

ОЦЕНКА СВЯЗИ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ С РАСЧЕТНЫМ 10-ЛЕТНИМ РИСКОМ ПЕРЕЛОМОВ ПО FRAX У ЖЕНЩИН С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Зборовская И.А.¹, Александров А.В.¹, Османова Г.Я.¹, Александров В.А.^{1,2},
Коренская Е.Г.², Александрова Н.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», Волгоград, e-mail: imlab@mail.ru;

²ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии, Волгоград, e-mail: post@volgmed.ru

Цель исследования: оценка связи уровня сывороточных маркеров костного ремоделирования у больных ревматоидным артритом (РА) с предполагаемым 10-летним риском остеопоротических переломов, установленным с помощью FRAX. 40 женщинам в постменопаузе с достоверным РА были проведены остеоденситометрия на аппарате «LUNAR DPX» (GE, США) и оценка 10-летней вероятности перелома по результатам индекса FRAX (русская версия). Иммуноферментный метод был использован при определении N-терминального пропептида проколлагена 1-го типа (P1NP), C-концевого телопептида коллагена 1-го типа (CTX) и ангиопоэтин-подобного белка 3-го типа (АППБ3) в сыворотке крови. Уровни АППБ3, в отличие от P1NP и CTX, коррелировали с более высоким 10-летним риском переломов бедра (FRAX:HF) ($p=0,018$) и более высоким 10-летним риском больших остеопоротических переломов (FRAX:MOF) ($p=0,029$). В группе больных РА ($n=23$) с высоким уровнем АППБ3 (>445 нг/мл) наблюдали более высокий риск переломов бедра ($p=0,023$), но не переломов позвонков ($p>0,1$). Регрессионный анализ связи между исследуемыми маркерами и показателями FRAX у пациенток с РА продемонстрировал, что только уровень сывороточного АППБ3 мог достоверно предсказать значение 10-летнего риска переломов в соответствии со шкалой FRAX: для FRAX:MOF коэффициент регрессии $b=0,335$ ($p=0,007$), для FRAX:HF $b=0,147$ ($p=0,004$). Выводы: определение сывороточного АППБ3 у женщин с РА в постменопаузе может дополнить данные по шкале FRAX путем прогнозирования клинической подгруппы пациенток с высоким риском развития остеопоротических переломов.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ангиопоэтин-подобный белок 3-го типа, FRAX.

CORRELATION OF BONE REMODELING BIOCHEMICAL MARKERS WITH THE CALCULATED 10-YEAR FRAX FRACTURE RISK IN WOMEN WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Zborovskaya I.A.¹, Aleksandrov A.V.¹, Osmanova G.Ya.¹, Aleksandrov V.A.^{1,2},
Korenskaya E.G.², Aleksandrova N.V.¹

¹Federal State Budgetary Science Institution Research Institute for clinical and experimental rheumatology named after A.B. Zborovskiy, Volgograd, e-mail: imlab@mail.ru;

²Volgograd State Medical University, Department of Hospital Therapy, Volgograd, e-mail: post@volgmed.ru

Purpose of the study: to evaluate the association of serum markers of bone remodeling in patients with rheumatoid arthritis (RA) with the predicted 10-year risk of osteoporotic fractures determined by FRAX. 40 postmenopausal women with reliable RA underwent osteodensitometry (DXA) on LUNAR DPX (GE, USA) and evaluation of 10-year probability of fracture according to FRAX index results (Russian version). The immunoassay method was used in the determination of N-terminal procollagen propeptide type 1 (P1NP), C-terminal collagen telopeptide type 1 (CTX), and angiopoietin-like protein type 3 (ANGPTL3) in serum. In contrast to P1NP and CTX, ANGPTL3 levels correlated with a higher 10-year risk of hip fracture (FRAX:HF) ($p=0.018$) and a higher 10-year risk of major osteoporotic fractures (FRAX:MOF) ($p=0.029$). The group of RA patients ($n=23$) with high levels of ANGPTL3 (>445 ng/mL) had a higher risk of hip fractures ($p=0.023$), but not vertebral fractures ($p>0.1$). Regression analysis of the association between the studied markers and FRAX scores in RA patients demonstrated that only serum ANGPTL3 level could reliably predict 10-year fracture risk according to the FRAX scale: for FRAX:MOF the regression coefficient $b=0.335$ ($p=0.007$), for FRAX:HF $b=0.147$ ($p=0.004$). **Conclusions:** determination of serum ANGPTL3 in postmenopausal women with RA can supplement FRAX data by predicting a clinical subgroup of patients at high risk for osteoporotic fractures.

