

Витамин К-зависимые белки: остеокальцин, матриксный Gla-белок и их внекостные эффекты

Панкратова Ю.В.*, Пигарова Е.А., Дзеранова Л.К.

ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава РФ, Москва
(директор - академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

Резюме. Витамин К - это жирорастворимый витамин, который играет значимую роль в обмене веществ в костях и в соединительной ткани, поддержании свертывающих свойств крови. Витамин К участвует в карбоксилировании остатков глутаминовой кислоты в полипептидных цепях 14 человеческих белков, что обеспечивает их необходимыми функциональными свойствами. Недостаточное витамин К-зависимое карбоксилирование данных белков, приводит к изменению их биологической активности. В данном обзоре литературы широко освещаются механизмы витамин К-зависимого карбоксилирования, механизм костного и внекостного действия различных по степени карбоксилирования форм остеокальцина и матриксного Gla-белка. **Ключевые слова:** витамин К, карбоксилирование, остеокальцин, матриксный Gla-белок, сахарный диабет, нарушение толерантности к глюкозе, сосудистая кальцификация.

Vitamin K-dependent proteins: osteocalcin, matrix Gla-protein and extra osseous effects.

Pankratova Yu.V.*, Pigarova E.A., Dzeranova L.K.

Endocrinology Research Centre; Ul. Dmitriya Ulyanova, dom 11, Moscow, Russia, 117036

Resume. Vitamin K - is a fat-soluble vitamin which plays an important role in the metabolism of bone and connective tissue, maintenance blood clotting properties. Vitamin K is involved in carboxylation of glutamic acid residues in the polypeptide chains of 14 human proteins, providing them with the necessary functional properties. Lack of vitamin K-dependent carboxylation of these proteins leads to changes in their biological activity. In this literature review we cover the mechanisms of vitamin K-dependent carboxylation and none bone actions of osteocalcin and matrix Gla-protein with different degrees of carboxylation. **Keywords:** vitamin K, carboxylation, osteocalcin, matrix Gla-protein, diabetes mellitus, impaired glucose tolerance, vascular calcification.

*Автор для переписки/Correspondence author — pankratov.po@yandex.ru

Остеокальцин. Структура, синтез, посттрансляционная модификация

Костная ткань представлена клеточными элементами, органическим матриксом, или остеоматрицей, и минеральными веществами. Органический матрикс костей на 90% состоит из фи-

брилла коллагена, а оставшиеся 10% – это различные неколлагеновые белки [20, 13].

Остеокальцин (bone-Gla-protein, BGP) – это главный неколлагеновый белок экстрацеллюлярного матрикса костей, с молекулярной массой 5800 Да [15], синтезируемый преимущественно остеобластами.

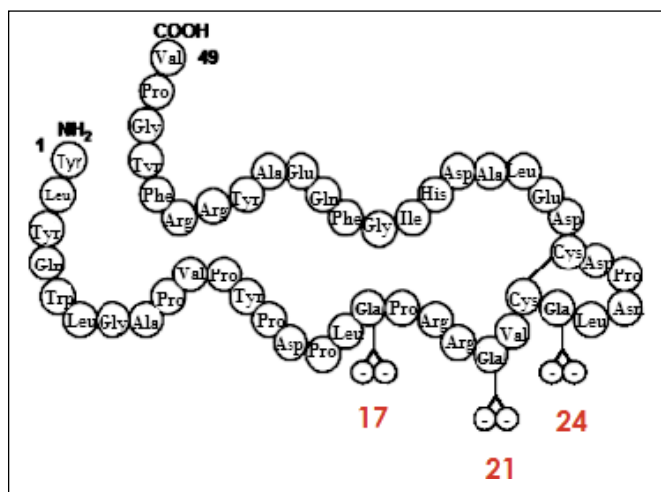


Рис. 1. Структура карбоксилированного (Gla-) остеокальцина.

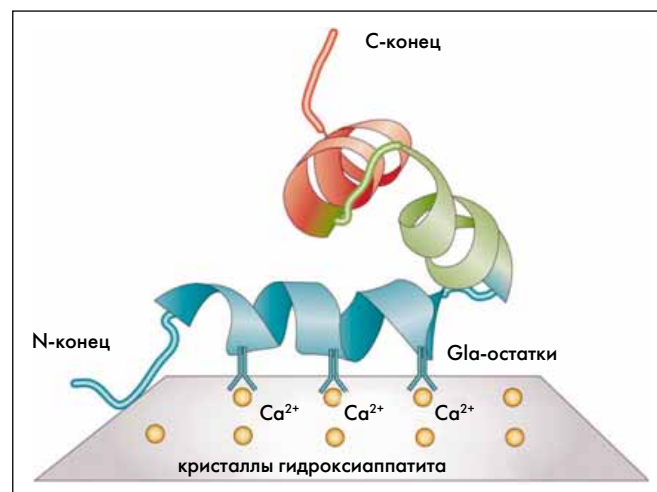


Рис. 2. Адаптировано из Booth et al. [3].

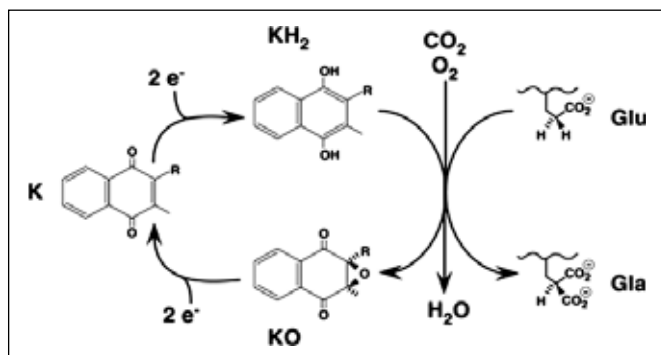


Рис. 3. Процесс окисления гидрохинона в эпоксид. Адаптировано из Rishavy et al. [38].

