1164—1170.
4. Browner W. S., Lui L. Y., Cummings S. R. / Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. // J Clin Endocrinol Metab 2001; 86: 631—37.
5. Hofbauer L., Shoppet M. / Osteoprotegerin: a link between osteoporosis and arterial calcification? // The Lancet. Vol.358, July 28, 2001.
6. Hofbauer L. C., Shui C., Riggs B. L., et al. / Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF- κ B ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cell. // Biochem Biophys Res Commun 2001; 280:334—39.
7. Jeffcoat W. / Vascular calcification and osteolysis in diabetic neuropathy — is RANK-L the missing link? // Diabetologia 2004. 47:1488—1492.
8. Malyankar U. M., Scatena M., Suchland K. L., Yun T. J., Clark E. A., Giachecelli C. M. / Osteoprotegerin is an $\alpha\beta$ -induced, NF- κ B-dependent survival factor for endothelial cells. // J. Biol.Chem 2000; 275: 20959—62.
9. Min H., Morony S., Sarosi I., et al. / Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. // J. Exp Med 2000; 192: 463—74.
10. Schoppet M., Sattler ANM, Schaefer J. R., Herzum M., Maisch B., Hofbauer L. C. / Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. // J. Clin Endocrinol. Metabol. 2003, 88: 1024—1028.
11. Simonet W. S., Lacey D. L., Dunstan C. R., et al. / Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. // Cell 89: 309—319.
12. Tsuda E., Goto M., Mochizuki S. et al. / Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits the osteoclastogenesis // Biochem. Biophys. Res. Comm. 1997 V.234 P. 137—142
13. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N., et al. / Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis *in vitro*. // 1998, Endocrinology 39:1329—1337.