

# Современные лабораторные технологии в изучении остеопороза у лиц опасных профессий и его коррекция

Л. Б. Дрыгина, д.б.н., проф., зав. лабораторией<sup>1</sup>

А. Э. Лычкова, д.м.н., зав. отделом<sup>2</sup>

Н. А. Дорофейчик-Дрыгина, врач-ортодонт<sup>1</sup>

А. М. Пузиков, сотрудник отдела<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова» Департамента здравоохранения г. Москвы

## Modern laboratory techniques in study of osteoporosis in persons of hazardous occupations and its correction

L. B. Drygina, A. E. Lychkova, N. A. Dorofeichik-Drygina, A. M. Puzikov

All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A. M. Nikiforov, Saint Petersburg; Moscow Clinical Scientific and Practical Center n.a. A. S. Loginov, Moscow; Russia

### Резюме

Были обследованы специалисты МЧС России в возрасте от 21 до 45 лет (200 пожарных), характер работы которых отличается высоким психоэмоциональным напряжением. Снижение минеральной плотности костной ткани (МПКТ) в различных регионах скелета было неравномерно, преимущественно наблюдалось в поясничном отделе позвоночника и проксимальном отделе бедра, в меньшей степени в регионе предплечья. Показана зависимость изменения лабораторных показателей от скорости и направленности метаболических процессов в костной ткани обследованных пациентов. Снижение МПКТ сопровождается высоким уровнем маркера резорбции Dpyr/Cr и ремоделирования — остеокальцина. Повышение маркера резорбции Dpyr/Cr было связано со снижением МПКТ скелета и патологией твердых тканей зубов. Показано, что специфические костные биомаркеры дополняют имеющиеся технологии определения минеральной плотности костной ткани и на раннем этапе обследования и дают информацию о фазах ремоделирования костной ткани. Остеопороз при стрессе моделировали введением серотонина экспериментальным животным. Показана возможность коррекции остеопороза введением препаратов витамина D.

Ключевые слова: пожарные, МЧС России, лабораторные клинические технологии, минеральная плотность кости, метаболические болезни костей, биологические маркеры.

### Summary

The specialists of EMERCOM of Russia in the age from 21 to 45 years (200 firefighters), the nature of which is characterized by high psycho-emotional stress were investigated. The decrease in mineral bone density (BMD) in different regions of the skeleton was uneven, mainly observed in the lumbar spine and proximal femur; to a lesser extent, in the region of the forearm. The dependence of the mineral density of laboratory parameters of the speed and direction of metabolic processes in the bone tissue of the examined patients was shown. Reduced BMD is accompanied by a high level of marker of bone resorption Dpyr/Cr and the remodeling by osteocalcin. The increase in a marker of bone resorption Dpyr/Cr was associated with decreased BMD of the skeleton and pathology of hard tissues of teeth. It is shown that specific bone biomarkers complement existing technologies determination of the mineral density of bone tissue and at an early stage of the survey give information about the phases of bone remodeling. Osteoporosis was modeled by the introduction of serotonin to experimental animals. The possibility of correction of osteoporosis the introduction of products of vitamin D was shown.

Key words: fire, EMERCOM of Russia, clinical laboratory technology, bone mineral density, metabolic bone disease, biological markers.

## Введение

Хорошо известно, что в современном мире наблюдается рост соматической патологии населения в ответ на социальное, экологическое и психологическое напряжение. Проблема адаптационного перенапряжения и соматической патологии актуальна и для лиц, подверженных воздействию экстремальных условий труда, к числу которых относятся пожарные МЧС России [6].

При длительном стрессе обнаруживаются признаки гиперактивности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. На уровне соматического здоровья такая активация

проявляется развитием артериальной гипертензии [12], нарушением углеводного обмена [8, 9], повышением уровня серотонина [18] и остеопеническим синдромом [5].

Остеопения или остеопенический синдром (ОПС) — это собирательные понятия, используемые для обозначения сниженной массы костной ткани. Остеопороз характеризуется прогрессирующим снижением костной массы в единице объема кости по отношению к нормальному показателю у лиц

соответствующего пола и возраста. Остеопороз сопровождается нарушением микроархитектоники костной ткани, которое приводит к повышенной хрупкости костей и увеличению риска нарушения целостности костей.