Остеокальцин составляет 25% всей неколлагеновой части органического матрикса кости и 2% массы костной ткани в целом.

Структура остеокальцина представлена последовательностью из 49 аминокислот, с 3 остатками γ -карбоксиглутаминовой кислоты, или -Gla [20, 13] (рис. 1).

Биологическая активность остеокальцина зависит от посттрансляционной модификации молекулы, а именно карбоксилирования в 17, 21 и 24 положениях с помощью фермента γ -глутамилкарбоксилазы [26, 15]. Именно остатки γ -карбоксиглутаминовой кислоты, притягивают на себя 3 иона кальция и укладывают их в структуру кристаллов гидроксиапатита (рис. 2), основного составляющего костной ткани, обеспечивающего ее минеральную плотность [40]. Полностью карбоксилированный остеокальцин обладает наибольшим сродством к костной ткани и практически не выходит за ее пределы, т.е. в системный кровоток, способствуя процессу минерализации костей.

В то же время процесс карбоксилирования и активность фермента его осуществляющего, γ -глутамилкарбоксилазы, являются витамин К зависимыми.

Активным кофактором для γ -глутамилкарбоксилазы является восстановленная форма витамина К – гидрохинон витамина К (KH_2) [38].

В процессе карбоксилирования остеокальцина, а также других витамин К-зависимых белков, сам гидрохинон KH_2 преобразуется в витамин К эпоксид KO [46].

Процесс окисления гидрохинона в эпоксид обеспечивает энергию, необходимую для карбоксилирования остатков -Glu в -Gla [46, 38]. Таким образом, витамин К увеличивает образование карбоксилированных форм и уменьшает высвобождение остеокальцина в кровоток, тем самым, способствуя минерализации скелета [26].

В рационе человека количество витамина К весьма ограничено, кроме того, всасывание витамина К значительно снижается с возрастом, при заболеваниях печени и кишечника, приеме антибиотиков широкого спектра действия и некоторых других лекарственных препаратов. Для предотвращения истощения запасов витамина К в организме существует механизм его восстановления с помощью фермента витамин К-эпоксидредуктазы (рис. 4).

Кроме того, производные кумарина антикоагулянты непрямого типа действия являются антагонистами

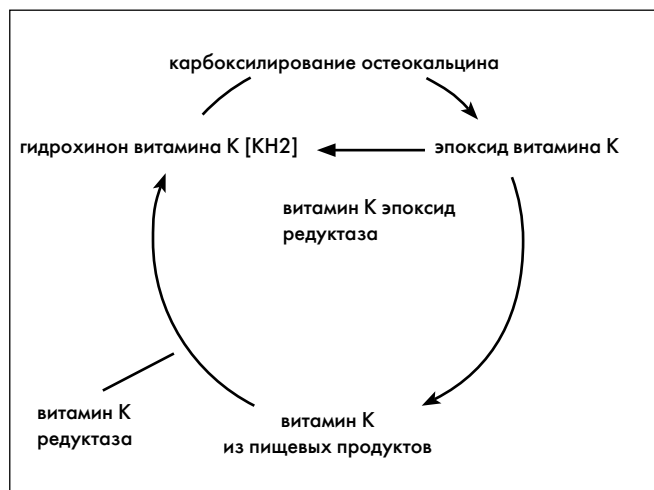


Рис. 4. Схематический путь метаболизма витамина К

витамина К и ингибиторами γ -карбоксилирования, путем блокирования фермента витамин К-эпоксидредуктазы, которая необходима для регенерации витамина К [38].

Важно, что при недостатке витамина К на свет образуются менее карбоксилированные формы остеокальцина. Т.е., например, «не полностью карбоксилированный остеокальцин» – карбоксилирование в положении только 17 и 24, реже в положениях 21 и 24, или «недокарбоксилированный остеокальцин» – карбоксилирование только в положении 17.

При выраженном дефиците витамина К часть остеокальцина остается некарбоксилированной полностью. Все эти формы остеокальцина обладают меньшим сродством к костной ткани и легко проникают в системный кровоток, где обладают собственной биологической активностью.

Известно, что более 90% синтезируемого остеобластами остеокальцина у молодых и около 70% у взрослых людей включается в костный матрикс, а остальная часть попадает в кровоток.

Витамин К

Витамин К – групповое название для ряда производных 2-метил-1,4-нафтохинона, имеющих близкую функцию в организме (рис. 6).

Витамин К, как уже было сказано выше, является кофактором для фермента, с помощью которого про-

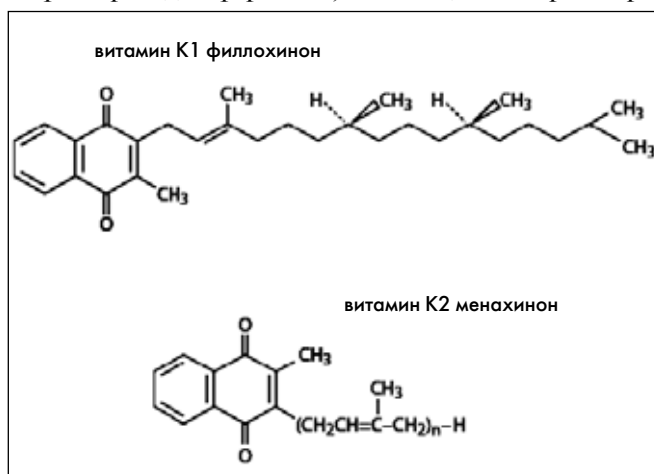


Рис. 6. Структура витамина K1 и витамина K2.

