

Комплексный подход к диагностике и коррекции остеопоротических изменений у женщин в постменопаузе

И.С.Захаров[✉], Г.И.Колпинский, Г.А.Ушакова, Г.В.Вавин

ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава России.
650029, Россия, Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а

В представленном исследовании были определены возможности комплексной диагностики и коррекции резорбтивных процессов костной ткани, ассоциированных с постменопаузальным остеопорозом, учитывая маркеры оксидативного стресса. Была оценена предикторная роль малонового диальдегида (МДА), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в развитии остеопоротических изменений. Проведено простое слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование по оценке эффективности антиоксидантного комплекса Селцинк® плюс. Курс антиоксидантной коррекции в течение 6 мес достоверно снижал концентрацию МДА ($p=0,002$) и повышал активность СОД ($p=0,001$) по сравнению с плацебо. При этом статистически значимо уменьшались показатели дезоксиридинолина мочи ($p=0,03$) – маркера резорбтивных процессов костной ткани.

Ключевые слова: резорбция костной ткани, прооксиданты, антиоксиданты, оксидативный стресс.

[✉]isza@mail.ru

Для цитирования: Захаров И.С., Колпинский Г.И., Ушакова Г.А., Вавин Г.В. Комплексный подход к диагностике и коррекции остеопоротических изменений у женщин в постменопаузе. Гинекология. 2015; 17 (3): 26–29.

An integrated approach to the diagnosis and correction of osteoporotic changes in postmenopausal women

IS.Zakharov[✉], GI.Kolpinskiy, GA.Ushakova, GV.Wavin

Kemerovo State Medical Academy, 650029, Russian Federation, Kemerovo, ul. Voroshilova, d. 22a

In the present study the possible comprehensive diagnosis and correction processes of bone resorption associated with postmenopausal osteoporosis are identified, given the markers of oxidative stress. The predictive role of MDA, SOD and catalase in the development of osteoporotic changes was evaluated. A single-blind, randomized, placebo-controlled study evaluating the efficacy of antioxidant complex SeltSinkR plus was held. Antioxidant course correction for 6 months significantly reduced the concentration of MDA ($p=0.002$) and increased the activity of SOD ($p=0.001$) compared to placebo. At the same time significantly reduced urine deoxyuridinoline indicators ($p=0.03$) is a marker of bone resorption process.

Key words: bone resorption, pro-oxidants, anti-oxidants, oxidative stress.

[✉]isza@mail.ru

For citation: Zakharov IS., Kolpinskiy GI., Ushakova GA, Wavin GV. An integrated approach to the diagnosis and correction of osteoporotic changes in postmenopausal women. Gynecology. 2015; 17 (3): 26–29.

Н еуклонное увеличение числа лиц старшего возраста приводит к росту заболеваний, имеющих связь с инволютивными процессами, происходящими в организме. Одним из распространенных неинфекционных заболеваний в мире является остеопороз [1]. Женщины чаще, чем мужчины, страдают данной патологией, при этом с увеличением возраста ее распространенность увеличивается [2].

Большую часть репродуктивного возраста у женщин отмечается баланс между образованием и резорбцией костной ткани. Важным патогенетическим аспектом формирования постменопаузального остеопороза является гипостроения, связанная с наступлением менопаузы. Снижение уровня эстрогенов в организме, в свою очередь, приводит к разным метаболическим нарушениям [3].

Процесс резорбции кости детерминирован активностью остеокластов, функция которых регулируется большим количеством экзо- и эндогенных агентов. В последнее время появились исследования, демонстрирующие значимую роль прооксидантов, участвующих в формировании окислительного (оксидативного) стресса, в активации остеокластов [4–6].

Под прооксидантами подразумеваются активные формы кислорода, представляющие собирательное понятие, которое объединяет соединения, образованные восстановленной молекулой кислорода. Дисбаланс между прооксидантными и антиоксидантными агентами носит название оксидативного стресса. Одно из ключевых мест в ряду свободных радикалов занимает малоновый диальдегид (МДА) – конечный продукт перекисного окисления липидов. К со-

единениям, обладающим антиокислительным действием, относятся ферментные (супероксиддисмутазы – СОД, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) и низкомолекулярные антиоксиданты (аскорбиновая кислота, ретинолы, токоферолы, флавоноиды, мочевая кислота, билирубин). Антиокислительные агенты предотвращают избыточное образование активных форм кислорода и продукцию перекисного окисления липидов [7].

