

УДК 616.71-007.151-053.2

КОМПЛЕКС ОСТЕОПРОТЕГЕРИН-КАЛЬЦИТОНИН В СИСТЕМЕ ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ РАХИТЕ

Каргина И.Г.

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия Минздрава России, Чита, e-mail: 2009QWERTYIrina1990@mail.ru

Процесс остеогенеза сопровождается постоянным поддержанием оптимального уровня кальция в крови. Комплекс остеопротегерин – кальцитонин недостаточно изучен при рахите, хотя по отдельности влияние остеопротегерина и кальцитонина описали многие исследователи. Целью исследования была оценка роли системы остеопротегерин – кальцитонин в остеогенезе. Нами обследованы 2 группы детей: 68 детей с рахитом и группа контроля из 18 детей. В группе детей с признаками рахита выделены 4 подгруппы по степени тяжести и течению. Диагностика рахита была проведена с помощью объективных данных и биохимических показателей крови. Исследование уровней маркеров проходило методом ИФА. Обработка полученных в ходе исследования данных проведена с помощью программы Statistica 10,0 (StatSoft). Подгруппы попарно сравнивались при помощи критерия Манна–Уитни. Наряду с этим был проведен корреляционный анализ с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Выявлено значительное повышение концентрации остеопротегерина при остром течении II степени рахита (2-я подгруппа) до 44,82 [27,40; 77,50] ($p < 0,05$). Уровень кальцитонина максимально снижен при I степени и подостром течении до 7,48 [3,84; 8,76] (на 43% от уровня группы контроля) ($p < 0,05$). Выявлена средней силы обратная корреляционная связь между концентрациями ОПГ и кальцитонина ($r = -0,638$, $p < 0,05$). Остеопротегерин и кальцитонин выполняют контроль постоянства гомеостаза, а именно регулирование концентрации фосфора и кальция крови, тем самым поддерживая постоянство минерального состава костной ткани.

Ключевые слова: рахит, дети раннего возраста, остеогенез, остеопротегерин, кальцитонин

COMPLEX OSTEOPROTEGERIN – CALCITONINI IN THE SYSTEM OF OSTEOGENESIS IN RICKETS

Kargina I.G.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Chita State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Chita, e-mail: 2009QWERTYIrina1990@mail.ru

The process of osteogenesis is accompanied by constant maintenance of the optimal level of blood calcium. The osteoprotegerin-calcitonin complex has not been adequately studied in rickets, although they have been individually described by many researchers. The purpose of the study was to evaluate the role of the osteoprotegerin-calcitonin system in osteogenesis. We examined 2 groups of children: 68 children with rickets and a control group of 18 children. In the group of children with signs of rickets, 4 subgroups were identified: acute course I degree (26% of patients), acute course II degree (22%), I degree subacute (23%) and subacute course of the 2nd degree (29% of the subjects). Diagnosis of rickets was carried out with the help of objective data and biochemical indicators of blood. The study of biochemical parameters was carried out by the method of enzyme immunoassay. The processing of the data obtained during the study was carried out using the program Statistica 8.0 (StatSoft). Testing the Kolmogorov-Smirnov series was conducted. The subgroups were compared in pairs using the Mann-Whitney test. Along with this, a correlation analysis was performed using the Spearman rank correlation coefficient. There was a significant increase in the concentration of osteoprotegerin in acute course of grade II rickets (2 subgroups) to 44.82 [27.40, 77.50] ($p < 0.05$). The level of calcitonin is maximally reduced at grade I subacute course to 7.48 [3.84, 8.76] (43% of control group level) ($p < 0.05$). The mean correlation inversion between concentrations of OPG and calcitonin was found to be moderate ($r = -0.638$, $p < 0.05$). Osteoprotegerin and calcitonin control the constancy of homeostasis, namely, the regulation of the concentration of phosphorus and calcium in the blood, thereby maintaining the constancy of the mineral composition of the bone tissue.

