

На правах рукописи



Коробкин Егор Александрович

**Роль изменений редокс-статуса в патогенезе остеопении при хроническом
лимфоцитарном лейкозе**

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Осиков Михаил Владимирович

Официальные оппоненты:

Власов Тимур Дмитриевич - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, заведующий кафедрой

Базарный Владимир Викторович - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, центральная научно-исследовательская лаборатория, отдел главной патологии, главный научный сотрудник

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «16» сентября 2025 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.34 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119992, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8. строение 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Zubovskiy bulvar, d.37/1 и на сайте организации: www.sechenov.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор



Калюжин Олег Витальевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) – один из самых распространенных лейкозов у взрослых (Ou Y. et al., 2022). В европейских странах заболеваемость ХЛЛ у мужчин в 2019 г. составила 6,92 на 100 тыс., в 2020 г. – 6,15, в 2021 г. – 6,49, у женщин соответственно 2,81; 3,62; 3,62 на 100 тыс. (Ou Y. et al., 2022). В России заболеваемость ХЛЛ составила на 100 тыс. населения 2,6 в 2021 г., 2,58 – в 2022 г., 3,14 – в 2023, медиана возраста на момент установления диагноза составила 68 лет (Каприн А.Д. и др., 2022, 2023).

Переломы костей в результате снижения минеральной плотности костной ткани (МПК) у пациентов с ХЛЛ являются одной из причин временной и постоянной утраты трудоспособности, инвалидизации, снижения качества жизни, удлинения сроков лечения, повышения смертности (Brander M. et al., 2020). Согласно данным литературы, риск снижения МПК при ХЛЛ достигает 67% (Petty L. et al., 2022). При этом, выявляемость остеопороза при ХЛЛ составляет только 14,7%, а остеопении – 35% (Petty L. et al., 2024). Патогенез снижения МПК при ХЛЛ изучен недостаточно, представлены неоднозначные данные о взаимодействиях между лимфоидными клетками при ХЛЛ и клетками костной ткани, сопровождающиеся усилением резорбции костного матрикса; показано участие в этих процессах внутриклеточных сигнальных путей, цитокинов, факторов роста и окислительного стресса (ОС) (Giannoni P. et al., 2021; Gao Y. Et al., 2021) [2,12,13].

Степень разработанности темы исследования

При ХЛЛ формируется ОС в результате избыточной генерации активных форм кислорода (АФК) и азота в условиях дисфункции антиоксидантной защиты (АОЗ), что поддерживает злокачественный фенотип опухолевых лимфоцитов при ХЛЛ, способствует их выживанию и пролиферации в условиях воздействия селективных факторов, в том числе противоопухолевой терапии (Pagano M.A. et al., 2022; Czegle I. et al., 2021; Gavriilidis G. Et al., 2021) [2,13]. Несмотря на низкий уровень НАДФН-оксидазы 2-го типа, в частности ее каталитической субъединицы gp91phox, основными источниками АФК при ХЛЛ выступают митохондрии, количество которых увеличено в опухолевых клетках, они отличаются разобщением окисления и фосфорилирования в условиях нарушения метаболизма жирных кислот, высоким уровнем окислительного фосфорилирования, в том числе за счет дефицита белка TP53 и увеличения синтеза гемоксигеназы-1; повреждение самих митохондрий АФК создает порочный круг ОС при ХЛЛ (Romo-González M. et al., 2022; Sadeghi M. et al., 2023). Снижение активности каталазы связано с SNP промотера rs1001179, определяет высокую концентрацию перекиси водорода, активацию сигнальных путей выживания опухолевых клеток, например, PI3K/АКТ/mTOR (Galasso M. et al., 2022). В клетках ХЛЛ за счет активации транскрипционных факторов, включая Nrf-2, NF-κB, FOXO, повышена экспрессия ферментов

АОЗ: гемоксигеназы-1, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы-2, системы тиоредоксинов (Dong C. et al., 2021; Kiening M. et al., 2022). ОС блокирует инактивацию факторов роста, способствует неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток, активирует сигнальные пути с участием AP-1, p53, HIF-1 α , HIF-2 α , MAPK, STAT-3, STAT-5 и др. (Tuу K. et al., 2021; Maiti G.P. et al., 2021). Представлены единичные сведения о редокс-статусе в костной ткани при ХЛЛ.

Снижение МПК при ХЛЛ является многофакторным процессом, происходит из-за нарушения ремоделирования костной ткани, преобладания процессов остеорезорбции над костеобразованием за счет взаимодействия клеток костной ткани, иммунной системы, сосудистой стенки, опухолевых лимфоцитов и дисрегуляции сигнальных путей RANKL/RANK/OPG, WNT, FOXO, RUNX2 и др. (Marcucci G. et al., 2023). Взаимодействие лейкоэмических клеток с повышенной экспрессией PTHrP, RANKL с клетками костной ткани, синтезирующими факторы роста, приводит к формированию порочного круга: избыточному разрушению костной ткани и пролиферации клеток опухоли (Domazetovic V. et al., 2022). Механизмом снижения МПК при ХЛЛ выступает ограничение образования костного матрикса остеобластами и увеличение дифференцировки остеокластов из CD16⁺ при участии системы RANK/RANKL/OPG и провоспалительных цитокинов (Giannoni P. et al., 2022).