Таблица 1

Содержание витамина К в некоторых продуктах.

Продукт	Размер порции	Витамин К, мкг
Йогурт	100–150 мл	6,8
Майонез	1 стол. ложка	5,8
Оливковое масло	1 стол. ложка	15,4
Слива	2 шт.	11
Яблоко	1 шт.	2,8
Абрикос	4 шт.	4,7
Персик	1 шт.	2,4
Груша	1 шт.	8,1
Виноград	1/2 стакана	12
Спаржа приготовленная	1/2 стакана	72
Брокколи приготовленная	1/2 стакана	88
Шпинат вареный	1/2 стакана	324

исходит карбоксилирование большого ряда витамин К-зависимых белков в организме, благодаря чему те приобретают остатки -Gla в своей структуре.

Витамин К1, или филлохинон содержится в больших количествах в зеленых листовых овощах, капусте, шпинате (табл. 1).

Витамин К2 — менахинон — синтезируется бактериями в толстом кишечнике.

Классически дефицит витамина К определяют по ненормально длинному протромбиновому времени. Биомаркером недостаточности витамина К может служить повышение сывороточной концентрации Glu-форм (высокая концентрация недокарбоксилированного остеокальцина), что сопровождается низкой минеральной плотностью костной ткани и повышенным риском остеопороза.

Может ли достаточное потребление витамина К служить протектором снижения минерализации костей, усиливая процесс карбоксилирования остеокальцина и минерализации костей?

По данным М. Ryan-Harshman и W. Aldoori, потребление витамина К менее 100 мкг в день ассоциировано с относительным риском снижения минеральной плотности костной ткани [30]. В работе Vergnaud P. с соавт. продемонстрировано, что повышение сывороточных уровней непосредственно некарбоксилированного остеокальцина связано с повышением риска переломов бедра [45] и низкой минеральной плотностью бедра и позвоночника в пре- и постменопаузе [3], что согласуется с предположением о протективной роли достаточного витамин К-зависимого карбоксилирования остеокальцина.

Однако в мировой литературе есть наблюдения, не позволяющие сделать однозначные выводы о роли витамина К. По данным Booth S.L. и соавт. [3], длительное низкое потребление витамина К менее 100 мкг в сутки было связано с низкой минеральной плотностью костей у женщин, но взаимосвязи между уровнем потребления витамина К и плотностью костей у мужчин выявлено не было.

Тем не менее, добавки с витамином К снижают потерю костной массы [5], но при приеме с рекомендуемым количеством кальция и витамина D прием филлохинона не дает никаких дополнительных преимуществ для плотности костей в позвоночнике или бедре [39].

Таблица 2

↑ скорость костного обмена	↓ скорость костного обмена
↑ остеокальцин	↓ остеокальцин
Постменопаузальный/первичный остеопороз	Глюкокортикоид-индуцированный остеопороз
Первичный и вторичный гиперпаратиреоз	Гипопаратиреоз
Хроническая почечная недостаточность (↓ СКФ)	Болезнь Иценко-Кушинга
Диффузный токсический зоб	Синдром Иценко-Кушинга
Опухоли, метастазы в кости	Дефицит соматотропина
Быстрый рост у подростков	Терапия глюкокортикоидными гормонами

Ось «кость – поджелудочная железа»: остеокальцин и углеводный обмен

Классически в современной клинической практике остеокальцин рассматривается как маркер метаболизма костной ткани, маркер, с помощью которого можно оценить интенсивность костного обмена при различных заболеваниях и состояниях (табл. 2).

Однако все большее внимание исследователей привлечено к остеокальцину как возможному новому посреднику или активному участнику поддержания гомеостаза глюкозы, что открывает новую регуляторную ось «кость–поджелудочная железа». Рядом исследователей остеокальцину отводится перспективная роль в лечении целого спектра метаболических нарушений, включая сахарный диабет.

Центральная же регулирующая роль возможной новой эндокринологической оси принадлежит лептину, который воздействует на остеобласты через центральные структуры головного мозга [21] (рис. 7).

Лептин — белок, циркулирующий в плазме крови человека в количествах, прямо пропорциональных массе жировой ткани, является продуктом экспрессии Ob-гена, экспрессируемого в основном в адипоцитах белой жировой ткани. Связываясь с Ob-Rb рецепторами гипоталамуса, лептин может оказывать разнонаправленное влияние на остеогенез [8, 16]. Во-первых, известно антиостеогенное влияние лептина через регуляцию сигнальной цитокиновой системы RANK-RANKL — основного регулятора процесса дифференцировки, функционирования и апоптоза остеокластов.



Рис. 7. Пути участия остеокальцина в углеводном и жировом обмене.

Во-вторых, лептин может оказывать свое влияние через систему CART (cocaine and amphetamine – regulated transcript) – гипоталамических нейропептидов, кодируемых специфическим геном, экспрессия которого усиливается под влиянием лептина [8]. Известно, что на остеобластах представлены $\beta 2$ -адренорецепторы, симпатическая активация которых с помощью лептина индуцирует фосфорилирование активатора транскрипции фактора 4 (ATF 4), который необходим для дифференцировки остеобластов [8, 47, 16].