Keywords: rheumatoid arthritis, angiopoietin-like protein type 3, FRAX.

Ввиду широкой распространенности остеопороза (ОП) и связанных с ним низкоэнергетических переломов у пациентов с ревматоидным артритом (РА) определение минеральной плотности костной ткани (МПКТ) является обязательным у данной категории больных. Золотым стандартом диагностики ОП остается измерение МПКТ с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) [1]. Дополнительным инструментом оценки риска развития остеопоротических переломов, вероятность которых значительно увеличивается при РА по сравнению со здоровым населением [2], является алгоритм FRAX (Fracture Risk Assessment Tool), позволяющий рассчитать вероятность возникновения остеопоротических переломов в ближайшие 10 лет.

Ряд сывороточных биомаркеров, связанных с развитием ОП, использовались для измерения скорости процессов ремоделирования костной ткани при РА [1, 3, 4], но данных о связи между маркерами костного метаболизма и показателями FRAX у пациентов с РА в настоящий момент недостаточно. Согласно национальным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ОП (2021 г.) [5], рассматривается ряд основных биохимических маркеров костного ремоделирования, которые наиболее оправданно определять в клинической практике. Среди них маркер костеобразования N-терминальный пропептид проколлагена 1-го типа (P1NP) и маркер костной резорбции C-концевой телопептид коллагена 1-го типа (β -cross laps, CTX) считаются наиболее стабильными и характеризуются хорошей воспроизводимостью [4, 6]. Поэтому Международный фонд остеопороза (IOF) и Международная федерация клинической химии (IFCC) рекомендовали использование сывороточных P1NP и CTX в качестве эталонных маркеров костного метаболизма.

Ангиопоэтиноподобный белок 3-го типа (АППБЗ), который в основном экспрессируется в печени и регулируется многочисленными посттрансляционными модификациями, играет критическую роль как в биологических процессах, таких как метаболизм липидов или ангиогенез, так и в многообразных патологических изменениях [7], но возможная роль данного белка в развитии остеопоротических нарушений в настоящий момент не изучена.

Цель исследования: оценка связи уровня сывороточных маркеров костного ремоделирования у больных РА с предполагаемым 10-летним риском остеопоротических переломов, установленным с помощью FRAX.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 40 женщин в постменопаузе с достоверным диагнозом РА, соответствующим критериям ACR/EULAR 2010 г. Пациенты были исключены, если они получали антирезорбтивные препараты в период не менее 2 лет до исследования, суточную дозу глюкокортикоидов ≥ 15 мг или лечение биологическими

противоревматическими препаратами, модифицирующими заболевание (b-DMARD), а также были исключены пациенты с резко сниженной скоростью клубочковой фильтрации (≤ 29 мл/мин/1,73 м²), заболеваниями печени и переломами костей в течение последних 12 месяцев.

Уровни основных биохимических маркеров костного ремоделирования были изучены иммуноферментным методом с помощью коммерческих диагностических систем: N-терминальный пропептид проколлагена 1-го типа (P1NP) в сыворотке крови («Procollagen I N-Terminal Propeptide (P1NP)», Cloud-Clone Corp., PRC), C-концевой телопептид коллагена 1-го типа (β -cross laps, CTX) в сыворотке крови («Serum CrossLaps ELISA», Immunodiagnostic Systems Ltd (IDS Ltd), USA). Уровни ангиопоэтин-подобного белка 3-го типа измеряли в сыворотке крови с использованием иммуноферментной тест-системы «Human Angiopoietin-like Protein 3 ELISA» (Bio Vendor, Czech Republic).