Имеются данные о роли ОС в патогенезе потери костной массы с участием факторов роста и активации внутриклеточных сигнальных путей (Vervloet M. G. et al., 2022). ОС влияет на активность остеокластов и остеобластов с последующим снижением минерализации и потерей костной ткани; взаимосвязь редокс-статуса и ремоделирования костной ткани обеспечивается системой Nrf-2/НО-1 (Marcucci G. et al., 2023). Ограничение дифференцировки остеобластов в условиях ОС при ХЛЛ при участии FGF-23, Nrf-2 с активацией MAPK, JNK, ERK1/2, NF- κ B, увеличением соотношения RANKL/OPG приводит к смещению баланса ремоделирования костной ткани в сторону остеорезорбции (Vervloet M. G. et al., 2022; Xu H. et al., 2023). Косвенным доказательством роли ОС в ремоделировании костной ткани являются эффекты антиоксидантов при остеопорозе (Tanideh N. et al., 2023). В большинстве источников ОС рассматривается как в механизм развития остеопороза, но не начальных изменений МПК, формирования остеопении.

Таким образом, патогенез снижения МПК при ХЛЛ до конца не ясен и может быть частью сложного комплекса событий, включая ОС, в связи с чем необходимы дальнейшие исследования для разработки эффективных диагностических и терапевтических подходов.

Цель и задачи исследования

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие задачи исследования:

Цель работы — изучить редокс-статус и его роль в патогенезе изменений минеральной плотности костной ткани у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом.

Оценить изменения минеральной плотности костной ткани у больных ХЛЛ по данным остеоденситометрии и морфологического анализа костной ткани в динамике 6-месячного наблюдения; сопоставить наличие изменений минеральной плотности костной ткани с тяжестью течения ХЛЛ.

1. Исследовать у больных ХЛЛ в динамике 6-месячного наблюдения в сыворотке концентрацию ионизированного кальция, фосфора, общего витамина D, тестостерона, маркеров костного ремоделирования, в костной ткани – концентрацию матриксной металлопротеиназы-2 и матриксной металлопротеиназы-9.
2. Исследовать редокс-статус в сыворотке и в костной ткани у больных ХЛЛ в динамике 6-месячного наблюдения по содержанию продуктов перекисного окисления липидов, продуктов окислительной модификации белков, резервно-адаптационного потенциала и общего антиоксидантного статуса.
3. Изучить наличие и характер связи между показателями минеральной плотности костной ткани и показателями редокс-статуса в сыворотке и в костной ткани у больных ХЛЛ и признаками остеопении в динамике 6-месячного наблюдения.
4. Создать математические модели для расчета редокс-статуса в костной ткани на основании показателей редокс-статуса в сыворотке, расчета у больных ХЛЛ минеральной плотности костной ткани на старте исследования на основании оценки показателей редокс-статуса в сыворотке, оценки вероятности снижения минеральной плотности костной ткани через 6 месяцев по показателям костного метаболизма и редокс-статуса в сыворотке.

Научная новизна

Впервые показано, что у 28,9% больных ХЛЛ при установлении диагноза, у 31,6% – через 6 месяцев выявляется снижение МПК, соответствующее критериям остеопении (на старте исследования только в шейке бедренной кости, через 6 месяцев наблюдения – в поясничном отделе позвоночника, проксимальном отделе бедренной кости и в ее шейке); наличие остеопении сопряжено с увеличением в крови количества лимфоцитов, экспрессирующих антигены опухолевого клона, в сыворотке – активности ЛДГ, преобладанием пациентов со стадиями, согласно классификации Vinet, В и С, назначением полихимиотерапии. Убедительно продемонстрировано, что остеопения, по данным остеоденситометрии, у больных ХЛЛ проявляется, по результатам морфологического исследования костной ткани, снижением объема костной ткани, количества остеоцитов и остеобластов, увеличением количества остеокластов, истончением костных балок.

Впервые выявлено, что у больных ХЛЛ и остеопенией в сыворотке на старте исследования снижается концентрация ионизированного кальция, фосфора, общего витамина D, терминального С-пропептида проколлагена I типа, увеличивается концентрация С-телопептида коллагена I типа, в костной ткани снижается концентрация матриксной металлопротеиназы-2 и увеличивается концентрация матриксной металлопротеиназы-9; через 6

месяцев в сыворотке сохраняются низкие концентрации фосфора, общего витамина D, снижается концентрация тестостерона, прогрессирует снижение концентрации терминального С-пропептида проколлагена I типа и увеличение концентрации С-телопептида коллагена I типа.

Впервые установлено, что у больных ХЛЛ и признаками остеопении ОС в костной ткани проявляется накоплением первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гептановой и в изопропанольной фазах липидного экстракта; ранних продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) нейтрального и основного характера, поздних продуктов нейтрального характера в спонтанном режиме детекции; ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера в металл-индуцированном режиме детекции; снижением резервно-адаптационного потенциала (РАП) и общего антиоксидантного статуса (ОАС). Впервые установлено, что у больных ХЛЛ и остеопенией ОС в сыворотке проявляется на старте исследования накоплением в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ, в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера, снижением РАП и ОАС; через 6 месяцев наблюдения зафиксирована эскалация указанных изменений редокс-статуса в сыворотке.