Это патология, которую в настоящее время стали относить к заболеваниям, инициированным стрессом в результате выхода в кровоток костного кальция. В условиях эмоционального стресса и интенсивных физических нагрузок активируется секреция гормональных медиаторов адреналина

и норадреналина, происходит сокращение гладкомышечных клеток в стенках сосудов, сосудистое русло уменьшается, и возрастает артериальное давление [3, 12]. Высокий уровень альдостерона способствует задержке натрия и воды. Потеря калия и задержка натрия приводят к нарушению оптимального соотношения содержания этих ионов в организме и их перераспределению во внутри- и внеклеточной среде. В ответ на повышение артериального давления происходит активация ренина и ангиотензина, и избыток  $H^+$  выводится с мочой. Нейтрализация избытка  $H^+$  осуществляется карбонатом костной ткани, что сопровождается выходом кальция из кости во внеклеточную жидкость [7]. Потеря кальция костной тканью способствует развитию остеопороза, а его диффузия во внеклеточное пространство — образованию кальциатов. Существует связь серотонина и МПКТ [15]. В костной ткани присутствуют серотонин и его рецепторы, а также серотониновый транспортер и ферменты синтеза (триптофангидроксилаза) и окисления индоламина (МАО-А). Остеобласты и остециты могут синтезировать и захватывать серотонин, экспрессируют серотониновый транспортер (5-НТТ) и функциональные рецепторы серотонина [14]. Установлено содействие серотонина пролиферации первичных остеобластов [17]. Серотонин усиливает регуляцию паратгормоном активности *c-Jun* (AP-1) транскрипционного фактора в остеобластах [16]; повышает уровень остеопротегерина, принадлежащего к суперсемейству трансформирующих факторов роста, тормозящих остеокластогенез. Одновременно серотонин тормозит секрецию остеобластами нуклеарного фактора NF- $\kappa$ B, что указывает на блокирующую роль индоламина в торможении дифференцировки остеокластов [17]. Помимо изменения МПКТ скелета, аналогичные изменения декальцификации могут развиваться и в тканях зубов [1]. Согласно современным представлениям остеопороз, особенно у молодых лиц опасных профессий, подверженных высокому психоэмоциональному воздействию, можно рассматривать как стресс-индуцированную патологию. Серотонин и паратгормон являются

функциональными синергистами в отношении кальциевого обмена, усиливая резорбцию костной ткани. Паратгормон стимулирует синтез серотонина тучными клетками и наряду с соматостатином и гастрином усиливает антигениндуцированное высвобождение серотонина тучными клетками. Можно предположить, что блокада серотонинемии будет способствовать процессам остеогенеза при экспериментальном остеопорозе. Практический интерес для коррекции остеопороза представляют ряд препаратов, одним из которых является альфакальцидол — регулятор обмена кальция и фосфора, предшественник активного метаболита витамина  $D_3$  [11, 13].

Проводя клинико-лабораторное обследование лиц, работающих в экстремальных ситуациях при воздействии профессиональных повреждающих факторов, в целях прогнозирования развития возможной соматической патологии традиционно обращают внимание на состояние адаптационных систем. Изучаются параметры гормональной регуляции [2, 4], состояние периферической крови [10], антиоксидантный и витаминный статус для оценки резервных возможностей организма [8, 9]. С другой стороны, появились современные лабораторные технологии: оценка биохимических маркеров ремоделирования костной ткани, которые позволяют формировать группы риска развития стресс-индуцированной соматической патологии — остеопении и остеопороза.

**Цель работы** — показать перспективность альфакальцидола и изучения серотонина в коррекции остеопороза у лиц экстремальных профессий (на примере пожарных МЧС России) по амбулаторным данным и материалам экспериментальных исследований.

#### Материалы и методы

В клинике № 1 Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова (ВЦЭРМ) МЧС России за период 2013–2015 годов амбулаторно обследовали 200 пожарных Государственной противопожарной службы МЧС России в возрасте от 21 до 45 лет (средний возраст — 30 лет [25; 39]).

Исследование МПКТ, как эквивалента костной ткани, проводили методом рентгеновской абсорбциометрии DEXA на денситометре Lunar DPX-L (США) в отделе лучевой диагностики (заведующий — кандидат медицинских наук, доцент И. Д. Никифорова). МПКТ выражали в стандартных отклонениях (SD) от нормативных возрастных показателей костной массы (Z-критерий) по критериям Всемирной организации здравоохранения для мужчин моложе 50 лет. В зависимости от изменения МПКТ все обследованные были разделены на группы:

- I ( $n = 85$ ) — с нормальными значениями МПКТ от  $+2,5$  до  $-1,5$  SD (контрольная группа);
- II ( $n = 100$ ) — со снижением плотности кости от  $-1,5$  до  $-2,5$  SD с проявлениями остеопении;
- III ( $n = 15$ ) — со снижением плотности кости от  $-2,5$  SD и ниже с проявлениями остеопороза.