Всем больным РА была проведена двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DXA – dual-energy X-ray absorptiometry) на остеоденситометре «LUNAR DPX» (GE, США) по стандартной программе (позвоночник в зоне L1–4 и проксимальный отдел бедренной кости). Диагностику остеопоротических проявлений (МПКТ в г/см² при сравнении с референтной базой) осуществляли по Т-критерию в соответствии с рекомендациями Международного общества клинической денситометрии и национальных руководств по диагностике ОП [5]. Диагноз «остеопороз» выставлялся на основании сводных данных по результатам денситометрии, оценке клинических проявлений заболевания и собранного анамнеза. В качестве инструмента при оценке 10-летней вероятности перелома (с использованием общей МПК тазобедренного сустава) был использован онлайн-калькулятор по подсчету индекса FRAX (русская версия). При заполнении анкет собирали следующие данные: возраст, пол, вес, рост, индекс массы тела, предшествующий нетравматический перелом, анамнез перелома бедра у родителей, текущее курение и употребление алкоголя, использование кортикостероидов.

Статистический анализ: качественные переменные были выражены как частоты (%), а количественные переменные – как медиана и нижний/верхний квартиль Me[LQ;UQ]; сравнение пропорций между исследуемыми группами было проанализировано с использованием критерия хи-квадрат (χ^2); сравнение средних значений между исследуемыми группами проводили с использованием дисперсионного анализа Крускала–Уоллиса (Kruskal–Wallis ANOVA H-test); корреляции между исследуемыми показателями рассчитывали с помощью корреляционного теста Спирмена (rs). Статистическая значимость была установлена при значении $p < 0,05$. Все статистические анализы проводились с использованием программного обеспечения «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., USA).

Результаты исследования и их обсуждение

Представленные в данном исследовании женщины с РА (n=40) имели средний возраст 54,4 [49,2; 64,2] года, показатель активности DAS28 3,62 [2,92; 4,17] балла, длительность заболевания 13,5 [3,5; 15,5] года, индекс массы тела (ИМТ) 28,2 [24,3; 32,6] балла. Все пациентки находились в постменопаузе, причем ранняя менопауза (до 40 лет) или аменорея более года, не связанная с беременностью, были отмечены по данным анамнеза в 12,5% случаев. Диагноз остеопороза был ранее выставлен у 14 (35%) (по данным анамнеза), а по результатам данного исследования ОП верифицирован у 18 (45%) пациенток. Распространенность остеопоротических изменений (Т-критерий $\leq -2,5$ SD) тазобедренного сустава составила 20% (n=8), поясничного отдела позвоночника – 22,5% (n=9).

При определении сывороточных маркеров костного ремоделирования у больных РА показатель среднего межквартильного диапазона для P1NP составил 46,1 [41,6; 57,7] пг/мл, для СТХ – 0,57 [0,39; 0,84] нг/мл, для АППБЗ – 667 [426; 865] нг/мл.

Уровни P1NP в сыворотке крови положительно коррелировали с показателями СОЭ по Панченкову (rs=0,42, n=31, p=0,02) и РФ (ИФА-метод) (rs=0,46, n=40, p=0,003). СТХ имел отрицательную корреляцию с уровнями СРБ (ИФА-метод) (rs= –0,51, n=40, p<0,001). Уровни АППБЗ коррелировали с уровнями глюкозы крови (ИФА-метод) (rs=0,37, n=40, p=0,018) и СРБ (ИФА-метод) (rs=0,33, n=40, p=0,038). Все представленные маркеры не имели значимой корреляции между собой.

При обработке данных, полученных при помощи инструмента оценки риска переломов – FRAX у пациенток с РА (на основании значений индивидуальной 10-летней вероятности основных патологических переломов у пациента соответствующего возраста), были получены следующие результаты: 28 (70%) человек – с высоким риском больших остеопоротических переломов, 12 (30%) человек – с высоким риском перелома бедра.

В таблице 1 показаны корреляции между концентрациями сывороточных биомаркеров (P1NP, СТХ и АППБЗ) и 10-летним риском переломов в соответствии со шкалой FRAX: уровни АППБЗ коррелировали с более высоким 10-летним риском переломов бедра (рис.) и более высоким 10-летним риском больших остеопоротических переломов, причем в последнем случае данная связь была выраженной только в группе пациентов с высокими значениями АППБЗ (>445 нг/мл) (rs=0,47, n=23, p<0,022).