Впервые с использованием регрессионного анализа созданы математические модели для расчета вероятности возникновения остеопении у больных ХЛЛ по концентрации в сыворотке фосфора и количеству в крови CD19⁺, CD43⁺ лимфоцитов (Св-во о гос. рег. программы для ЭВМ № 2024614288 от 21.02.2024 г.); расчета вероятности возникновения остеопении на основании показателей редокс-статуса и минерально-костного обмена в сыворотке на старте исследования (Св-во о гос. рег. программы для ЭВМ № 2024619167 от 22.04.2024 г.); расчета редокс-статуса в костной ткани на основании показателей редокс-статуса в сыворотке (Св-во о гос. рег. программы для ЭВМ № 2024686756 от 12.11.2024 г.); расчета МПК через 6 месяцев наблюдения на основании показателей редокс-статуса в сыворотке на старте исследования (Св-во о гос. рег. программы для ЭВМ № 2024687502 от 19.11.2024 г.); расчета МПК на старте исследования на основании показателей редокс-статуса в сыворотке на старте исследования (Св-во о гос. рег. программы для ЭВМ № 2025615595 от 06.03.2025 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе проведенного исследования в клинических условиях получены новые фундаментальные знания о закономерностях изменений редокс-статуса у больных ХЛЛ с остеопенией на основании оценки содержания в костной ткани и в сыворотке продуктов ПОЛ, продуктов ОМБ, РАП и ОАС, что расширяет современные представления о патогенезе снижения МПК при ХЛЛ. Показано, что выраженность остеопении у больных ХЛЛ нарастает по мере накопления в костной ткани продуктов ПОЛ в гептановой и в изопропанольной фазах

липидного экстракта, продуктов ОМБ в спонтанном и в металл-индуцированном режимах детекции, снижения РАП и ОАС.

Практическую значимость имеют данные о том, что признаки остеопении наблюдаются у 28,9 % больных ХЛЛ при постановке диагноза и нарастают в динамике 6-месячного наблюдения, сопряжены с тяжелым течением опухолевого процесса, назначением полихимиотерапии, снижением в сыворотке концентрации ионизированного кальция, фосфора, общего витамина D, тестостерона, концентрации терминального С-пропептида проколлагена I типа, увеличением концентрации С-телопептида коллагена I типа; в костной ткани снижением концентрации матриксной металлопротеиназы-2 и увеличением концентрации матриксной металлопротеиназы-9. Полученные результаты математического моделирования вероятности возникновения остеопении у больных ХЛЛ через 6 месяцев на основании концентрации в сыворотке показателей редокс-статуса и минерально-костного обмена на старте исследования могут быть использованы в клинической практике. Представленные в работе результаты являются предпосылкой для проведения дальнейших исследований по изучению патогенеза снижения МПК у больных ХЛЛ, разработки соответствующих диагностических критериев и терапевтических подходов.

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы соответствует цели и задачам исследования, его проведение одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протоколы № 3 от 10.04.2023, № 1 от 07.02.2025). Исследование выполнено в 2023–2025 гг. на 20 относительно здоровых мужчинах и 76 пациентах мужского пола в возрасте от 50 до 70 лет с установленным диагнозом ХЛЛ в гематологическом отделении ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», в Центральной научно-исследовательской лаборатории, на кафедре Патофизиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра (Токио, 2010) с учетом примечаний к параграфу 29, внесенных Генеральной ассамблеей ВМА (Вашингтон, 2002, поправки от 2011 г.), с «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266.

Методы исследования, использованные в работе: клинические, инструментальные, иммунологические, иммуноферментного анализа, биохимические, морфологические, статистического анализа.

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в разработке дизайна исследования, выполнении клинических, лабораторных и инструментальных исследований, статистической обработке полученных данных, построении математических моделей, анализе полученных результатов,

апробации результатов исследования, обобщении данных литературы, написании публикаций и самой работы.

Положения, выносимые на защиту

1. У больных хроническим лимфоцитарным лейкозом остеопения сопряжена с тяжелым течением опухолевого процесса, соответствующими морфологическими признаками в костной ткани, показателями минерального обмена и костного метаболизма в сыворотке и в костной ткани в динамике 6-месячного наблюдения.
2. У больных хроническим лимфоцитарным лейкозом и признаками остеопении окислительный стресс в костной ткани и в сыворотке проявляется накоплением продуктов перекисного окисления липидов в гептановой и в изопропанольной фазах липидного экстракта, продуктов окислительной модификации белков в спонтанном и в металл-индуцированном режимах детекции, снижением резервно-адаптационного потенциала и общего антиоксидантного статуса.
3. У больных хроническим лимфоцитарным лейкозом признаки остеопении ассоциированы с показателями редокс-статуса в костной ткани; вероятность их возникновения через 6 месяцев наблюдения моделируется с использованием логистической регрессии на основании показателей редокс-статуса и минерально-костного обмена в сыворотке на старте исследования.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры Патологии физиологии, кафедры Терапии Института дополнительного профессионального образования, Биохимии имени Р. И. Лифшица, научную работу кафедры Патологии физиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, практическую работу гематологического отделения ГБУЗ ЧОКБ Минздрава Челябинской области.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология: пп. 2, 3, 6, 7, 10. Указанные пункты подтверждаются положениями, выносимыми на защиту, и полученными в ходе исследования данными.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на достаточном количестве здоровых лиц и больных ХЛЛ, участвующих в исследовании, полноте и широте литературно-библиографической справки, использовании современных методов статистической обработки результатов исследования с использованием лицензионного пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics v. 23.