Keywords: rickets, toddlers, osteogenesis, osteoprotegerin, calcitonin

Костная ткань является динамично изменяющейся системой на протяжении всей жизни человека. Она представлена тремя составляющими, такими как клетки, минеральные

вещества и органический матрикс. Процессы ремоделирования носят основополагающий характер в поддержании гомеостаза костной ткани и напрямую зависят от взаимодействия главных клеток: остеобластов, остеокластов и остеоцитов. Остеокласты приводят к резорбции костной ткани путем ее деминерализации. Остеобласты осуществляют процесс становления новой костной ткани. Остеогенез осуществляется за счет остеобластов на протяжении всего роста организма со 2-го месяца эмбриогенеза до 25 лет жизни в среднем. В процессе остеогенеза выделяют несколько стадий остеосинтеза, все они сопровождаются поддержанием уровня кальция в сыворотке крови. При нарушении поступлений кальция алиментарным путем его постоянная концентрация поддерживается за счет резорбции из костной ткани. Кальцийдефицитные состояния могут также возникать при эндокринных дисфункциях. Выделяют несколько маркеров, участвующих в регуляции фосфорно-кальциевого обмена, среди них можно выделить остеопротегерин и кальцитонин [1].

У больных рахитом отмечаются изменения в биохимическом составе крови: снижается уровень кальцитриола, кальцитонина, кальция и фосфора сыворотки крови, а также повышается концентрация остеопротегерина и других маркеров.

Цель исследования: определить диагностическую и прогностическую значимость исследования уровней маркеров остеогенеза комплекса остеопротегерин – кальцитонин при нарушениях формирования костно-суставной системы детей.

Материалы и методы исследования. Нами были обследованы 86 здоровых доношенных детей г. Читы в возрасте от 3 месяцев до 2 лет (рис. 1).



Рис. 1. Распределение пациентов по группам

Критерии включения в подгруппы детей, больных рахитом: доношенные дети в возрасте от 3 месяцев до 2 лет с манифестацией клинических признаков рахита (деформация грудной клетки, черепа, нижних конечностей, мышечная гипотония), с изменением биохимических показателей крови: снижение уровня кальцидиола, кальция, фосфора и повышение активности щелочной фосфатазы.

Критерии включения в группу контроля: доношенные дети в возрасте от 3 месяцев до 2 лет соответствующего пола без клинических и лабораторных признаков рахита.

Критерии исключения из исследования: дети в возрастной категории младше 3 месяцев и старше 2 лет от матерей, употребляющих психоактивные препараты, алкоголь, из социально неблагоприятных условий, младенцы с пороками развития, с внутриутробной инфекцией, от многоплодной беременности, недоношенные, страдающие заболеваниями почек, печени, желудочно-кишечного тракта, с синдромом мальабсорбции, поражением кожных покровов, нарушением функции щитовидной и паращитовидных желез, гипотрофией, принимающие глюкокортикоиды, гепарин, противосудорожные препараты, фуросемид, фосфаты, магний, антациды, препараты на основе алюминия.

Все дети, принимающие участие в обследовании, были из социально адаптированных семей, а также принимали профилактическую дозу водного раствора витамина D в дозе 500 МЕ ежедневно. В целях соблюдения этических норм научного исследования проводился анализ внутриэтнической выборки, межрасовое сравнение не проводилось.

Диагностика рахита была проведена с помощью клинических и лабораторных данных. Мы оценивали состояние костной, мышечной, нервной систем. Для биохимического анализа забор крови проводился с помощью пункции периферической вены в объеме 4 мл. Исследование биохимических показателей проходило методом иммуноферментного анализа. Уровень остеопротегерина определялся набором ELISA RayBio (США). Содержание кальцитонина в сыворотке крови определено с помощью набора Kit кальцитонина человека ELISA Biolabs (США). Для проведения твердофазного иммуноферментного анализа использовалось следующее оборудование: шейкер-термостат «Elmi ST-3» (Латвия), автоматический вошер «Atlantis-4» (Великобритания) иммуноферментный анализатор «Expert 96» (Великобритания).