При стоматологическом осмотре провели сбор анамнестических данных, детализацию жалоб, ортопантомографию и рассчитали папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА) в модификации Parma, пародонтальный индекс (PI) и индекс гигиены (CI).

Для оценки состояния костного обмена у пожарных проводили хемилюминесцентное определение остеокальцина (нг/мл) в сыворотке крови, дезоксипиридинолина в моче (Immulite 2000, фирма Siemens, Германия) и биохимическое определение креатинина (Synchron CX9 PRO, фирма Beckman Coulter, США) в моче с расчетом соотношения Друк/Сг (нмоль/мкмоль).

Эксперименты с введением серотонина выполнены на 15 белых крысах-самках линии «Вистар» весом 220–250 г, содержащихся на стандартном рационе питания и свободном доступе к пище и воде в условиях вивария. Остеопороз моделировали введением серотонина в дозе 50 мкг/кг в течение шести месяцев (I группа). Коррекцию остеопороза проводили препаратом альфакальцидол в дозе 0,0025–0,003 мг/кг еженедельно в течение шести месяцев (II группа). Контролем служили пять крыс-са-

Таблица 1  
Маркеры резорбции у пожарных в зависимости от МПКТ, Ме [q25; q75]

Параметр	Группа			p
	I	II	III	
Друг/Сг, нмоль/мкмоль	2,8 [0,6; 3,8]	3,2 [1,1; 4,8]	4,8 [0,9; 6,1]	1/3 – 0,037
Z-критерий поясничного отдела позвоночного столба (LII – LIV)	1,1 [0,2; 1,6]	–1,8 [0,6; 2,6]	–2,9 [1,6; 4,0]	1/3 – 0,042
Z-критерий, проксимальный отдел бедра	1,0 [0,1; 1,5]	–1,5 [0,4; 2,8]	–	1/2 – 0,054
Z-критерий, предплечье	1,5 [0,7; 2,0]	–1,8 [0,6; 2,6]	–2,9 [1,6; 4,0]	1/3 – 0,037

мок того же возраста, находившихся на стандартном рационе питания в течение полугода.

В сыворотке крови экспериментальных животных определяли фосфор, кальций, альбумины, АЛТ, АСТ, щелочную фосфатазу; в костной ткани определяли фосфор, кальций и магний на анализаторе Olimpus с помощью стандартных наборов.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6.0. Для проверки согласия с нормальным типом распределения применяли критерий Шапиро-Уилка (W). Использовали метод описательной статистики с определением медианы (Me) и интерквартильного размаха показателей Ме [q25; q75]. Различия (сходство) признаков в группах определяли при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни. При сравнении нескольких групп проводили дисперсионный анализ Краскелла-Уоллиса, медианный тест и сравнение средних рангов для групп.

### Результаты и их анализ

Среди пожарных в возрасте 21–45 лет снижение МПКТ до остеопении по Z-оценке диагностируется по методике DEXA в 50 % случаев (100 человек). У 7,5 % пациентов (15 человек) был выявлен остеопороз. Неизменная МПКТ оказалась у 85 человек, что составляло 42,5 % от всех обследованных пожарных.

Снижение МПКТ в различных регионах скелета было неравномерно, преимущественно наблюдалось в поясничном отделе позвоночника и проксимальном отделе бедра, в меньшей степени в регионе предплечья.

Определение МПКТ является стандартом для установления диагноза «osteoporosis», однако низкая чувствительность при высокой чувствитель-

ности часто применяемой для этих целей методики DEXA не позволяет только по определению МПКТ предсказать в будущем возникновение остеопоротических переломов. Для предсказания выраженности потерь МПКТ в дополнение к остеоденситометрии в клинической практике рекомендовано исследование специфических костных биомаркеров в биологических жидкостях пациентов.

Для оценки состояния костного обмена были определены биохимические маркеры костного метаболизма: индекс Друг/Сг, показывающий величину резорбции кости по количеству продуктов деградации коллагена I типа в моче и остеокальцин в сыворотке крови. Остеокальцин (нг/мл) — неколлагеновый белок, связывающий кальций с образованным гидроксипапитом, является основным показателем направленности процесса обновления кости или костеобразования.

В табл. 1 представлены результаты определения индекса Друг/Сг у обследованных мужчин и значения Z-критерия изменения МПКТ различных регионов скелета. Как видно из представленных в табл. 1 данных, имеется значимая взаимосвязь снижения МПКТ с повышением уровня маркера резорбции Друг/Сг.