Основные положения диссертации представлены на XII Межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 100-летию ЗДН РФ, проф. Д. А. Глубокова (Челябинск, 2023); III Всероссийской научно – практической конференции с международным

участием, посвященной 80-летию ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России «Молодые ученые – науке и практике XXI века» (Оренбург, 2024); XXX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург, 2024); I Евразийском конгрессе по патофизиологии (Москва, 2024); Всероссийском конгрессе с международным участием «Фундаментальные и клинические исследования в персонализированной медицине», посвященном 80-летию ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (Челябинск, 2024).

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, из них 3 работы в рецензируемых научных изданиях из Перечня ВАК при Минобрнауки России (из них 2 — в электронных изданиях), 3 — в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science, Scopus), 4 — в материалах конференций, 4 – в иных изданиях, получено 5 свидетельств о регистрации программ для ЭВМ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 159 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследования, изложения результатов собственного исследования, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Библиографический указатель включает 37 отечественных и 314 зарубежных источников литературы. Работа содержит 23 таблицы и 12 рисунков (включая 2 авторские схемы).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Первоначально, из проанализированных 370 медицинских карт сформирована общая группа больных с ХЛЛ ($n=76$). Критерии включения в исследование: мужской пол, возраст 50-70 лет, подписанное информированное согласие. Критерии исключения: заболевания почек; генетические заболевания; заболевания эндокринной систем; заболевания желудочно-кишечного тракта; др. гематологические заболевания, кроме ХЛЛ; ревматологические заболевания; ВИЧ-инфекция; парентеральное питание; прием лекарственных средств (системные глюкокортикостероиды, включая ингаляционные формы, барбитураты и др.); статус ECOG 3-ей ст. и более (Karnofsky D. A. et al., 1949); иммобилизация.

Первичная группа больных ХЛЛ разделена по наличию изменений МПК на группу 2 и группу 3 (рис. 1). Группа 1 ($n=20$) – условно здоровые мужчины, сопоставимые по возрасту с группами 2 и 3. Через 6 месяцев 2 пациента из группы 2 переведены в группу 3 в соответствии с изменениями показателей денситометрии и критериями остеопении. Длительность исследования в группах 2 и 3 составила 6 месяцев.

