УДК 616.24-007.271-036.12:616.15]+612.015.1:616.24-002.5-036.83

УРОВЕНЬ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА В СИСТЕМНОМ КРОВОТОКЕ И В ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЕ У БОЛЬНЫХ ХОЗЛ, ПЕРЕНЕСШИХ ТУБЕРКУЛЕЗ ЛЕГКИХ

М.Н. Гришин, Н.В. Обухова

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь; Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького.

LEVEL OF OSTEOPROTEGERIN IN THE SYSTEMIC BLOOD FLOW AND IN INDUCED SPUTUM AMONG PATIENTS WITH COPD AND PAST PULMONARY TUBERCULOSIS

M.N. Grishin, N.V. Obukhova

SUMMARY

Systemic and regional (in the induced sputum and in the cadaveric blood from different vascular regions in the post mortem studies) levels of osteoprotegerin were studied among patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) who have past pulmonary tuberculosis. It was revealed that the patients with COPD have got a system-regional discrete of content of osteoprotegerin, that means decreasing of the cytokine level in the serum on the one hand and its increasing in the induced sputum on the other. Past pulmonary tuberculosis among patients with COPD is a risk factor for significant decreasing of the osteoprotegerin level in the systemic blood flow (increasing risk of the osteopenic syndrome), as well as for increasing of cytokine level in induced sputum. The last increasing is formed by a local synthesis of cytokine (in bronchial tissue), but not due to increasing of its level in the blood which enter the pulmonary circulation through the inferior vena cava.

The optimal way of delivering drugs for a possible correction of the regional osteoprotegerin level is either inhaled or endobronchial method with use of therapeutic bronchoscopy.

РІВЕНЬ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНУ В СИСТЕМНОМУ КРОВОТОЦІ ТА В ІНДУКОВАНОМУ МОКРОТИННІ У ХВОРИХ НА ХОЗЛ, ЩО ПЕРЕХВОРІЛИ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

М.М. Гришин, Н.В. Обухова

РЕЗЮМЕ

У хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), які перехворіли на туберкульоз легень, вивчено системний і регіонарний (в індукованому мокротинні, а також в кадаверній крові з різних судинних регіонів в дослідженні post mortem) рівень остеопротегерину. Встановлено, що у хворих на ХОЗЛ має місце системно-регіонарна дискретність вмісту остеопротегерину: зниження рівня цитокіну в сироватці крові і підвищення – в індукованому мокротинні. Перенесений в анамнезі туберкульоз легень у хворих на ХОЗЛ є фактором ризику істотного зниження рівня остеопротегерину в системному кровотоці (зростання ризику розвитку остеопенічного синдрому), а також збільшення рівня цитокіну в індукованому мокротинні. Останнє формується за рахунок локального (на рівні тканин бронхів) синтезу цитокіну, але не за рахунок зростання його рівня в крові, що надходить в мале коло кровообігу через нижню порожнисту вену.

Оптимальним шляхом доставки лікарських засобів для можливої корекції регіонарного рівня остеопротегерину є інгаляційний, або ендобронхіальний з використанням лікувальної фібробронхоскопії.

Ключевые слова: остеопротегерин, хроническое обструктивное заболевание легких, туберкулез легких.

В ряду заболеваний, оказывающих непосредственное влияние на течение хронической бронхообструктивной патологии, особое место занимает туберкулез (ТБ) легких, выступающий в качестве клинического маркера резкого снижения многочисленных защитных «барьеров» системы органов дыхания [3]. Важным патогенетическим механизмом как хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), так и ТБ легких является дисбаланс цитокинового гомеостаза, выступающий, с одной стороны, весомым фактором хронизации и прогрессирования ХОЗЛ, с другой – важным участником антимикобактериальной защиты при туберкулезе [6].

Нарушения как системного, так и регионарного цитокинового потенциала рассматриваются и как ключевой механизм развития системных проявлений ХОЗЛ, включая снижение минеральной плотности кости (выявляемое у всех больных) [6]. Последнее характеризуется нарастанием частоты переломов различной локализации, что существенно ухудшают качество жизни больных за счет болевого синдрома, ухудшения функции внешнего дыхания, ограничения подвижности, а также могут быть ассоциированы и со смертностью больных ХОЗЛ [7]. В этой связи проблема профилактики прогрессирования остеопороза у больных ХОЗЛ может рассматриваться как важная задача современной пульмонологии [10].

В последнее десятилетие учение о системных

эффектах при ХОЗЛ существенно дополнилось научными фактами о роли в развитии остеопороза системы цитокинов, факторов роста, транскрипционных факторов, различных регуляторных белков и ферментов, а также наименее изученной группы местных факторов, объединяемых в систему RANKL/RANK/OPG [1, 8, 11].