Ряд публикаций показал изменение уровня прооксидантов и антиоксидантов у пациентов с остеопорозом [8–12].

Прооксиданты, взаимодействуя с RANCL (Receptor activator of NF- κ B ligand), участвуют в дифференцировке гемопозитических клеток, формируя остеокласты, в результате чего развиваются остеопоротические изменения и гиперкальциемия [13].

Таким образом, оценка показателей прооксидативной и антиоксидативной активности позволит дополнить диагностику резорбтивных процессов у женщин в постменопаузальном периоде, что, в свою очередь, будет способствовать проведению комплексной коррекции остеопоротических изменений, происходящих в организме после наступления менопаузы.

Цель исследования – определить возможности комплексной диагностики и коррекции резорбтивных процессов костной ткани, ассоциированных с постменопаузальным остеопорозом, учитывая маркеры оксидативного стресса.

Материал и методы

На первом этапе в исследовании согласились участвовать 195 женщин постменопаузального периода. Всем была

Таблица 1. Биохимические маркеры оксидативного стресса и уровень DPD у женщин в постменопаузе

Показатель	Норма (n=48)	Остеопения (n=89)	Остеопороз (n=58)
МДА плазмы, мкмоль/л	5,95±2,0	8,1±1,3 $p_1=0,001$	9,35±3,0 $p_2=0,001$
СОД эритроцитов, %	39,95±5,5	35,5±3,1 $p_1=0,001$	32,15±4,9 $p_2=0,001$
Каталаза эритроцитов, %	67,9±7,5	64,5±3,8 $p_1=0,001$	55,65±5,9 $p_2=0,001$
DPD	6,8±2,55	7,5±2,0 $p_1=0,002$	12,2±4,9 $p_2=0,001$

Примечание: p_1 – уровень статистической значимости различий лабораторных показателей женщин с остеопенией по сравнению с лабораторными показателями женщин, имеющих нормальные значения МПК; p_2 – уровень статистической значимости различий лабораторных показателей женщин с остеопорозом по сравнению с лабораторными показателями женщин, имеющих остеопению.

проведена двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (ДРА). Для изучения минеральной плотности кости (МПК) использовался костный денситометр Lunar-DPX-NT (GE Healthcare, Великобритания). Проводилось сканирование I–IV поясничных позвонков и шейки бедренной кости. Для оценки результатов рассчитывался Т-критерий, соответствующий количеству стандартных отклонений от средних пиковых значений МПК молодых женщин. Т-критерий, находящийся в диапазоне от -1 до -2,4, свидетельствует об остеопении, -2,5 и ниже – об остеопорозе [14].

Помимо рентгеновской денситометрии женщинам проводилось определение уровня дезоксипиридинолина мочи (DPD) – биохимического маркера резорбции костной ткани, МДА, а также уровня СОД и каталазы – важных антиокислительных ферментов.

Определение DPD выполнялось на анализаторе IMMULITE 2000 методом иммуноферментного анализа с помощью набора Pyrilinks-D. Исследовалась утренняя моча, собранная до 10 ч утра. Для стандартизации показателей определялось соотношение DPD к концентрации креатинина мочи. Референтными значениями для женщин старше 25 лет являются показатели: 3,0–7,4 нмоль DPD/ммоль креатинина.

Концентрация МДА в плазме крови определялась методом спектрофотометрии, который основан на определении продукта реакции с тиобарбитуровой кислотой в кислой среде в присутствии ионов Fe^{2+} [15]. Расчет содержания МДА проводился в мкмоль/л. Активность СОД и каталазы эритроцитов определяли методом спектрофотометрии [16]. Расчет проводили по формулам: активность СОД (в %) = $(E_k - E_o)/E_k \times 100$; активность каталазы (в %) = $(E_k - E_o)/E_k \times 100$, где E_o и E_k – экстинкции соответственно опытной и контрольной проб.