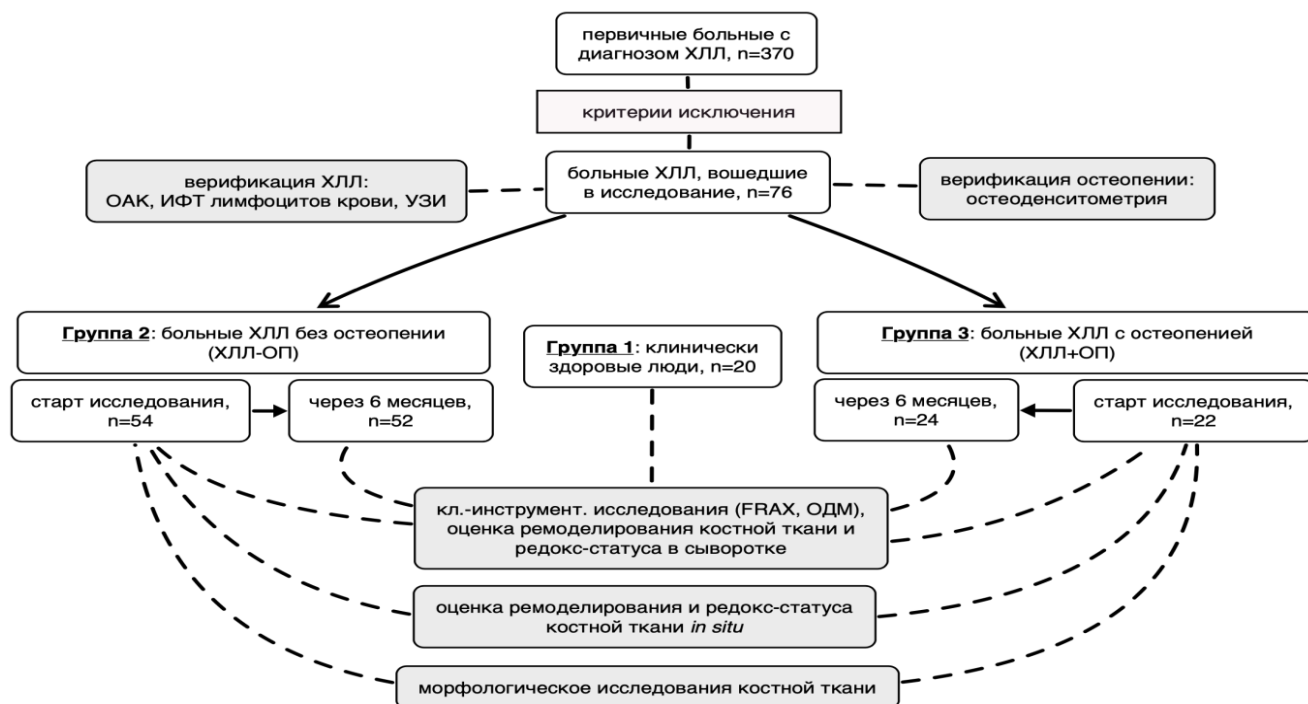


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Для верификации диагноза ХЛЛ оценивался общий анализ крови с использованием анализатора «BC-6800» («Mindray», Китай), проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов. Для определения стадии ХЛЛ по Binet проводилось ультразвуковое исследование всех групп периферических лимфоузлов, печени, селезенки, абдоминальных лимфоузлов аппаратом для ультразвуковой диагностики «Voluson S8» («GE Ultrasound Korea Ltd.», Корея). В сыворотке определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ, Ед/л) на анализаторе «AU-408» («Beckman coulter», США). Во всех группах оценивали риск перелома с помощью международного, общепринятого инструмента оценки риска переломов Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) (Lesnyak O. et al., 2012). Двухэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию проводили на рентгеновском денситометре с технологией «DEXXUM 3» («OsteoSys Co», Южная Корея) с оценкой T-критерия, Z-критерия и МПК в поясничном отделе позвоночника (ПОП), шейке бедренной кости (ШБК), проксимальном отделе бедренной кости (ПОБК).

Иммунологические методы исследования. На проточном цитофлуориметре «BD FACSCanto II» («BD Biosciences», США) с помощью тест-системы «Becton Dickinson and Company» (США) в крови исследовали лимфоциты на наличие экспрессии маркеров CD5⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁺, CD43⁺, CD200⁺, легких цепей каппа и лямбда ($\times 10^6/\text{л}$).

Методы оценки ремоделирования костной ткани. В сыворотке определяли концентрацию общего и ионизированного кальция, фосфора на анализаторах «AU-408» («Beckman coulter», США) и «EasyLyte» («Medica», США) с помощью тест-систем «Beckman coulter» (США) и «Medica Corporation» (США), результат выражали в ммоль/л; концентрацию

тестостерона, общего витамина D на анализаторе «Immulaite 2000 XPE» («Siemens Healthcare Diagnostics Inc.», США) с помощью тест-систем «Siemens» (США), результат выражали в нг/мл; концентрацию С-телопептида коллагена I типа (СТХI, пг/мл) и терминального С-пропептида проколлагена I типа (PICP, нг/мл) на анализаторе «Chem Well 2910 Combi» («Awareness Technology», США) с помощью тест-систем «Cloud-Clone Corp» (Китай). В гомогенате костной ткани, полученной при трепанобиопсии гребня подвздошной кости, иммуноферментным методом исследовали содержание (нг/мл) матриксной металлопротеиназы-2 (ММР-2) и ММР-9 на анализаторе «Chem Well 2910 Combi» («Awareness Technology», США) с помощью тест-систем «Cloud-Clone Corp» (Китай).

Оценка редокс-статуса в сыворотке и в гомогенате костной ткани. Содержание продуктов ПОЛ исследовали экстракционно-спектрофотометрическим методом на «СФ-56» («ЛОМО – Спектр», Санкт-Петербург) в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта (Волчегорский И. А. и др., 2000; Львовская Е. И. и др., 1991). Относительное содержание продуктов ПОЛ выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.): E232/E220 (ДК), E278/E220 (КД и СТ) и E400/E220 (ШО). Продукты ОМБ определяли по реакции карбонильных производных белков с 2,4 – динитрофенилгидразином в спонтанном и металл-катализируемом по реакции Фентона режимах с последующей регистрацией на спектрофотометре альдегид-динитрофенилгидразонов и кетон-динитрофенилгидразонов в ультрафиолетовой части спектра и в области видимого света (Фомина М. А. и др., 2014). Результат выражали в ед. оптической плотности на мг белка (у.е./мг). Резервно-адаптационный потенциал (РАП, %), интегрально характеризующий активность АОЗ, рассчитывали путем отношения продуктов спонтанного окисления к индуцированному, принимая результаты измерения, индуцированного за 100 %. Общий антиоксидантный статус (ОАС, ммоль/л) оценивали на автоматическом анализаторе «Chem Well 2910 Combi» («Awareness Technology», США) с помощью тест-системы «В-7501 Общий антиоксидантный статус» («Вектор-Бест», Россия).

Морфологические исследования костной ткани проводили в окрашенных гематоксилин-эозином («Диахим-Гемистейн-Р», Россия) гистологических срезах на микроскопе «DMRXA» («Leica Microsystems», Германия) с помощью программы анализа изображений «ДиаМорф Cito-W» (Москва) при увеличении $\times 50$, $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$ в 10 случайно отобранных полях зрения в пересчете на 1 мм². Оценивали общий объем костной ткани в %, количество остецитов, остеокластов и остеобластов в мм², толщину костных балок в пикселях (pix). Результаты обрабатывали с помощью программы анализа изображений «Image Score M» (Россия).

Статистические методы. Результаты обрабатывали на ПК с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics v. 23» («SPSS: An IBM Company», США). Данные представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1, Q3 – значение нижнего и верхнего квартилей соответственно.

Статистические гипотезы проверяли с использованием критериев Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса, Уилкоксона. Для выявления связи между показателями использовали коэффициент корреляции Спирмена (R), для определения силы связи – шкалу Чеддока. Для связи показателей, прогнозирования вероятности снижения МПК использовали линейную и логистическую регрессию, для построения математических моделей – язык программирования Python v3.9. Для коррекции значений уровня значимости различий при множественных сравнениях использовалась поправка Бенджамини-Хохберга. Отличия для всех анализов считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

На старте исследования, по данным денситометрии и в соответствии с Национальными рекомендациями, критериями ВОЗ, остеопения выявлена у 28,9% больных ХЛЛ в Ш БК, через 6 месяцев – у 31,6% во всех исследуемых локализациях (рис. 2) [3, 4].