В свете вышеизложенного дальнейшее изучение патогенетической сущности цитокин-опосредованных механизмов прогрессирования ХОЗЛ у лиц после перенесенного ТБ легких представляется нам весьма перспективным направлением, ибо оно является базисом для разработки новых путей дифференцированной патогенетической терапии хронических обструктивных болезней легких, включая снижение риска развития и прогрессирования остеопенического синдрома.

Основной целью исследования явилось научное обоснование целесообразности использования и оценка клинической эффективности оптимизированной базисной терапии для коррекции регионарного (эндобронхиального) остеопротегерин-зависимого дисбаланса цитокинового гомеостаза при хроническом обструктивном заболевании легких у лиц, перенесших туберкулез легких. В настоящей работе нами представлены результаты изучения у подобных больных системного и регионарного (в индуцированной мокроте, а также в кадаверной крови из различных сосудистых регионов) уровня остеопротегерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением состояло 83 больных ХОЗЛ (I-II степени тяжести, стабильное течение), которых распределили следующим образом: в 1-ю группу вошли 41 больной ХОЗЛ, 2-ю группу составили 42 больных ХОЗЛ, перенесшие различные формы ТБ легких. Контролем служили 28 здоровых лиц в соответствующем возрастном диапазоне.

Дополнительно нами обследовано 20 умерших больных: 3-ю группу составили 16 умерших больных ХОЗЛ (GOLD стадия III-IV), 4-ю группу составили 18 умерших больных ХОЗЛ (GOLD стадия III-IV), перенесших ТВС легких. Материалом исследования у больных 3-й и 4-й групп служила кадаверная кровь. Смерть у больных 3-й и 4-й групп наступила с коротким агональным периодом. Забор крови у всех умерших людей осуществлялся в интервале до 6 часов с момента смерти из различных сосудистых регионов.

Концентрацию остеопротегерина в сыворотке крови и в индуцированной мокроте (которую собирали после многократной ингаляции гипертонического раствора хлорида натрия через небулайзер) определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов Human Osteoprotegerin (OPG) ELISA Kit компании Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG (Австрия). Оценка результатов осуществлялась фотометрически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования уровня остеопротегерина в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп представлены в табл. 1.

Таблица 1

Уровень остеопротегерина в сыворотке крови у больных ХОЗЛ 1-й и 2-й групп, пг/мл

Группа	Статистический показатель	Остеопротегерин
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	1378,30 ± 56,73 41 < 0,001
2-я группа (ХОЗЛ и туберкулез легких в анамнезе)	M ± m n p p_1	1087,63 ± 44,17 42 < 0,001 < 0,001
Здоровые лица	M ± m n	1878,18 ± 64,76 28

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с группой здоровых лиц, p_1 – достоверность различий, высчитанная в сравнении с 1-й группой больных.

Как видно из табл. 1, у больных 1-й и 2-й групп уровень остеопротегерина в сыворотке крови снижен соответственно на 27,7 % и 43,2 % ($p < 0,001$). Обращает на себя внимание, что у больных 2-й группы исследованный показатель на 21,5 % ($p_1 < 0,001$) ниже, чем у больных 1-й группы. Таким образом, перенесенный туберкулез легких является «фактором отягощения» риска формирования остеопенического синдрома у больных ХОЗЛ.

В целом полученные нами данные подтверждают результаты исследований Кочетковой Е.А. и соавт. (2010), которые установили, что уровень остеопротегерина в периферической крови при ХОЗЛ существенно снижается [1]. В работе Eagan T. и соавт. (2010) у больных ХОЗЛ выявлена также отрицательная корреляционная связь между индексом массы тела и уровнем остеопротегерина [9]. Снижение концентрации остеопротегерина у больных со средне-

тяжелой и тяжелой стадией ХОЗЛ, более выраженное при тяжелой степени ХОЗЛ и у курящих больных выявлено и в исследовании Буря К.А. и соавт. (2011) [2].

Результаты исследования уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте у больных 1-й и 2-й групп представлены в табл. 2.

Таблица 2

Уровень остеопротегерина в индуцированной мокроте у больных 1-й и 2-й групп, пг/мл на ед. белка

Группа	Статистический показатель	Остеопротегерин
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	14660,49 ± 563,66 41 < 0,001
2-я группа (ХОЗЛ и ТВС легких в анамнезе)	M ± m n p p_1	19772,00 ± 701,49 42 < 0,001 < 0,001
Здоровые лица	M ± m n	2565,45 ± 109,28 28

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с группой здоровых лиц, p_1 – достоверность различий, высчитанная в сравнении с 1-й группой больных.