Обработка полученных нами данных была проведена с помощью программы Statistica 10,0 (StatSoft). Проводилось тестирование на нормальность рядов по Колмогорову–Смирнову, на основании этого мы сделали вывод, что ряды не подчинялись критериям нормальности, поэтому далее мы применили методы непараметрической статистики. Определены медиана (Me) и межквартильный интервал (P25 до P75). С помощью критерия Манна–Уитни было проведено попарное сравнение подгрупп с рахитом. Статистически

значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$. Наряду с этим был проведен корреляционный анализ с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что уровень остеопротегерина (табл. 1) максимально повышен при остром течении II степени рахита (2-я подгруппа) – в 2 раза – и составляет 44,82 [27,40; 77,50] пг/мл ($p < 0,05$) и 43,4 [25,83; 57,7] пг/мл ($p < 0,05$) в 4-й подгруппе больных с рахитом. Концентрация остеопротегерина при I степени также несколько выше такого показателя в группе условно здоровых детей (22,35 [20,61; 23,8]) при остром течении – на 23%, что составляет 27,52 [24,29; 38,58] пг/мл ($p < 0,05$), при подостром течении на 67% – 37,52 [27,10; 41,18] пг/мл ($p < 0,05$). Повышение уровня пептида происходит за счет активации функции остеобластов. Так, мы выявили, что максимальное повышение концентрации показателя наблюдается при среднетяжелой степени.

Таблица 1

Показатели минерализации костной ткани у детей с рахитом

Показатель	Острое течение n=32		Подострое течение n=36		Контроль n=26
	I степень n=20	II степень n=18	I степень n=20	II степень n=24	
	1 подгруппа	2 подгруппа	3 подгруппа	4 подгруппа	
Остеопротегерин (пг/мл)	27,52 [24,29; 38,58]*	44,82 [27,40; 77,50]*	37,52 [27,10; 41,18]*	43,4 [25,83; 57,7]*	22,35 [20,61; 23,8]
Кальцитонин (пг/мл)	6,15 [3,84; 8,76]**	9,12 [8,55; 9,45]	7,05 [4,18; 8,71]**	9,74 [8,88; 10,61]	10,09 [9,21; 10,52]

Примечание: разница статистически значима * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Уровень кальцитонина при I степени значительно снижен: при остром течении на 60% ($p < 0,05$), при подостром течении до 7,05 [4,18; 8,71] пг/мл (что меньше на 43%) ($p < 0,05$) в сравнении с группой контроля – 10,09 [9,21; 10,52] пг/мл. Во 2-й подгруппе кальцитонин снижен на 11%, его уровень составляет в среднем 9,12 [8,55; 9,45] пг/мл ($p > 0,05$), в 4-й подгруппе – на 3%: 9,74 [8,88; 10,61] пг/мл ($p > 0,05$). Так, в ходе нашего исследования мы выявили, что содержание кальцитонина незначительно снижалось по сравнению с

контрольными значениями у детей с рахитом. В случае легкой степени тяжести как при остром, так и подостром течениях показатели имели статистически значимые различия ($p < 0,05$) относительно группы контроля. При средней степени тяжести при всех типах течения наблюдалось статистически незначимое снижение уровня кальцитонина в сравнении с уровнем пациентов группы контроля.

Мы рассчитали коэффициент отношения остеопротегерин/кальцитонин (рис. 2). Установлено, что он значительно увеличивается (в 2,4 раза) при подостром течении рахита.