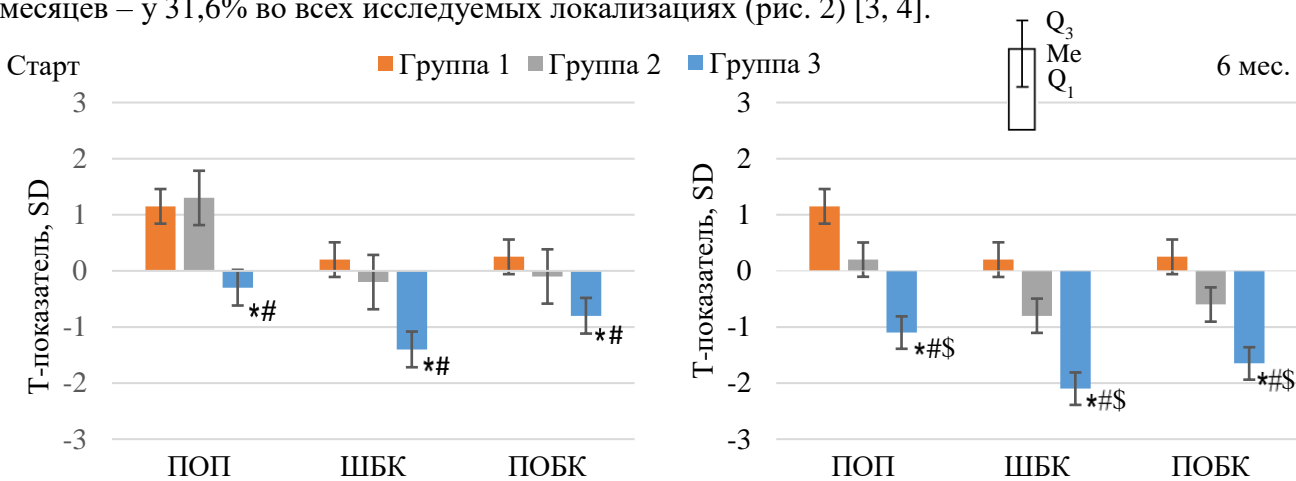


Рисунок 2 – Показатели остеоденситометрии у больных ХЛЛ на старте и через 6 мес (Me [Q1; Q3])

Примечание – * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1, # – с группой 2; \$ – различия на 6-й месяц по сравнению со стартом в группах 2 и 3.

По данным морфологического анализа, остеопения у больных ХЛЛ проявляется снижением общего объема костной ткани на 48,5% по медиане и истончением костных балок на 73,7% по сравнению с больными ХЛЛ без изменений МПК, уменьшением количества остеоцитов на 76,0% по медиане, остеобластов 80,0% и увеличением количества остеокластов на 100%. Группа больных ХЛЛ с остеопенией отличалась преобладанием пациентов со стадиями В и С по Vinet, им чаще назначалась ПХТ, в крови увеличено количество лимфоцитов, экспрессирующих антигены опухолевого клона, в сыворотке повышена активность ЛДГ на старте и через 6 месяцев [11].

У больных ХЛЛ с остеопенией снижение общего объема кости и истончение толщины костных балок в костной ткани ассоциировано со снижением МПК и Т-критерия по данным остеоденситометрии в ПОП, ШБК и ПОБК [19]. Установлены ассоциации между показателями

остеоденситометрии (Т-критерий и МПК в определенной локализации) и количеством в крови CD5⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁺, CD43⁺, CD200⁺ лимфоцитов [1, 7].

У больных ХЛЛ и остеопенией на старте исследования в сыворотке снижается относительно референсных значений концентрация ионизированного кальция, фосфора, витамина D (табл. 1). Через 6 месяцев сохраняются низкие концентрации в сыворотке фосфора, общего витамина D и снижается концентрация тестостерона [5, 9].

Таблица 1 – Показатели минерально-костного обмена в сыворотке при ХЛЛ (Ме [Q₁; Q₃])

| Показатели | Группа 1 (n = 20) | Группа 2 | | Группа 3 | |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|---|
| | | Старт (n = 54) | 6 месяцев (n = 52) | Старт (n = 22) | 6 месяцев (n = 24) |
| Кальций иониз., ммоль/л | 1,17 [1,14; 1,19] | 1,17 [1,13; 1,21] | 1,18 [1,15; 1,24] | 1,04 [0,21; 1,07] | 1,19 [1,18; 1,24] \$ |
| Фосфор, ммоль/л | 0,91 [0,85; 0,98] | 1,15 [0,95; 1,19] | 1,15 [1,06; 1,24] * | 0,63 [0,21; 0,92] * # | 0,54 [0,42; 0,94] * # |
| Витамин D, нг/мл | 31,00 [24,50; 40,00] | 28,00 [25,00; 31,00] | 17,00 [14,00; 22,00] * \$ | 8,00 [6,00; 13,00] * # | 9,70 [6,70; 14,00] * # |
| Тестостерон, нг/мл | 2,64 [2,05; 3,12] | 3,26 [2,02; 3,85] | 2,61 [2,52; 2,67] | 2,28 [2,09; 2,36] | 1,90 [1,80; 2,00] * # \$ |
| РІСР, нг/мл | 29,44 [27,08; 33,04] | 26,68 [23,24; 33,76] | 34,04 [24,16; 40,36] | 11,00 [9,92; 12,16] * # | 7,22 [5,92; 8,76] * # \$ |
| СТХІ, пг/мл | 572,57 [378,55; 681,49] | 558,54 [442,13; 643,72] | 561,87 [487,43; 795,19] | 825,19 [807,41; 909,63] * # | 1070,36 [1028,14; 1222,21] * # \$ |

Примечание. * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1, # – с группой 2; \$ – различия на 6-й месяц по сравнению со стартом в группах 2 и 3.