Оценка МДА плазмы крови, СОД, каталазы эритроцитов и DPD осуществлялась в начале исследования и спустя 6 мес.

После проведения рентгеновской денситометрии были отобраны 57 женщин, имеющих остеопороз (Т-критерий -2,5 и ниже), которые и составили основную группу исследования. Критериями включения являлись: постменопаузальный период; согласие женщин на проведение исследования и обработку персональных данных; отсут-

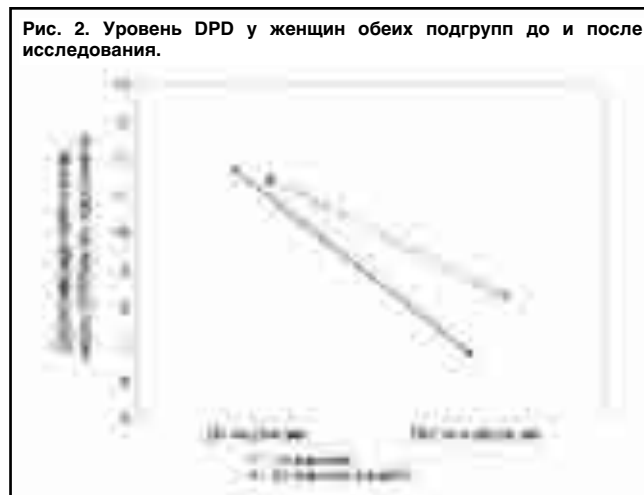
ствии заболеваний, приводящих к формированию вторичного остеопороза; соблюдение полного объема обследования и режима приема препарата. Критериями исключения являлись: наличие заболеваний, приводящих к формированию вторичного остеопороза; прием препаратов заместительной гормональной терапии; прием лекарственных средств, приводящих к формированию остеопороза; отсутствие согласия женщины на проведение исследования.

Пациентки основной группы исследования были рандомизированы на 2 подгруппы. 1-я подгруппа включала женщин (n=31), принимавших антиоксидативный комплекс Селцинк® плюс; 2-я подгруппа (n=23) – плацебо. Три женщины отказались от дальнейшего участия в исследовании, не объясняя причин. В качестве антиоксидантной коррекции использовался витаминно-минеральный комплекс Селцинк® плюс по схеме: 1 таблетка 2 раза в сутки. Данный комплекс в своем составе имеет как неферментные низкомолекулярные антиоксиданты (аскорбиновую кислоту, α -токоферол, β -каротин), так и микроэлементы (цинк, селен), входящие в состав ферментных антиоксидантных агентов, за счет чего достигается комплексное антиокислительное воздействие. В качестве плацебо использовались таблетки глюкозы. В базовую терапию обеих подгрупп входили препараты кальция 1000 мг и витамина D_3 400 МЕ. Рандомизация проводилась с использованием восьмигранного кубика – при выпадении нечетной стороны пациентка включалась в 1-ю подгруппу, четной – во 2-ю. Длительность исследования составила 6 мес.

Женщины обеих подгрупп были сопоставимы по возрасту, росту-весовым показателям, длительности постменопаузального периода.

Эффективность применения антиоксидантной терапии оценивалась по уровню МДА, СОД, каталазы. В качестве лабораторного маркера резорбции костной ткани использовались показатели уровня изменения DPD.

Для статистической обработки применялась программа StatSoft Statistica 6.1. Нормальность распределения показателей определялась методом Колмогорова–Смирнова. Для описания качественных признаков использовались процентные доли и стандартные ошибки долей, количественных показателей –



медиана (М) и квантили. Для определения статистической значимости различий между количественными признаками двух групп применялся U-критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Исследование было одобрено этическим комитетом ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования методом ДРА остеопороз был выявлен у 29,7±3,3%, остеопения – у 45,7±3,6%, нормальные показатели МПК – у 24,6±3,1% обследованных женщин.

В соответствии со значениями МПК проводилась оценка уровня МДА плазмы крови, СОД, каталазы эритроцитов и маркера резорбции костной ткани – DPD.

Из табл. 1 видно, что показатели МДА, СОД и каталазы имеют статистически значимые отличия у женщин с разным уровнем МПК. Увеличение прооксидантной активности (МДА) плазмы крови у женщин с остеопенией и остеопорозом косвенно свидетельствовало о недостаточности антиоксидантной защиты, что подтверждалось лабораторно.