Таким образом, представляется, что лептин может положительно или отрицательно влиять на метаболизм костной ткани, стимулируя или подавляя секрецию остеокальцина остеобластами, который, в свою очередь, влияет на секрецию инсулина.

На животных моделях доказано, что остеокальцин даже в пикомольном диапазоне концентрации способен регулировать экспрессию гена инсулина и повышать пролиферацию β -клеток поджелудочной железы. В наномолярных концентрациях остеокальцин повышает экспрессию адипонектина в белой жировой ткани. Длительное лечение мышей синтетическим остеокальцином предупреждает набор массы тела и возникновение нарушений углеводного обмена при гиперфагии и высокожировым питании [10, 9].

Революционным в отношении связи остеокальцина с метаболизмом глюкозы оказалось исследование, проведенное Lee N.K. в 2007 г., в котором у мышей, лишенных гена остеокальцина, наблюдался фенотип с нарушением толерантности к глюкозе, инсулинорезистентностью и висцеральным ожирением, что представляло остеокальцин защитным фактором в развитии ожирения и диабета.

При введении *in vivo* рекомбинантного некарбоксилированного остеокальцина, наблюдалось повышение толерантности к глюкозе и секреции инсулина. Подобно этому, в экспериментах *in vitro* было показано, что некарбоксилированный остеокальцин усиливает секрецию инсулина островками Лангерганса и увеличивает чувствительность адипоцитов к инсулину [23].

В 2008 и 2012 гг. группа авторов во главе с Ferron M. также показали [10, 9], что введение рекомбинантного некарбоксилированного остеокальцина мышам с развившимся ожирением на фоне высокожировой диеты усиливает пролиферацию β -клеток поджелудочной железы, стимулирует секрецию инсулина, улучшает чувствительность тканей к инсулину, снижает массу жировой ткани и выраженность ожирения.

В экспериментах доказано, что на β -клеточную пролиферацию и секрецию инсулина влияют сравнительно низкие концентрации остеокальцина, всего от 0,03 до 0,3 нг/мл [10].

Обнаружено, что в поджелудочной железе таких мышей возрастает число делящихся, Ki-67 – положительных клеток островков Лангерганса, что подтверждает усиление β -клеточной пролиферации.

Иммуногистохимическая картина поджелудочных желез таких мышей демонстрирует увеличение числа островков и β -клеточной массы на фоне инфузии остеокальцина в течение 16 недель.

При морфологическом анализе скелетных мышц методом просвечивающей электронной микроскопии доказано увеличение числа и размера митохондрий у тех мышей, которые получали остеокальцин, за счет чего, предположительно, и увеличивается расход энергии.

Пристально изучаются молекулярные механизмы взаимодействия. Предполагается, что остеокальцин регулирует углеводный обмен через влияние на транскрипционный фактор FoxO1. Известно, что FoxO1, один из факторов транскрипции, регулирующий гомеостаз глюкозы. FoxO1 контролирует β -клеточную пролиферацию в поджелудочной железе и процессы глюконеогенеза, передавая сигналы инсулина и ИРФ-1 в β -клетках поджелудочной железы, адипоцитах и гепатоцитах [36]. По данным ряда исследований, FoxO1 способствует и формированию костей путем модуляции пролиферации предшественников остеобластов, не влияя на процессы их дифференцировки [37]. А исследование Ambrogini E. позволило предположить, что этот фактор участвует и в дифференцировке остеобластов [1].

FoxO1 увеличивает экспрессию так называемого *Esp* – гена остеобластов мышей, или гена ингибирования активности остеокальцина (у человека это псевдоген, который не кодирует аналогичный белок), который кодирует белок протеин-тирозин-фосфатазу OST-PTP, что снижает биологическую активность остеокальцина за счет увеличения его карбоксилирования, снижения некарбоксилированных форм, и приводит к развитию резистентности к инсулину, нарушению толерантности к глюкозе и ожирению [51, 23].

Функция гена *Esp* стала известна не так давно. На сегодняшний день известно, что инактивация *Esp* у мышей приводит к гиперинсулинемии. *Esp*-дефицитные мыши (*Esp*^{-/-}) умирают при рождении от гипогликемии или в течение всей жизни имеют низкий уровень глюкозы крови. Rached M.T. с соавт. показали, что инактивация FoxO1 именно в остеобластах приводит к увеличению β -клеток поджелудочной железы, секреции инсулина и улучшению чувствительности к инсулину [37]. А избыточная экспрессия *Esp* в остеобластах ухудшает гомеостаз глюкозы, уменьшает секрецию инсулина, индуцирует нарушение толерантности к глюкозе, вызывает сахарный диабет 2 типа.

К сожалению, модели крыс и мышей являются несовершенными для изучения данных механизмов у людей, поэтому показанная роль *Esp* гена, кодирующего тирозинфосфатазу, повышающую карбоксилирование остеокальцина в этих животных моделях, не может быть перенесена на человека, что требует дальнейших исследований в данной области.

Тем не менее представляется, что некий определенный диапазон концентраций циркулирующего в крови остеокальцина поддерживает адекватную секрецию инсулина. Насколько адекватен механизм взаимодействия остеокальцина и глюкозы через стимуляцию секреции инсулина в организме человека механизму, изученному на мышах, неизвестно. Но ряд исследований, проведенных на людях, демонстрирует обратно пропорциональную связь показателей глюкозы с уровнями циркулирующего остеокальцина.