Во многих случаях прослеживалась связь между повышением концентрации Друг/Сг и наличием патологии твердых тканей зубов. При этом чем выше была концентрация маркера резорбции, тем больше выявлялось удаленных зубов ( $r = 0,346$ ;  $p < 0,05$ ). Обратную зависимость имело состояние тканей пародонта, которое характеризовалось нарастанием признаков воспаления в тканях десны по мере снижения показателей МПКТ обследованных участков скелета и PI ( $r = -0,547$ ;  $p < 0,01$ ), МПКТ и CI ( $r = -0,551$ ;  $p < 0,01$ ). Отмечена высокая степень корреляции подвижности зубов

со сниженной МПКТ ( $r = -0,479$ ;  $p < 0,05$ ). Корреляционный анализ позволил выявить достоверную связь Друг/Сг и индекса РМА ( $r = 0,382$ ;  $p < 0,05$ ). Можно заключить, что уровень Друг/Сг отражает активность патологического процесса не только в костной ткани скелета, но и в минерализованных тканях зубов и тканях десны — мягких тканях, состоящих из коллагеновых волокон, и альвеолярной кости.

Нормальный уровень маркера формирования костной ткани остеокальцина в сыворотке крови у мужчин составляет 8,8–37,6 нг/мл. Результаты определения остеокальцина в зависимости от изменения МПКТ представлены в табл. 2.

Показатель костного формирования — остеокальцин у молодых пожарных с ОПС (osteopenia и остеопороз) был достоверно выше, чем в группе пожарных с нормальной МПКТ. Это указывает на то, что процессы восстановления костной массы достаточно активны.

Результаты исследования фосфорно-кальциевого обмена у животных с хроническим введением серотонина приведены в табл. 3.

Как следует из табл. 3, хроническое введение серотонина увеличивает уровень сывороточного фосфора на 118,7 %, кальция — на 34,2 %. Уровень щелочной фосфатазы увеличивается на 30,4 % по сравнению с нормой при стабильной функции почек и белоксинтезирующей функции печени.

Воздействие альфакальцидолом в течение шести месяцев у крыс с остеопорозом, вызванным полугодовым введением серотонина (табл. 3), приводит к нормализации содержания кальция и фосфора, их соотношение составило 1,12 : 1, уровень магния в костной ткани данной группы животных резко снижен, что свидетельствует о неполной минерализации костной ткани.

Таблица 2  
Маркеры формирования костной ткани у пожарных в зависимости от МПКТ, Ме [q25; q75]

Параметр	Группа пожарных			p
	I	II	III	
Остеокальцин, нг/мл	6,0 [0,6; 3,8]	10,2 [8,9; 20,1]	10,4 [6,6; 13,5]	1/2 – 0,043 1/3 – 0,045
Z-критерий поясничного отдела позвоночного столба (LIII — LIV)	1,1 [0,2; 1,6]	-1,8 [0,6; 2,6]	-2,9 [1,6; 4,0]	1/3 – 0,042
Z-критерий, проксимальный отдел бедра	1,0 [0,1; 1,5]	-1,5 [0,4; 2,8]	–	1/2 – 0,054
Z-критерий, предплечье	1,5 [0,7; 2,0]	-1,8 [0,6; 2,6]	-2,9 [1,6; 4,0]	1/2 – 0,050 1/3 – 0,043

Таблица 3  
Динамика биохимических показателей крови у крыс при различных условиях

Исследуемая группа	Альбумин, г/л	Фосфор, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л	Кальций, ммоль/л	Щелочная фосфатаза, Е/л
Введение серотонина	35,0 ± 3,8	3,5 ± 0,4	56,9 ± 5,0	2,90 ± 0,21	61,3 ± 7,2
Введение серотонина на фоне альфакальцидола	34,4 ± 5,2	2,32 ± 1,10	55,5 ± 5,6	2,36 ± 0,39	47,2 ± 4,5*
Контроль	35,0 ± 3,2	1,6 ± 0,3	72,4 ± 2,0	2,16 ± 0,08	45,5 ± 5,3
p	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

## Заключение

При комплексном исследовании метаболических процессов на основании оценки уровней маркеров костной резорбции и костного формирования у молодых пожарных МЧС России в большинстве случаев выявляется высокий уровень Друп/Сг и остеокальцина. Такие показатели характерны для повышения ремоделирования костной ткани.