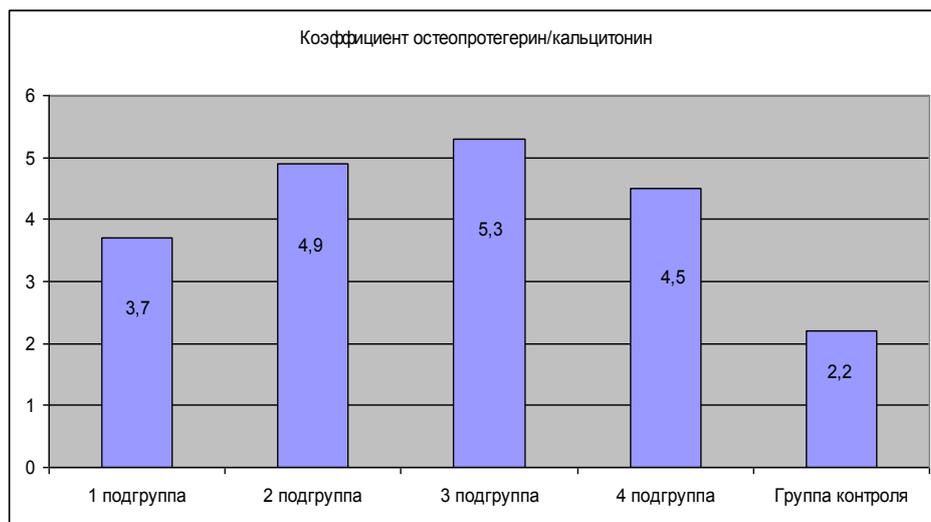


Рис. 2. Коэффициент остеопротегерин/кальцитонин при рахите у детей

Нами выявлена средней силы обратная корреляционная связь между концентрациями ОПГ и кальцитонина ($r = -0,638$, $p < 0,05$). Она показывает, что с увеличением уровня ОПГ происходит снижение содержания кальцитонина в крови.

Ремоделирование костной ткани – сложный процесс, контролируемый некоторыми факторами, действие которых направлено на достижение равновесия между сцепленными процессами резорбции костной ткани остеокластами и формирование остеобластов. В итоге при взаимодействии этих процессов происходит действие на клетки костной ткани.

Процессы костного моделирования и ремоделирования поддерживаются гормональной активностью некоторых маркеров в гомеостазе. Соматотропный, паратиреоидный, тиреоидные и половые гормоны, кальцитриол, инсулин принимают участие в регулировании минерального обмена костной ткани организма [2].

Нарушение процессов ремоделирования костной ткани является основным звеном патогенеза заболеваний костной системы. Регулятором активности клеток ремоделирования

Добавлено примечание ([C1]): Распишите полностью

костной ткани (остеобластов и остеокластов) является система RANK – RANKL – OPG. RANKL (лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-β), она считается главным стимулятором дифференцировки остеокластов и определяет продолжительность их жизни [3]. Сама система RANK – RANKL – OPG является одним из важных компонентов костного гомеостаза, обеспечивающего процессы ремоделирования. Остеопротегерин секретируется тканями различных органов сердечно-сосудистой системы (сердцем, артериями, венами), дыхательной (легкими), пищеварительной (печенью, кишечником), мочевыделительной (почками), а также костной, кроветворной и иммунной системами. Рецепторы к остеопротегерину расположены на остеобластах, лимфоцитах и преостеокластах [2]. Продукция остеопротегерина достоверно повышена в сравнении с группой контроля, что доказывает утяжеление процессов резорбции костной ткани. В ходе ранее проведенных исследований у взрослых при остеопорозе было доказано, что при поражении костной системы происходит экспрессия данного маркера [4]. Проведенные исследования по изучению роли остеопротегерина в моделировании и ремоделировании костной ткани доказали, что при его чрезмерном образовании снижается количество остеокластов.

В клинической практике использование маркеров метаболизма костной ткани необходимо для более глубокого изучения патогенеза остеопении, остеонидной гиперплазии, несовершенного остеогенеза и других метаболических нарушений. При детальном изучении возможны назначение оптимальной терапии костной патологии, ее профилактика и прогнозирование рисков заболеваний. Путем измерения концентрации маркеров остеогенеза можно оценить изменения минерального состава костной ткани [4].

Остеопротегерин является рецептором-улавливателем (выполняющим роль приманки) для RANKL и, как следствие, препятствует соединению RANKL с RANK, поэтому не происходит увеличения резорбции костной ткани [5, 6].

Система RANK – RANKL – OPG проявляет свое влияние не только в пределах костной системы. Также ее активность обнаружена в других системах организма – дыхательной (легкие), половой (молочная железа), мочевыделительной (почки), центральной нервной системе (головной мозг). Кроме того, нарушения в системе RANK – RANKL – OPG являются отправным звеном при онкологических заболеваниях: новообразования костной ткани, миелома, нейробластома, плоскоклеточный рак, рак молочной и щитовидной желез.