Pollock N.K. и соавт. в своем исследовании показали, что в группе детей с избыточным весом и преддиабетом (нарушением толерантности к глюкозе) по сравнению с группой детей с избыточным весом, но нормальным обменом глюкозы снижены уровни некарбоксилированного остеокальцина, тогда как уровни карбоксилированного остеокальцина не отличались между группами [31], что представляет именно некарбоксилированный остеокальцин участником поддержания гомеостаза глюкозы.

Ряд клинических исследований показывает, что обе формы остеокальцина — и карбоксилированные и некарбоксилированные — могут быть задействованы в этом процессе. Так, например, Hwang Y.C. и соавт. в своем исследовании 199 корейских мужчин в возрасте 25–60 лет с сахарным диабетом 2 типа или нарушением толерантности к глюкозе продемонстрировали прямую связь повышения уровней как карбоксилированного, так и некарбоксилированного остеокальцина с параметрами гликемии, соответствующими компенсации данных метаболических нарушений [14].

Эти же авторы при исследовании 425 человек в возрасте от 19 до 82 лет в ходе орального глюкозо-толерантного теста показали, что плазменные уровни остеокальцина обратно пропорциональны глюкозе натощак и через 2 ч после нагрузки [17]. По данным Pittas A.G. и соавт. у пожилых людей общий сывороточный остеокальцин также оказался обратно пропорционален уровню глюкозы и инсулина натощак [33]. В когорте мужчин и женщин в постменопаузе с сахарным диабетом 2 типа, некарбоксилированный остеокальцин обратно коррелировал с процентом жировой ткани и с уровнем гликированного гемоглобина [22].

Таким образом, результаты последних исследований и экспериментов открывают новую эндокринологическую ось «кость — поджелудочная железа», представляя кости полноценным эндокринным органом, который секретирует гормон, влияющий на энергетический обмен. Открываются перспективы для возможно принципиально нового лечения ожирения и метаболических нарушений, включая сахарный диабет, влияя на остеобласты и процессы, происходящие в них.

Кроме того, полное понимание механизмов влияния витамина К на процессы карбоксилирования остеокальцина позволяет представить концентрацию его Glu-форм основным биомаркером недостатка витамина К, биомаркером риска остеопороза и риска переломов в будущем, что позволит осуществлять первичную профилактику и снизить заболеваемость остеопорозом.

Предстоит также оценить эффекты лекарственных средств, влияющих на γ -карбоксилирование остеокальцина (витамин К, варфарин) на уровни глюкозы крови и течение метаболических заболеваний у пациентов, получающих такие препараты.

Витамин К-зависимое карбоксилирование matrix-Gla-protein – защита от сосудистой кальцификации

Одним из белков, который проходит γ -карбоксилирование с приобретением остатков Gla-, является

матриксный GLA белок (MGP), синтезируемый хондроцитами и клетками гладкой мускулатуры сосудистой стенки [44].

MGP — белок с молекулярной массой 10,6 кДа, состоящий из 84 аминокислотных остатков, содержащий 5 остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты и, следовательно, принадлежащий семейству витамин К-зависимых белков. MGP первоначально идентифицирован в костной ткани. Последние полученные данные предполагают, что MGP, а именно его карбоксилированная форма, играет ключевую роль в ингибировании роста кристаллов кальция в мягких тканях.

MGP обнаруживается в высоких концентрациях во внеклеточном матриксе костной и хрящевой ткани [34]. Он также синтезируется в других тканях, таких как рак легких, сердца, почек, артериальные стенки сосудов [11].

Сосудистая кальцификация считается одним из значимых прогностических факторов неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, таких как инфаркт миокарда и инсульт. Долгое время считалось, что кальцификация сосудов — это пассивный процесс отложения кальция и фосфатов в стенках артерий и сердечных клапанах. Однако недавние многочисленные исследования показали, что патологическая сосудистая кальцификация — это активный регулируемый клеточный процесс, похожий на процесс физиологического формирования костей [7]. В кальцинированных стенках сосудов обнаруживают белки костной ткани, такие как остеокальцин, остеоонектин, MGP. При этом точные механизмы, посредством которых происходит кальцификация, остаются до конца неясными.

Доказано, что кальцификацию артерий и ее прогрессирование инициирует оксидативный стресс. Так, в исследовании Byon C.H. и соавт. было показано, что H_2O_2 вызывает кальцификацию гладкомышечных клеток сосудов *in vitro* [4]. Под воздействием H_2O_2 гладкомышечные клетки сосудов дифференцируются в остеохондрогенные клетки путем активации транскрипционного фактора Runx2 — основного регулятора дифференцировки остеобластов.

Активными участниками кальцификации являются и так называемые костные морфогенетические белки (bone morphogenetic protein, BMP) — члены семейства трансформирующих факторов роста- β (TGF- β), надсемейства сигнальных молекул, участвующих в остеогенезе [29]. Известно около 20 различных молекул BMP, из которых BMP2, BMP4, BMP5, BMP6 и BMP7 могут вызывать эктопическую кальцификацию [25]. В ряде исследований BMP2, BMP4 и BMP6 были обнаружены в кальцинированных областях атеросклеротических поражений, что подтверждает их активную посредническую роль в процессах сосудистой кальцификации [6]. BMP способствуют пролиферации и остеохондрогенной дифференцировке гладкомышечных клеток сосудов [19].