При оценке ремоделирования костной ткани у больных ХЛЛ и остеопенией на старте исследования наблюдалось в сыворотке снижение концентрации РІСР и увеличение концентрации СТХІ. Аналогичные по направленности изменения концентрации в сыворотке метаболитов коллагена у больных ХЛЛ и остеопенией наблюдались через 6 месяцев: снижалась концентрация РІСР, увеличивалась концентрация СТХІ. В костной ткани на старте исследования у больных ХЛЛ и остеопенией по сравнению с группой 2 обнаружено снижение концентрации ММР-2 и увеличение концентрации ММР-9 [19].

Ведущим механизмом снижения МПК при ХЛЛ выступает ОС, наблюдаемый как в костной ткани, так и в сыворотке. У больных ХЛЛ с признаками остеопении на старте исследования ОС в костной ткани проявлялся накоплением в гептановой фазе и в изопропанольной фазах – первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ; в спонтанном режиме детекции ранних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера, поздних продуктов ОМБ только нейтрального характера; в металл-индуцированном ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера; снижением РАП и ОАС (табл. 2) [9, 17].

Таблица 2 – Показатели редокс-статуса в костной ткани у больных ХЛЛ

| Показатели | Группа 2 (n = 54) | Группа 3 (n = 22) |
|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| ДК (г), е.и.о. | 0,606 [0,596; 0,614] | 0,901 [0,861; 0,939] # |
| КД и СТ (г), е.и.о. | 0,044 [0,037; 0,054] | 0,078 [0,076; 0,085] # |
| ШО (г), е.и.о. | 0,007 [0,007; 0,011] | 0,122 [0,101; 0,176] # |
| ДК (и), е.и.о. | 0,491 [0,483; 0,518] | 0,748 [0,684; 0,769] # |
| КД и СТ (и), е.и.о. | 0,104 [0,100; 0,121] | 0,511 [0,508; 0,610] # |
| ШО (и), е.и.о. | 0,016 [0,015; 0,018] | 0,056 [0,051; 0,071] # |
| СП S ОМБ, у.е./мг белка | 9,99 [9,14; 15,07] | 20,27 [20,23; 24,79] # |
| СП S АДНФГ, у.е./мг белка | 9,21 [8,44; 13,29] | 18,54 [18,03; 21,81] # |
| СП S АДНФГ, uv, у.е./мг белка | 9,11 [8,33; 12,74] | 17,95 [17,22; 20,43] # |
| СП S АДНФГ, vs, у.е./мг белка | 0,43 [0,11; 0,65] | 0,81 [0,59; 1,11] # |
| СП S КДНФГ, у.е./мг белка | 1,16 [0,71; 1,43] | 2,21 [1,72; 2,51] # |
| СП S КДНФГ, uv, у.е./мг белка | 1,06 [0,71; 1,41] | 2,15 [1,69; 2,41] # |
| СП S КДНФГ, vs, у.е./мг белка | 0,02 [0,01; 0,06] | 0,05 [0,03; 0,09] |
| МК S ОМБ, у.е./мг белка | 171,32 [146,78; 188,64] | 266,84 [247,76; 288,76] # |
| МК S АДНФГ, у.е./мг белка | 124,82 [108,38; 132,82] | 189,08 [173,64; 203,51] # |
| МК S АДНФГ, uv, у.е./мг белка | 86,11 [73,75; 92,15] | 128,42 [119,65; 141,63] # |
| МК S АДНФГ, vs, у.е./мг белка | 38,72 [31,24; 40,78] | 57,94 [53,98; 64,43] # |
| МК S КДНФГ, у.е./мг белка | 47,19 [41,21; 55,82] | 77,76 [74,12; 85,24] # |
| МК S КДНФГ, uv, у.е./мг белка | 43,78 [38,41; 52,05] | 72,39 [69,23; 79,64] # |
| МК S КДНФГ, vs, у.е./мг белка | 3,73 [3,01; 4,23] | 5,36 [4,89; 6,08] # |
| РАП, % | 93,33 [90,35; 94,71] | 62,53 [59,99; 70,56] # |
| ОАС, ммоль/л | 0,88 [0,81; 1,04] | 0,61 [0,49; 0,62] # |

Примечание. # статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 2.

У больных ХЛЛ с признаками остеопении в сыворотке на старте исследования ОС проявлялся накоплением в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ, в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера, снижением РАП и ОАС (табл. 3). Через 6 месяцев наблюдения у больных ХЛЛ и остеопенией отмечалось прогрессирование ОС в сыворотке: увеличивалось содержание первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах, увеличивалось содержание ранних и поздних продуктов ОМБ нейтрального и основного характера в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции, снижались РАП и ОАС.