Рост концентрации МДА плазмы крови и снижение активности СОД и каталазы эритроцитов являются признаком оксидативного стресса, который в представленном исследовании ассоциирован со снижением МПК. Увеличение концентрации прооксидантов способствует повышению активности остеокластов, приводя к усилению резорбции костной ткани, о чем свидетельствует уровень DPD.

Увеличение уровня DPD ассоциировано со снижением МПК. При нормальных показателях МПК (Т-критерий выше -1) значения DPD соответствовали 6,8±2,55, при остеопении (Т-критерий от -1 до -2,4) – 7,5±2,0. Выраженное же повышение DPD отмечалось у женщин с остеопорозом – 12,2±4,9 нмоль DPD/ммоль креатинина (рис. 1).

В результате приведенные показатели оксидативного стресса могут рассматриваться в качестве предикторов в комплексном прогнозировании развития остеопороза.

После стратификации обследованных с остеопорозом проводилась рандомизация согласно ранее описанной схеме на две подгруппы для проведения оценки эффективности применения антиоксидантов в комплексной коррекции резорбции костной ткани.

Эффективность использования антиоксидантного комплекса изучалась по уровню МДА, СОД, каталазы. В качестве лабораторного маркера резорбции костной ткани оценивался DPD.

Определение уровня МДА, СОД, каталазы и DPD у женщин до проведения коррекции представлено в табл. 2. Статистически значимых различий между лабораторными показателями изучаемых групп не было.

На протяжении 6 мес женщины 1-й подгруппы принимали комплекс Селцинк® плюс по ранее описанной схеме. Проведенное исследование показало, что на фоне курса антиоксидантной терапии значимо снижалась концентрация МДА плазмы крови по сравнению с группой лиц, принимающих плацебо (p=0,002).

Наряду с этим происходило статистически значимое увеличение активности СОД эритроцитов по сравнению с плацебо-подгруппой (p=0,001). Этот факт, вероятно, связан с тем, что в состав одной из активных фракций СОД входит цинк, содержащийся в комплексе Селцинк® плюс. В результате этого возникло повышение активности СОД.

Несмотря на незначительное увеличение активности каталазы, данное изменение не имело значимого характера (p=0,07); табл. 3.

Обращают на себя внимание статистически значимые различия в показателях DPD в изучаемых подгруппах через 6 мес после начала антиоксидантной коррекции (рис. 2): в 1-й подгруппе – 7,2±3,0; во 2-й – 8,2±4,8 нмоль DPD/ммоль креатинина (p=0,03). Достоверное снижение DPD у женщин 1-й подгруппы по сравнению с лицами, принимающими плацебо, свидетельствует об уменьшении резорбтивных процессов костной ткани на фоне проведения комплексной терапии, включающей антиоксидантный комплекс.

Показатель	1-я подгруппа, n=31	2-я подгруппа (плацебо), n=23	Уровень значимости, p
МДА плазмы, мкмоль/л	9,3±4,4	9,9±3,6	0,76
СОД эритроцитов, %	32,2±6,0	34,4±5,1	0,23
Каталаза эритроцитов, %	55,9±10,3	54,4±7,0	0,53
Дезоксиридинолин мочи, нмоль DPD/ммоль креатинина	11,9±5,0	11,4±5,6	0,83

Показатель	1-я подгруппа, n=31	2-я подгруппа (плацебо), n=23	Уровень значимости, p
МДА плазмы, мкмоль/л	6,4±3,1	8,8±3,7	0,002
СОД эритроцитов, %	41,1±5,1	35,3±4,7	0,001
Каталаза эритроцитов, %	61,3±10,1	56,7±7,6	0,07

Заключение

На основании проведенного исследования можно говорить о возможности использования показателей МДА, СОД и каталазы в комплексной диагностике резорбции кости и прогнозировании остеопоротических изменений.

Полученные результаты показывают целесообразность назначения антиоксидантного комплекса Селцинк® плюс с целью коррекции оксидативного стресса и, как следствие, резорбтивных процессов костной ткани.