Полностью карбоксилированный MGP рассматривается как ингибитор сосудистой кальцификации [50, 27, 41, 28]. Его тормозное влияние еще до конца не изучено, но ингибирование костных морфогенетических белков 2 и 4, предположительно через регуляцию фак-

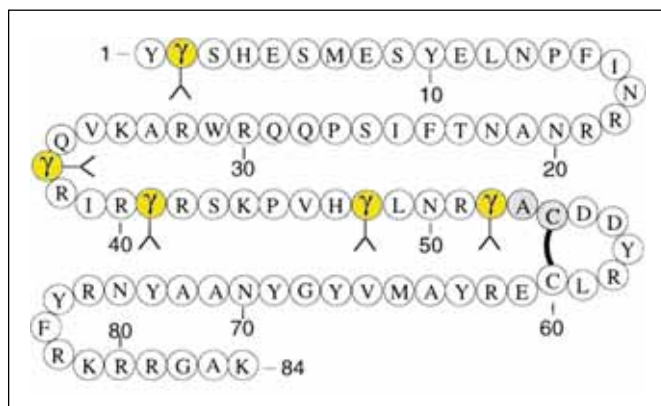


Рис. 11. Структура MGP.

тора транскрипции Runx2 [52, 35, 49], подавление остеогенной трансдифференцировки сосудистых гладкомышечных клеток [42] и прямое торможение роста кристаллов кальция [32] рассматриваются как возможные основные механизмы. Все эти процессы требуют витамин-К-зависимого карбоксилирования.

Так, в опытах на мышах потеря MGP вызывает обширную кальцификацию артерий [52, 41] и приводит к значительному увеличению активности BMP и остеогенной дифференцировке гладкомышечных клеток сосудов с последующей их минерализацией. Избыточная экспрессия MGP в трансгенных мышах приводит к предотвращению кальцификации атеросклеротических поражений [48].

Представляется интересным, влияет ли дефицит витамина К, применение антикоагулянтов из группы антагонистов витамина К на усиление процесса кальцификации сосудов, и соответственно, влияет ли витамин К — как кофактор γ -глутамилкарбоксилазы — на усиление механизма карбоксилирования и может ли витамин К являться протектором сосудов от патологической минерализации, а степень достаточного карбоксилирования служить гарантией защиты стенок сосудов от избыточной минерализации.

Действительно, чтобы MGP выполнял свои функции, белок должен быть максимально γ -карбоксилированным, что требует достаточного уровня витамина К. Без достаточного количества витамина К MGP остается некарбоксилированным и не препятствует кальцификации [12].

У крыс инактивация MGP с помощью варфарина приводит к быстрой кальцификации артерий [41]. Связь длительного применения варфарина с аортальной кальцификацией клапанов была продемонстрирована и в исследовании Holden R.M. и соавт. [18].

В основном активность и функция MGP исследована на животных моделях. Существующие исследования на людях лишь подтверждают протективную роль витамина К в отношении кальцификации сосудов. В двойном слепом рандомизированном контролируемом исследовании Shea M.K. и соавт. [27] была определена

профилактическая роль витамина К в отношении кальцификации коронарных артерий. В этом исследовании приняли участие 388 женщин и мужчин, 200 из которых получали 500 мкг/сут филлохинона, а 188 — другие поливитамины без филлохинона. Исследование кальцификации коронарных артерий проводили с помощью мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ). В результате, в группе пациентов, получающих филлохинон, на 6% уменьшилась прогрессия кальцификации коронарных артерий. В рандомизированном на 3 группы плацебо-контролируемом исследовании женщин в постменопаузе [2] Braam L.A. и соавт. участницы в первой группе получали плацебо, во второй — добавки с минералами и витамином D, в третьей группе — добавки с витамином К1. В начале исследования и через 3 года при проведении оценки ряда характеристик общей сонной артерии, включая коэффициент растяжимости, толщину интима-медии, оказалось, что группе пациентов, получающих витамин К1, эластические свойства общей сонной артерии оставались неизменными в течение 3 лет, а в 2 других группах снижались. По данным Schurges L.J. и соавт., в исследовании 266 пациентов, 133 из которых получали варфарин, при оценке кальцинирования коронарных бляшек при помощи МСКТ, в группе получающих варфарин, пациенты имели более кальцинированные коронарные бляшки [24]. Любопытны данные Spronk H.M. и соавт., которые показали, что менахинон-4 (природный витамин К2, сходен с витамином К1, но представляет собой более ненасыщенное соединение), но не витамин К1, может предотвратить кальцификацию артерий у крыс при введении в сочетании с варфарином [43].

Количество витамина К и степень достаточного γ -карбоксилирования, необходимого для MGP с целью ингибирования кальцификации у человека, неизвестны.

Возможно определение некарбоксилированного MGP с помощью метода иммуноферментного анализа, что может явиться новым методом диагностики с целью выявления активного процесса сердечно-сосудистой кальцификации, а сам некарбоксилированный MGP — биомаркером кальцификации. Дальнейшие исследования могут иметь потенциальное значение для выявления больных с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний и сердечно-сосудистой кальцификации, а также для контроля лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Необходимо больше доказательных данных о влиянии дефицита витамина К и применения антикоагулянтов из группы антагонистов витамина К на риск прогрессии сосудистой кальцификации. Предстоит исследовать и возможные дополнительные механизмы, оказывающие влияние на процессы карбоксилирования и изучить возможности снижения сердечно-сосудистого риска при восполнении дефицита витамина К.