Анализ представленных в табл. 2 данных свидетельствует, что у больных 1-й и 2-й групп уровень остеопротегерина в индуцированной мокроте, в отличие от системного кровотока, повышен соответственно в 5,6 раз и 7,4 раза ($p < 0,001$). При этом уровень остеопротегерина в индуцированной мокроте у больных 2-й группы на 32,3 % ($p_1 < 0,001$) выше, чем у больных 1-й группы. Повышение уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте у больных ХОЗЛ выявлено To M. и соавт. (2011) [11].

Таким образом, у больных ХОЗЛ имеет место системно-регионарная (ткани бронхов > индуцированная мокрота) дискретность содержания остеопротегерина.

Учитывая, что у взрослых людей мРНК остеопротегерина интенсивно экспрессируется в различных тканях, включая легкие, печень, сердце, почки, кости и др. [4], нами в исследовании *post mortem* (смерть наступила с коротким агональным периодом, кадаверная кровь исследовалась в интервале 6 часов с момента смерти) исследован уровень остеопротегерина в кадаверной крови из различных сосудистых регионов у больных с прижизненно диагностированным ХОЗЛ (GOLD стадия III-IV) – 3-я группа, а также ХОЗЛ (GOLD стадия III-IV) и перенесенным туберкулезом легких – 4-я группа. Нужно подчеркнуть, что с учетом фактора посмертных изменений показателя (прогрессирующее снижение с момента смерти), расчет проводился в % к уровню цитокина «на периферии» – в v.subclavia, условно принятому за 100%.

Результаты исследования уровня остеопротегерина в кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 6-й и 7-й групп представлены в табл. 3.

Нами установлено (табл. 3), что у больных как 3-й группы (без перенесенного ТБ легких в анамнезе), так и у больных 4-й группы (перенесших ТБ легких) в кадаверной крови содержится цитокин остеопротегерин. При этом перенесенный туберкулез легких не оказывает существенного влияния на соотношение исследованного показателя в различных сосудистых регионах: различия между значениями цитокина у больных 3-й и 4-й групп в соответствующих сосудистых регионах недостоверны.

Обращает на себя внимание максимальное возрастание показателя у лиц 3-й и 4-й групп в сосудистом регионе печеночных вен (v.v.hepaticae), а также достоверное возрастание уровня остеопротегерина после прохождения крови через печень: достоверность различия между показателем в крови воротной вены и в крови из печеночных вен у больных 3-й и 4-й групп составляет соответственно < 0,02 и < 0,001. Указанные факты являются подтверждением активного участия печени в синтезе остеопротегерина.

Таким образом, результаты наших исследований *post mortem* свидетельствуют, что существенный рост уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте формируется за счет локального (на уровне тканей бронхов) синтеза цитокина, но не за счет возрастания его уровня в крови, поступающей в малый круг кровообращения через нижнюю полую вену. Эти факты, в частности, позволяют предположить, что оптимальным путем доставки лекарственных средств для возможной коррекции регионарного (ткани бронхов, эндобронхиального) уровня остеопротегерина будет являться ингаляционный, либо эндобронхиальный.

ВЫВОДЫ

1. У больных ХОЗЛ имеет место системно-регионарная (ткани бронхов > индуцированная мокрота) дискретность содержания остеопротегерина: снижение уровня цитокина в сыворотке крови и повышение – в индуцированной мокроте.

Таблица 3

Топографическая характеристика уровня остеопротегерина в кадаверной крови из различных сосудистых регионов лиц 3-й и 4-й групп; с учетом фактора посмертных изменений показателя (прогрессирующее снижение), расчет проводился в % к уровню цитокина «на периферии» – в v.subclavia, условно принятому за 100%