Литература/References

- Hernlund E, Svedbom A, Ivergard M et al. Osteoporosis in the European Union: Medical Management, Epidemiology and Economic Burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos* 2013; 8: 136.
- Захаров И.С., Колпинский Г.И., Ушакова Г.А. и др. Распространенность остеопенического синдрома у женщин в постменопаузе. *Медицина в Кузбассе*. 2014; 13 (3): 32–6. / Zakharov IS, Kolpinskiy GI, Usbakova GA, Vavin GV. *Rasprostranennost' osteopenicheskogo sindroma u zhenshin v postmenopauze. Meditsina v Kuzbasse*. 2014; 13 (3): 32–6. [in Russian]
- Медицина климактерия. Под ред. В.П.Сметник. Ярославль: Литера, 2006. / *Meditsina klimakteriya. Pod red. V.P.Smetnik. Yaroslavl: Litera*, 2006. [in Russian]
- Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO et al. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1990; 85: 632–9.
- Srinivasan S, Koenigstein A, Joseph J et al. Role of Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Osteoclast Differentiation. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1192 (1): 245–52.
- Yang S, Madyastba P, Bingel S et al. A new superoxide-generating oxidase in murine osteoclasts. *J Biol Chem* 2001; 276: 5452–8.
- Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989. / Bilenko MV. *Ischemicheskie i reperfuzionnye povrezhdeniia organou. M: Meditsina*, 1989. [in Russian]
- Захаров И.С., Колпинский Г.И., Ушакова Г.А., Вавин Г.В. Роль оксидативного стресса в формировании постменопаузального остеопороза. *Гинекология*. 2014; 16 (1): 41–3. / Zakharov IS, Kolpinskiy GI, Usbakova GA, Vavin GV. *Roľ oksidativnogo stressa v formirovanii postmenopauznogo osteoporozu. Gynecology*. 2014; 16 (1): 41–3. [in Russian]
- Altindag O, Erel O, Soran N et al. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. *Rheumatol Int* 2008; 28: 317–21.
- Huang Q, Gao B, Wang L et al. Protective effects of myricitrin against osteoporosis via reducing reactive oxygen species and bone-resorbing cytokines. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2014; 280 (3): 550–60.
- Sheweita SA, Khosbhal KI. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Curr Drug Metab* 2007; 8: 519–25.
- Smietana MJ, Arruda EM, Faulkner JA et al. Reactive oxygen species on bone mineral density and mechanics in Cu, Zn superoxide dismutase (Sod1) knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 403 (1): 149–53.
- Yan Xu, Morse LR, da Silva RAB et al. PAMM: A redox regulatory protein that modulates osteoclast differentiation. *Antioxid Redox Signal* 2010; 13 (1): 27–37.
- These are the Official Positions of the ISCD as updated in 2013. Available at: <http://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-adult> (accessed April 24, 2014).
- Андреева Л.И., Кожмякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*. 1988; 11: 41–3. / Andreeva LI, Kozhemiakin LA, Kishkun AA. *Modifikatsiia metoda opredeleniia perekisei lipidov v teste s tiobarbiturovoi kislotoi. Laboratornoe delo*. 1988; 11: 41–3. [in Russian]
- Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Елчанинова С.А. Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. *Клин. лабораторная диагностика*. 1998; 6: 10–4. / Galaktionova LP, Molchanov AV, El'chaninova SA. *Sostoianie perekisnogo okisleniia u boľnykh s iazvennoi bolezniu zheludka i dvenadtsatiperstnoi kishki. Klin. laboratornaia diagnostika*. 1998; 6: 10–4. [in Russian]

Сведения об авторах

Захаров Игорь Сергеевич – канд. мед. наук, доц. каф. акушерства и гинекологии №1 ГБОУ ВПО КемГМА. E-mail: isza@mail.ru

Колпинский Глеб Иванович – д-р мед. наук, проф. каф. лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии ГБОУ ВПО КемГМА

Ушакова Галина Александровна – д-р. мед. наук, проф., зав. каф. акушерства и гинекологии №1 ГБОУ ВПО КемГМА

Вавин Григорий Валерьевич – канд. мед. наук, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО КемГМА