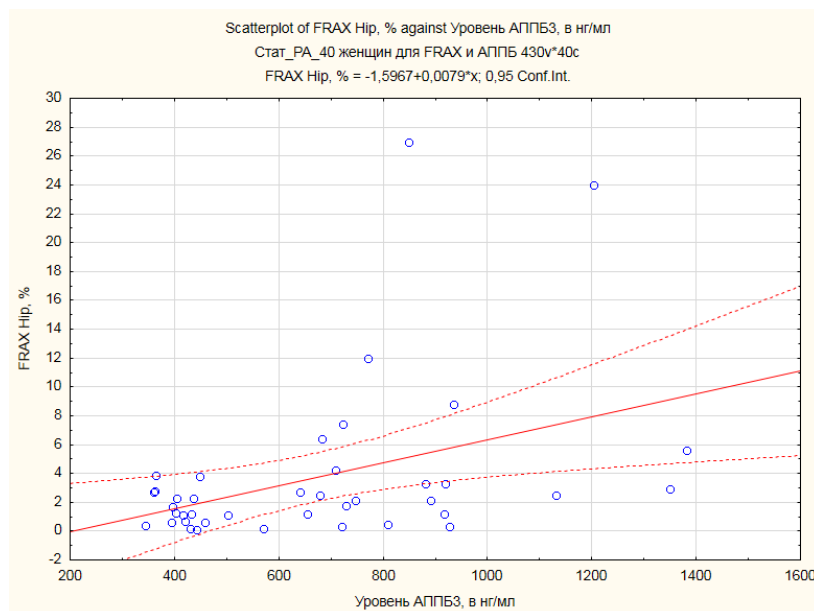
Таблица 1

Корреляции между концентрациями сывороточных P1NP, СТХ, АППБЗ и 10-летним риском крупных остеопоротических переломов (MOF) и переломов бедра (HF) по FRAX

Показатели	FRAX:MOF		FRAX:HF	
	rs	p	rs	p

P1NP, пг/мл	0,07	0,21	0,14	0,39
CTX, нг/мл	-0,21	0,20	-0,17	0,29
АППБЗ, нг/мл	0,34	<u>0,029</u>	0,37	<u>0,018</u>

Примечание: FRAX:MOF – Major Osteoporotic Fracture, 10-летний риск больших остеопоротических переломов по FRAX; FRAX:HF – Hip Fracture, 10-летний риск переломов бедра по FRAX; P1NP – N-терминальный пропептид проколлагена 1-го типа; CTX – С-концевой телопептид коллагена 1-го типа; АППБЗ – ангиопозтин-подобный белок 3-го типа; rs – коэффициент корреляции Спирмена; p – достоверность.



Корреляция между 10-летним риском переломов бедра (оценка FRAX с учетом МПК) с уровнями АППБ 3-го типа в сыворотке крови пациенток с РА

Мы не обнаружили статистически значимой корреляции между показателями FRAX для 10-летней вероятности больших остеопоротических переломов (MOF) и 10-летней вероятности перелома бедра (HF) с показателями P1NP и CTX в сыворотке крови больных РА, хотя имеются доказательства связи данных маркеров и с последующими переломами, и с изменениями МПК [6, 8]. По-видимому, на полученные результаты значимое влияние могли оказать ряд факторов, такие как однородность используемой выборки (женщины в менопаузе), преимущественно длительное течение РА, умеренная активность заболевания, влияние дозы пероральных или парентеральных кортикостероидов и, в целом, относительно ограниченный контингент обследованных лиц.

В зависимости от уровня АППБЗ в сыворотке крови больных РА были сформированы 2 подгруппы: 1-я (42,5%) – с «низким» уровнем АППБЗ (≤ 445 нг/мл, в пределах нормы); 2-я (57,5%) – с «высоким» уровнем АППБЗ (> 445 нг/мл, выше $M \pm 3SD$ показателей нормального диапазона). Не было обнаружено статистически достоверной разницы между 1-й и 2-й подгруппами в отношении возраста, длительности заболевания, показателя активности

DAS28, ИМТ, значений СОЭ, РФ, антител к циклическому цитруллинированному пептиду и СРБ. В группе больных РА с «высоким» уровнем АППБЗ наблюдали более высокий риск переломов бедра (Mann–Whitney U-test, $p=0,023$), но не переломов позвонков (Mann–Whitney U-test, $p=0,14$) (табл. 2).