Кальцитонин – полипептид, синтезируемый в основном парафолликулярными или С-клетками щитовидной железы, а также в небольшом количестве – вилочковой и околотитовидной железами [7]. Рецепторы к кальцитонину выявляются на многих органах и клетках, таких как остеокласты, клетки головного мозга, печени и легких, почек. Кальцитонин угнетает активность остеокластов и снижает костную резорбцию.

Одновременно он активирует остеобласты, способствуя образованию костной ткани [8]. Секрция кальцитонина стимулируется увеличением концентрации кальция в плазме и регулируется желудочно-кишечными пептидами, эстрогенами и витамином D. При интерпретации результатов следует иметь в виду, что увеличение концентрации кальцитонина наблюдается также при беременности; при лечении эстрогенами; после внутривенного введения кальция; гастрина и пента-гастрин; после приема алкоголя [9]. Наряду с регулированием фосфорно-кальциевого обмена кальцитонин является онкомаркером при раке щитовидной железы, также повышение его уровня наблюдается при панкреатите и почечной недостаточности [10]. Выявлена взаимосвязь кальцитонина с соотношением концентрации кальция и фосфора в крови. При снижении уровня кальцитонина наблюдаются процессы остеомалации и остеоидной гиперплазии. У детей с рахитом отмечалось снижение концентрации кальцитонина относительно группы здоровых лиц. Маркеры кальцитонина можно использовать для диагностики пациентов с нарушениями метаболизма костной ткани. Выявленное нами снижение содержания кальцитонина показывает, что наиболее активно процессы остеомалации происходят при остром течении рахита.

Роль остеопротегерина при рахите ранее не исследована. Впервые нами выявлено возрастание уровня пептида в 2 раза по сравнению с контролем. Это показывает увеличение ингибирования RANKL, что приводит к росту активности остеокластов и, как следствие, остеомалации. Снижение уровня кальцитонина еще более усугубляет ситуацию, приводя к возрастанию костной резорбции. Рассчитанный нами коэффициент остеопротегерин/кальцитонин можно использовать как показатель степени остеомалации при рахите.

Выводы

1. Уровень остеопротегерина при рахите повышен при подостром течении в 2 раза по сравнению с контролем.
2. Концентрация кальцитонина снижена на 60% при остром течении и на 43% – при подостром.
3. Нарушение соотношения остеопротегерин/кальцитонин является одним из важных звеньев патогенеза рахита.

Список литературы

1. Ахполова В.О., Брин В.Б. Обмен кальция и его гормональная регуляция // Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2017. №2. С.38-46.

2. Аганов Д.С., Тыренко В.В., Цыган Е.Н., Топорков М.М., Бологов С.Г. Роль цитокиновой системы RANKL/RANK/OPG в регуляции минерального обмена костной ткани // *Гены & Клетки*. 2014. Т.9. №4. С.50-52.
3. Камилов Ф.Х., Фаршатова Е.Р., Еникеев Д.А. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляция // *Фундаментальные исследования*. 2014. №7. С.836-842.
4. Побел Е.А., Бенгус Л.М., Дедух Н.В. Маркеры костного метаболизма при сращении переломов длинных костей // *Остеопороз и остеопатии*. 2012. №2. С.25-32.
5. Заброда С.И., Маслокова Е.А., Корытова Л.И., К.М. Пожариский К.М., Раскин Г.А., Корытов О.В. Остеопротегерин как прогностический маркер течения рака молочной железы // *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2015. №1. С.18-25.
6. Рожнова О.М., Фаламеева О.В., Садовой М.А. Патофизиология костной ткани при остеопорозе // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015. Т.9. №4. С.666-669.
7. Поворознюк В.В., Дедух Н.В., Макогончук А.В. Влияние кальцитонина на репаративную регенерацию костной ткани // *Травма*. 2014. Т.5. № 4. С.30-34.
8. Семенова А.Н., Дутов А.А., Пинелис И.С. Динамика показателей минерального обмена у больных с переломом нижней челюсти // *Забайкальский медицинский вестник*. 2013. №1. С.78-82.
9. Каргина И.Г., Щербак В.А. Современные представления о роли витамина D // *Российский педиатрический журнал*. 2016. Т.19. №2. С.103-105.
10. Национальная программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации / *Союз педиатров России*. М., 2011. 68 с.