1. Ambrogini E, Almeida M, Martin-Millan M, Paik JH, Depinho RA, Han L, Goellner J, Weinstein RS, Jilka RL, O'Brien CA, Manolagas SC. FoxO-mediated defense against oxidative stress in osteoblasts is indispensable for skeletal homeostasis in mice. *Cell Metab* 2010;11:136–46.
2. Braam LA, Hoeks AP, Brouns F, Hamulyak K, Gerichhausen MJ, Vermeer C. Beneficial effects of vitamins D and K on the elastic properties of the vessel wall in postmenopausal women: a follow-up study. *Thromb Haemost* 2004;91(2):373–80.
3. Booth SL, Broe KE, Gagnon DR, Tucker KL, Hannan MT, McLean RR, et al. Vitamin K intake and bone mineral density in women and men. *Am J Clin Nutr* 2003;77:512–516.
4. Byon CH, Javed A, Dai Q, Kappes JC, Clemens TL, Darley-Usmar VM, McDonald JM, Chen Y. Oxidative stress induces vascular calcification through modulation of the osteogenic transcription factor Runx2 by AKT signaling. *J Biol Chem* 2008;283:15319–15327.
5. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2006;166(12):1256–61.
6. Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, Cleutjens KB, Geusens PP, Kitslaar PJ, Tordoir JH, Spronk HM, Vermeer C, Daemen MJ. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(12):1998–2003.
7. Dongxing Z, Neil CW Mackenzie, Farquharson C, VE MacRae VE. Mechanisms and Clinical Consequences of Vascular Calcification. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012;3:95.
8. Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, Starbuck M, Yang X, Liu X, Kondo H, Richards WG, Bannon TW, Noda M, Clement K, Vaisse C, Karsenty G. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature* 2005;434:514–520.
9. Ferron M, D.McKee M, L.Levine R, Ducey P, Karsenty G. Intermittent injections of osteocalcin improve glucose metabolism and prevent type 2 diabetes in mice. *Bone* 2012; February 50(2):568–575.
10. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducey P. Osteocalcin differentially regulates β -cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild type mice. *Proc Natl. Acad Sci USA* 2008;105(13):5266–5270.
11. Fraser JM, Price PA. Lung, heart, and kidney express high levels of mRNA for the vitamin K-dependent matrix Gla protein. *J Biol Chem* 1988;263:11033–11036.
12. Fu X, Wang XD, Mernitz H, Wallin R, Shea MK, Booth SL. 9-Cis retinoic acid reduces α 1pha₂,25-dihydroxycholecalciferol-induced renal calcification by altering vitamin K-dependent gamma-carboxylation of matrix gamma-carboxyglutamic acid protein in A/J male mice. *J Nutr* 2008;138:2337–41.
13. Gundberg CM. Biology, physiology and clinical chemistry of osteocalcin. *Clin Ligand Assay* 1998;21:128–138.
14. Hwang YC, Jeong IK, Ahn KJ, Chung HY. The uncarboxylated form of osteocalcin is associated with improved glucose tolerance and enhanced β -cell function in middle-aged male subjects. *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25:768–772.
15. Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix-Gla-protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev* 1989;69(3):990–1047.
16. Hinoi E, Gao N, Jung DY, Yadav V, Yoshizawa T, Kajimura D, Myers MG, Chua SC, Wang Q, Kim JK, Kaestner KH, Karsenty G. An osteoblast-dependent mechanism contributes to the leptin regulation of insulin secretion. *Ann NY Acad Sci* 2009;1173(Suppl1):E20–E30.
17. Hwang YC, Jeong IK, Ahn KJ, Chung HY. Circulating osteocalcin level is associated with improved glucose tolerance, insulin secretion and sensitivity independent of the plasma adiponectin level. *Osteoporos Int* 2012;23(4):1337–1342.
18. Holden RM, Sanfilippo AS, Hopman WM, et al. Warfarin and aortic valve calcification in hemodialysis patients. *J Nephrol* 2007;20:417–42.
19. Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification. *Circ Res* 2005;97(2):105–114.
20. Hauschka PV, Carr SA. Calcium-dependent alpha-helical structure in osteocalcin. *Biochemistry* 1982 May 11;21(10):2538–2547.
21. Karsenty G. Convergence between bone and energy homeostases: Leptin regulation of bone mass. *Cell Metab* 2006;4:341–348.
22. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamauchi M, Yamamoto M, Kurioka S, Yano S, Sugimoto T. Serum undercarboxylated osteocalcin was inversely associated with plasma glucose level and fat mass in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos Int* 2011;22:187–194.
23. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducey P, Karsenty G. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007;130:456–469.
24. Schurges LJ, Joosen IA, Laufer EM, Chatrou MLL, Herfs M, Winkens M HM, Westenfeld R, Veulemans V, Krueger T, Shanahan CM, Jahnhen-Dechent W, Diessen E, Narula J, Vermeer C, Hofstra L, Reuteingsperger CP. Vitamin K – Antagonists Accelerate Atherosclerotic Calcification and induce a Vulnerable Plaque Phenotype. *PLoS One* 2012;7(8):e43229.
25. Luu HH, Song WX, Luo X, Manning D, Luo J, et al. Distinct roles of bone morphogenetic proteins in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 2007;25:665–677.
26. Maillard C, Berruyer M, Serre CM, Dechavanne M, Delmas PD. Protein-S, a vitamin K-dependent protein, is a bone matrix component synthesized and secreted by osteoblasts. *Endocrinology* 1992;130:1599–1604.
27. Shea MK, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Dallal GE, Dawson-Hughes B, Ordovas JM, Price PA, Williamson MK, Booth SL. Vitamin K supplementation and progression of coronary artery calcium in older men and women. *Am J Clin Nutr* 2009 June; 89(6): 1799–1807.
28. Murshed M, Schinke T, McKee M, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004;165:625–630.
29. Massague J. TGF-beta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins. *Cell* 1996;85:947–950.
30. Ryan-Harshman M, Aldoori W. Bone health. New role for vitamin K? *Can Fam Physician* 2004;50.
31. Pollock NK, Bernard PJ, Gower BA, Gundberg CM, Wenger K, Misra S, Bassali RW, Davis CL. Lower Uncarboxylated Osteocalcin Concentrations in Children with Prediabetes Is Associated with β -Cell Function. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 July;96(7):E1092–E1099.
32. O'Young J, Liao Y, Xiao Y, Jalkanen J, Lajoie G, et al. Matrix gla protein inhibits ectopic calcification by a direct interaction with hydroxyapatite crystals. *J Am Chem Soc* 2011;133:18406–18412.
33. Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:827–832.
34. Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new γ -carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1983;117:765–771.
35. Wallin R, Schurgers L, Wajih N. Effects of the blood coagulation vitamin K as an inhibitor of arterial calcification. *Thromb Res* 2008;122(3):411–417.
36. Rached MT, Kode A, Silva BC, Jung DY, Gray S, Ong H, Paik Ji-H, DePinho RA, Kim JK, Karsenty G, Kousteni S. FoxO1 expression in osteoblasts regulates glucose homeostasis through regulation of osteocalcin in mice. *J Clin Invest* 2010 January 4;120(1):357–368.
37. Rached MT, Kode A, Xu L, Yoshikawa Y, Paik JH, Depinho RA, Kousteni S. FoxO1 is a positive regulator of bone formation by favoring protein synthesis and resistance to oxidative stress in osteoblasts. *Cell Metab* 2010;11:147–60.
38. Rishavy MA, Usabalieva A, Hallgren KW, Berkner KL. Novel insight into the mechanism of the vitamin K oxidoreductase (VKOR): electron relay through Cys43 and Cys51 reduces VKOR to allow vitamin K reduction and facilitation of the vitamin K-dependent protein carboxylation. *Biol Chem* 2011 March 4;286(9):7267–7278.
39. Booth SL, Dallal G, Shea MK, Gundberg C, Peterson JW, Dawson-Hughes B. Effect of Vitamin K supplementation on bone loss in elderly men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;April 93(4):1217–1223.
40. Booth SL, Centi A, Smith SR, Gundberg C. The role of osteocalcin in human glucose metabolism: marker or mediator? *Nat. Rev. Endocrinol* 2013;9: 43–55.
41. Schurgers LJ, Spronk HM, Soute BA, Schiffrers PM, DeMey JG, Vermeer C. Regression of Warfarin-induced medial elastocalcinosis by high intake of vitamin K in rats. *Blood* 2007 Apr 1;109(7):2823–31.
42. Speer MY, Yang H-Y, Brabb T, Leaf E, Look A, et al. Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries. *Circ Res* 2009;104:733–741.
43. Spronk HM, Soute BA, Schurgers LJ, Thijssen HH, De Mey JG, Vermeer C. Tissue – specific utilization of menaquinone-4 results in the prevention of arterial calcification in warfarin-treated rats. *J Vasc. Res* 2003;40(6):531–7.
44. Tilman MH, Rosing J, Spronk HM, Vermeer C. Total chemical synthesis of human matrix Gla protein. *Protein Sci* 2001 April;10(4):864–870.
45. Vergnaud P, Garnerio P, Meunier PJ, Bréart G, Kamihagi K, Delmas PD. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:719–724.
46. Wallin R, Sane DC, Hutson SM. Vitamin K 2,3-epoxide reductase and the vitamin K-dependent gamma-carboxylation system. *Thromb Res* 2002;108:221–6.
47. Yu-Sik Kim, Il-Young Paik, Young-Jun Rhie, Sang-Hoon Suh. Integrative Physiology: Defined Novel Metabolic Roles of Osteocalcin. *J Korean Med Sci* 2010 July;25(7):985–991.
48. Yao Y, Bennett BJ, Wang X, Rosenfeld ME, Giachelli C, Lusis AJ, Bostrom KI. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification. *Circ Res* 2010 August 20;107(4):485–494.