Сосудистый регион	Стат. показ.	Уровень остеопротегерина в кадаверной крови умерших больных ХОЗЛ (GOLD стадия III-IV) 3-й группы	Уровень остеопротегерина в кадаверной крови умерших больных ХОЗЛ (GOLD стадия III-IV) 4-й группы, перенесших туберкулез легких
подключичная вена (v.subclavia)	M ± m n	100 ± 0 16	100 ± 0 18
полость правого желудочка (ventriculus dexter)	M ± m n p	113 ± 5 16 –	117 ± 5 18 > 0,5
полость левого желудочка (ventriculus sinister)	M ± m n p	108 ± 3 16 –	103 ± 6 18 < 0,5
печеночные вены (v.v.hepaticae)	M ± m n p	117 ± 6 16 –	121 ± 5 18 > 0,5
воротная вена (v.portae)	M ± m n p	97 ± 5 16 –	92 ± 5 18 < 0,5
верхняя брыжеечная вена (v.mesenterica superior)	M ± m n p	95 ± 4 16 –	96 ± 4 18 > 0,5
нижняя брыжеечная вена (v.mesenterica inferior)	M ± m n p	98 ± 3 16 –	92 ± 5 18 < 0,5
вены поджелудочной железы (v.v.pancreaticae)	M ± m n p	87 ± 3 16 –	83 ± 4 18 < 0,5
селезеночная вена (v.lienalis)	M ± m n p	104 ± 4 16 –	103 ± 5 18 > 0,5
нижняя полая вена (v.cava inferior) до впадения печеночных вен	M ± m n p	110 ± 3 16 –	114 ± 5 18 < 0,5

Примечание: p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с соответствующим сосудистым регионом у лиц 3-й группы.

2. Перенесенный в анамнезе туберкулез легких у больных ХОЗЛ является фактором риска существенного снижения (на 21,5%, $p_1 < 0,001$) уровня остеопротегерина в системном кровотоке (возрастание риска развития остеопенического синдрома), а также увеличения (на 32,3%, $p_1 < 0,001$) в индуцированной мокроте.

3. Возрастание уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте формируется за счет локального (на уровне тканей бронхов) синтеза цитокина, но не за счет возрастания его уровня в крови, поступающей в малый круг кровообращения через нижнюю полую вену.

4. Оптимальным путем доставки лекарственных

средств для возможной коррекции регионарного (ткани бронхов, эндобронхиального) уровня остеопротегерина является ингаляционный, либо эндобронхиальный с использованием лечебной фибробронхоскопии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Остеопротегерин и минеральная плотность костной ткани у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / Е.А. Кочеткова, В.А. Невзорова, Ю.В. Майстровская, Ж. Массард // Тер. архив. – 2010. – Т. 82, № 8. – С. 10 - 14.

2. Роль остеопротегерина в формировании остеопенического синдрома при среднетяжелой и тяжелой хронической обструктивной болезни легких / К.А. Буря, Л.Г. Угай, С.А. Албавичус, Е.А. Кочеткова // Превентивная медицина: вызовы XXI века: тез. докл. Всерос. науч. школы (Омск, 14–15 ноября 2011 г.). – Омск: Изд-во Ом. гос. ун-та, 2011. – С. 44 - 46.

3. Тімченко О.Б. Клініко-імунологічне обгрунтування комплексної терапії обструктивних захворювань легенів у хворих, котрі перенесли туберкульоз легенів: автореф. дис... кандидата мед. наук: 14.01.27 - пульмонологія / Тімченко Олег Борисович. - Ялта, 2008. – 121 с.

4. Шварц Г.Я. Остеотропные цитокины семейства TNF и создание нового поколения лекарственных средств для лечения остеопороза / Г.Я. Шварц // Цитокины и воспаление. - 2004. – N. 3. – С. 38 - 45.

5. Agusti A. Neff lecture. Chronic obstructive pulmonary disease: a systemic disease / A.Agusti, A.Thomas // Proc. Am. Thorac. Soc. - 2006. - Vol.3. - P.478 – 481.

6. Analysis of tumor necrosis factor-α, lymphotoxin-α, tumor necrosis factor receptor II, and interleukin-6 polymorphisms in patients with idiopathic pulmonary fibrosis / P. Pantelidis, G.C. Fanning, A.U. Wells [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. - 2001. – Vol. 163. – P. 1432 – 1436.

7. Association between corticosteroid use and vertebral fractures in older men with chronic obstructive pulmonary disease / C. McEvoy, K. Ensrud, E. Bender [et. al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. - 1998. - Vol. 157. - P. 704 - 709.

8. Biskobing D.M. COPD and Osteoporosis / D.M. Biskobing // CHEST. – 2002. - Vol. 121, N. 2. - P. 609-620.

9.Body composition and plasma levels of inflammatory biomarkers in COPD / T.M.L. Eagan, P. Aukrust, T. Ueland [et. al.] // Eur. Respir. J. – 2010. - Vol. 36, № 5. – P. 1027 - 1033.

10. Orcel P. Chronic respiratory failure and osteoporosis: a difficult problem to unravel / P. Orcel // Rev. Mal. Respir. – 2001. – Vol. 18, N. 4. – P. 361 - 363.

11.Osteoprotegerin in sputum is a potential biomarker in COPD / M. To, K. Ito, P.M. Ausin [et. al.] // CHEST. - 2011. - Vol. 140, N. 1. - P. 76 – 83.