Показано, что специфические костные биомаркеры дополняют имеющиеся технологии определения минеральной плотности костной ткани и уже на раннем этапе обследования дают информацию о фазах ремоделирования костной ткани. Это обстоятельство особенно важно, так как до возникновения переломов клинические проявления остеопороза носят неспецифический характер, в частности, связаны с изменением состояния зубо-челюстной системы: нарастанием признаков воспаления в тканях десны, увеличенной подвижностью зубов и снижением МПКТ в нескольких регионах скелета.

В костной ткани, как отмечено выше, представлены основные элементы серотонинергической системы: серотонин, серотонинорецепторы, фермент синтеза индоламина триптофангидроксилаза; фермент, разрушающий серотонин (МАО). На экспериментальной модели показаны возможные механизмы действия серотонина как патогенного фактора развития остеопороза: нарушение абсорбции и баланса кальция, фосфора и магния. Серотонинемия

способствует развитию остеопороза у интактных животных. Можно допустить, что блокада серотонинемии будет способствовать процессам остеогенеза при экспериментальном остеопорозе.

## Список литературы

- Бузунов А. Ф. Формирование соматических последствий адаптационного синдрома: цена цивилизации. М.: Практ. медицина, 2010. 352 с.
- Дрыгина Л. Б. Клинико-лабораторные критерии оценки состояния адаптационно-регуляторных систем у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС // 25 лет после Чернобыля: состояние здоровья, патогенетические механизмы, опыт медицинского сопровождения ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции. СПб.: Медкнига: ЭЛБИ-СПб, 2011. С. 461–476.
- Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Основы общей патологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 1999. 376 с.
- Иваницкая Н. Ф. Нейроэндокринные нарушения у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения после аварии на Чернобыльской АЭС, в отдаленные сроки // Лікарська справа. 1992. № 1. С. 35–37.
- Лычкова А. Э. Нервная регуляция метаболизма костной ткани. Вестник РАМН, 2011; 3: 42–47.
- Матюшин А. В., Порошин А. А., Шишков М. В. [и др.]. Оценка профессионального риска и обоснование необходимого резерва численности пожарных // Пробл. анализа риска. 2009. Т. 6, № 2. С. 6–13.
- Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы): справочник / под ред. А. И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2001. 530 с.
- Новицкий А. А. Синдром хронического эколого-профессионального перенапряжения и проблемы сохранения здоровья личного состава в процессе военно-профессиональной деятельности // Тр. Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова. СПб., 1993. Т. 235. С. 8–17.

- Новицкий А. А., Алексанин С. С., Дударенко С. В. Механизм развития патологии внутренних органов в условиях экологического и профессионального перенапряжения регуляторных систем организма человека // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2010. № 1. С. 5–9.
- Подколзин А. А. Патолофизиологические механизмы синдрома хронической усталости. М.: Биоинформсервис, 2000. 124 с.
- Телюшенко М. В., Попов А. А. Оценка риска падения женщин с постменопаузальным остеопорозом, получающих альфакальцидол. Остеопороз и остеопатии. — 2010; № 3.
- Титов В. Н., Дмитриев В. А. Ожирение-патология адипоцитов: число клеток, объем артериального русла, локальные пулы циркулирующей *in vivo*, натрийуретические пептиды и артериальная гипертензия // Клини. лаб. диагностика. 2015. № 3. С. 4–13.
- Шварц Г. Я. Дефицит витамина D и его фармакологическая коррекция // РМЖ. 2009. № 7. С. 499.
- Czekanska E. M., Stoddart M. J., Richards R. G., Hayes J. S. In search of an administration leads to higher bone mineral density, affects bone architecture, and leads to higher femoral bone stiffness in rats // Eur. Cell. Mater. 2012. Vol. 9. № 24. P. 1–17.
- Sen Gupta P., Grozinsky-Glasberg S., Drake W. M. et al. Are serotonin metabolite levels related to bone mineral density in patients with neuroendocrine tumours? // Clin. Endocrinol. (Oxf). 2014. Vol. 80. № 2. P. 246–252.
- Bliziotis M. M., Eshleman A. J., Zhang X. W., Wiren K. M. Neurotransmitter action in osteoblast cell model for *in vitro* research // J. Cell. Biochem. 2006. Vol. 15. Т. 97. № 6. P. 1283–1291.
- Gustafsson B. I., Westbroek I., Waarsing J. H. et al. Long-term serotonin osteoblasts: expression of a functional system for serotonin receptor activation and reuptake // Bone. 2001. Vol. 29. № 5. P. 477–486.
- Chaouloff F., Berton O., Mormède P. Serotonin and stress // Neuropharmacology. 1999. Vol. 21. (2 Suppl.). S. 28–32.