Таблица 2

Показатели 10-летнего риска переломов в соответствии со шкалой FRAX у больных РА с различным уровнем сывороточного АППБЗ (нг/мл)

Показатели FRAX	Больные РА с различным уровнем АППБЗ		p
	1-я подгруппа (n=17)	2-я подгруппа (n=23)	
FRAX:MOF	22,0 [13;24]	24,0 [18;30]	0,14
FRAX:HF	1,2 [0,6;2,3]	2,7 [1,2;6,4]	<u>0,023</u>

Примечание: n – количество больных РА; Me[LQ;UQ] – медиана [нижний квартиль; верхний квартиль]; FRAX:MOF – Major Osteoporotic Fracture, 10-летний риск больших остеопоротических переломов по FRAX; FRAX:HF – Hip Fracture, 10-летний риск переломов бедра по FRAX; АППБЗ – ангиопэтин-подобный белок 3-го типа; p – достоверность.

Ангиопэтин-подобные белки могут выступать в качестве индикаторов патологических процессов, связанных с хроническим ревматоидным воспалением и развитием остеопороза [9]. Y. Wang и соавт. показали, что специфическая адсорбция АППБЗ на гидроксиапатите индуцирует остеокондуктивность за счет усиления прикрепления и распространения остеобластов [10].

Принимая во внимание широкую вариацию концентрации АППБЗ в сыворотке крови от 344,19 до 1381,01 нг/мл, и чтобы предотвратить перекося анализа из-за точек данных с высоким значением АППБЗ в относительно небольшом размере выборки, была проведена оценка данных в зависимости от индивидуальной (в соответствии с возрастом) точки терапевтического вмешательства, предложенной Российской ассоциацией по остеопорозу (РАОП), для принятия решения о назначении парентерального лечения ОП [5]. В результате 82,6% пациенток с «высоким» уровнем АППБЗ было показано обратиться к специалисту для назначения парентерального лечения, в то время как в подгруппе с «низким» уровнем АППБЗ таких пациенток было только 22,5% ($\chi^2=4,1$, $p=0,043$).

Таким образом, имеются основания предполагать возможность и целесообразность использования сывороточных показателей АППБЗ не только при оценке 10-летнего риска переломов в соответствии со шкалой FRAX, но и в качестве дополнительного суррогатного критерия (совместно с другими маркерами костного ремоделирования – P1NP и СТХ) клинической эффективности медикаментозной терапии ОП, учитывая преимущества биохимических маркеров при динамическом наблюдении, в отличие от оценки по снижению

количества переломов (длительное наблюдение) и изменению МПК (проведение DXA рекомендовано не чаще 1 раза в год).

На заключительном этапе исследования для оценки связи между исследуемыми маркерами и показателями FRAX был выполнен регрессионный анализ (метод наименьших квадратов). При использовании степенного уравнения для описания связи между P1NP, СТХ, АППБЗ и показателями FRAX были получены коэффициенты регрессии (b) (табл. 3).

Таблица 3

Корреляции между концентрациями сывороточных P1NP, СТХ, АППБЗ и 10-летним риском крупных остеопоротических переломов (FRAX:MOF) и переломов бедра (FRAX:HF)

Показатели	P1NP, пг/мл		СТХ, нг/мл		АППБЗ, нг/мл	
	b	p	b	p	b	p
FRAX:MOF	-0,07	>0,1	-0,12	>0,1	0,335	0,007
FRAX:HF	0,09	>0,1	-0,06	>0,1	0,147	0,004

Примечание: P1NP – N-терминальный пропептид проколлагена 1-го типа; СТХ – С-концевой телопептид коллагена 1-го типа; АППБЗ – ангиопоэтин-подобный белок 3-го типа; b – коэффициент регрессии; p – достоверность.