49. Yao Y, Zebboudj A, Shao E, Perez M, Bostrom K. Regulation of bone morphogenetic protein-4 by matrix GLA protein in vascular endothelial cells involves activin-like kinase receptor 1. *J Biol Chem* 2006;281:33921–33930.
50. Yao Y., B.J.B., Wang X., Rosenfeld M.E., Giachelli C., Lusi A.J., Bostrom K.I. Inhibition of Bone Morphogenetic Proteins Protects against Atherosclerosis and Vascular Calcification. *Circ Res* 2010;107(4):485–494.
51. Yang S, Xu H, Yu S, Cao H, Fan J, GeC, Franceschi RT, Dong HH, Xiao G. Foxo1 Mediates Insulin-like Growth Factor 1 (IGF1)/Insulin Regulation of Osteocalcin Expression by Antagonizing Runx2 in Osteoblasts. *J Biol Chem* 2011 May 27;286(21):19149–19158.
52. Zebboudj A, Imura M, Bostrom K. Matrix GLA protein, a regulatory protein for bone morphogenetic protein-2. *J Biol Chem* 2002;277:4388–4394.

Панкратова Ю.В.	ординатор ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава РФ, Москва Email: pankratov.po@yandex.ru
Пигарова Е.А.	к.м.н., старший научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава РФ, Москва Email: kpigarova@gmail.com
Дзеранова Л.К.	д.м.н., главный научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава РФ, Москва Email: dzeranova@yandex.ru