Как видно из приведенных данных, только уровень сывороточного АППБЗ мог достоверно предсказать значение 10-летнего риска переломов в соответствии со шкалой FRAX: полученное уравнение для описания связи АППБЗ и 10-летнего риска больших остеопоротических переломов по FRAX имеет вид $FRAX:MOF = 235,567 \times [АППБЗ]^{0,335}$, а уравнение для описания связи АППБЗ и 10-летнего риска переломов бедра по FRAX – $FRAX:HF = 604,568 \times [АППБЗ]^{0,147}$. Интересным моментом оказался тот факт, что зависимость АППБЗ и FRAX:HF при разделении больных РА на две группы по индивидуальной точке терапевтического вмешательства продемонстрировала самую высокую значимость искомых коэффициентов в группе пациенток (n=28), которым было рекомендовано начать парентеральное лечение ОП (a=615,6, p<0,001, b=0,1603, p=0,016).

Последующие исследования должны помочь в решении вопроса о возможном включении показателей АППБЗ при использовании инструмента FRAX для оценки риска переломов у женщин в постменопаузе, учитывая положительную реакцию на проведенную ранее коррекцию оценки FRAX дозами глюкокортикоидов.

Заключение

При РА определение сывороточного АППБЗ у женщин в постменопаузе может дополнить данные по шкале FRAX путем прогнозирования клинической подгруппы пациенток с высоким риском развития остеопоротических переломов. Высокие уровни

АППБЗ в сыворотке пациентов с РА могут свидетельствовать о повышенном 10-летнем риске перелома шейки бедра.

Список литературы

1. Schousboe J.T., Shepherd J.A., Bilezikian J.P., Baim S. Executive summary of the 2013 International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on bone densitometry. *Journal of Clinical Densitometry*. 2013. vol. 16. no. 4. P. 455–466. DOI: 10.1016/j.jocd.2013.08.004.
2. Fardellone P., Salawati E., Le Monnier L., Goëb V. Bone loss, osteoporosis, and fractures in patients with rheumatoid arthritis: a review. *Journal of Clinical Medicine*. 2020. vol. 9. no. 10. P. 3361. DOI: 10.3390/jcm9103361.
3. Xu S., Wang Y., Lu J., Xu J. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of rheumatoid arthritis-induced osteoporosis. *Rheumatology International*. 2012. vol. 32. no. 11. P. 3397–3403. DOI: 10.1007/s00296-011-2175-5.
4. Johansson H., Odén A., Kanis J.A., McCloskey E.V., Morris H.A., Cooper C., Vasikaran S. A meta-analysis of reference markers of bone turnover for prediction of fracture. *Calcified Tissue International*. 2014. vol. 94. no. 5. P. 560–567. DOI: 10.1007/s00223-014-9842-y.
5. Клинические рекомендации. Остеопороз, 2021. [Электронный ресурс]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/87_4 (дата обращения: 25.07.2022).
6. Tian A., Ma J., Feng K., Liu Z., Chen L., Jia H., Ma X. Reference markers of bone turnover for prediction of fracture: a meta-analysis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2019. vol. 14. no. 1. P. 68. DOI: 10.1186/s13018-019-1100-6.
7. Jiang S., Qiu G.H., Zhu N., Hu Z.Y., Liao D.F., Qin L. ANGPTL3: a novel biomarker and promising therapeutic target. *Journal of Drug Targeting*. 2019. vol. 27. no. 8. P. 876–884. DOI: 10.1080/1061186X.2019.1566342.
8. Eastell R., Szulc P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017. vol. 5. no. 11. P. 908–923. DOI: 10.1016/S2213-8587(17)30184-5.
9. Aleksandrov V., Aleksandrov A. Angiopoietin-like protein type 3 as an indicator of rheumatoid inflammation and resorption of bone tissue in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2020. vol. 79. no. S1. P.1340. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-eular.2174.
10. Wang Y., Yoshida Y., Kamiie J., Shiwaku Y., Suzuki O., Furuya M., Yokota K., Kanetaka H., Yokoi T., Kawashita M. Proteomic identification of serum proteins to induce osteoconductivity of hydroxyapatite. *Dental materials journal*. 2021. vol. 40. no. 6. P. 1428–1436. DOI: 10.4012/dmj.2021-120.