Таблица 3 – Показатели редокс-статуса в сыворотке у больных ХЛЛ

| Показатели | Группа 1 (n = 20) | Группа 2 | | Группа 3 | |
|------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| | | Старт (n = 54) | 6 месяцев (n = 22) | Старт (n = 52) | 6 месяцев (n = 24) |
| ДК (г), е.и.о. | 0,014 [0,013; 0,014] | 0,582 [0,561; 0,613] * * \$ | 0,800 [0,776; 0,804] * \$ | 0,679 [0,534; 0,680] * # | 1,126 [1,087; 1,309] * # \$ |
| КД и СТ (г), е.и.о. | 0,001 [0,001; 0,002] | 0,088 [0,077; 0,093] * * \$ | 0,114 [0,109; 0,139] * \$ | 0,097 [0,092; 0,103] * # | 0,161 [0,137; 0,193] * # \$ |
| ШО (г), е.и.о. | 0,003 [0,002; 0,004] | 0,058 [0,040; 0,062] * * \$ | 0,061 [0,026; 0,096] * * \$ | 0,075 [0,048; 0,075] * # | 0,089 [0,043; 0,135] * # \$ |
| ДК (и), е.и.о. | 0,049 [0,047; 0,051] | 0,518 [0,500; 0,527] * * \$ | 0,932 [0,912; 0,942] * \$ | 0,611 [0,608; 0,624] * # | 1,312 [1,286; 1,547] * # \$ |

Продолжение таблицы 3

| | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| КД и СТ (и), е.и.о. | 0,025 [0,023; 0,027] | 0,267 [0,235; 0,281] * | 0,847 [0,829; 0,856] * \$ | 0,305 [0,293; 0,317] * # | 1,193 [1,169; 1,407] * # \$ |
| ШО (и), е.и.о. | 0,012 [0,011; 0,016] | 0,039 [0,033; 0,047] * | 0,062 [0,041; 0,074] * \$ | 0,031 [0,026; 0,046] * # | 0,087 [0,042; 0,105] * # \$ |
| СП S ОМБ, у.е./мг белка | 27,15 [26,69; 27,97] | 29,84 [27,58; 31,77] * | 33,63 [33,55; 40,42] * \$ | 39,98 [36,73; 41,96] * # | 49,76 [45,91; 51,79] * # \$ |
| СП S АДНФГ, у.е./мг белка | 26,19 [25,73; 26,96] | 28,56 [26,84; 30,65] * | 32,47 [32,34; 38,27] * \$ | 38,37 [34,75; 40,27] * # | 47,77 [44,05; 49,49] * # \$ |
| СП S АДНФГ, uv, у.е./мг белка | 25,78 [25,32; 26,53] | 28,13 [26,48; 30,21] * | 32,43 [31,87; 37,61] * \$ | 37,71 [33,77; 39,68] * # | 46,29 [42,63; 48,01] * # \$ |
| СП S АДНФГ, vs, у.е./мг белка | 0,42 [0,34; 0,46] | 0,39 [0,33; 0,44] | 0,66 [0,47; 0,66] * \$ | 0,89 [0,66; 0,98] * # | 1,76 [1,19; 1,76] * # \$ |
| СП S КДНФГ, у.е./мг белка | 0,97 [0,83; 1,07] | 1,06 [0,81; 1,13] | 1,28 [1,08; 1,54] * \$ | 1,88 [1,67; 1,97] * # | 2,04 [1,68; 2,28] * # |
| СП S КДНФГ, uv, у.е./мг белка | 0,92 [0,81; 1,02] | 1,03 [0,78; 1,11] | 1,23 [1,03; 2,09] * \$ | 1,78 [1,61; 1,86] * # | 1,88 [1,48; 2,08] * # |
| СП S КДНФГ, vs у.е./мг белка | 0,04 [0,03; 0,04] | 0,03 [0,03; 0,04] | 0,05 [0,04; 0,06] | 0,11 [0,06; 0,11] * # | 0,19 [0,12; 0,19] * # \$ |
| МК S ОМБ, у.е./мг белка | 40,24 [37,89; 40,89] | 40,63 [40,38; 43,82] | 41,31 [38,98; 59,57] | 54,37 [49,39; 56,11] * # | 69,21 [67,27; 73,91] * # \$ |
| МК S АДНФГ, у.е./мг белка | 36,09 [33,76; 36,49] | 32,98 [31,68; 36,44] | 36,33 [33,73; 54,28] | 45,94 [40,99; 46,91] * # | 59,24 [56,27; 63,52] * # \$ |
| МК S АДНФГ, uv, у.е./мг белка | 34,38 [32,14; 35,08] | 31,18 [29,62; 34,21] | 34,09 [31,51; 51,49] | 40,56 [35,28; 41,19] * # | 52,98 [50,19; 57,31] * # \$ |
| МК S АДНФГ, vs, у.е./мг белка | 1,61 [1,53; 1,62] | 2,06 [1,79; 2,06] * | 2,35 [2,21; 2,78] * \$ | 5,56 [5,57; 5,71] * # | 6,15 [6,08; 6,32] * # \$ |
| МК S КДНФГ, у.е./мг белка | 4,13 [3,79; 4,39] | 5,71 [4,85; 6,72] * | 5,13 [4,59; 5,29] * | 8,47 [8,41; 9,71] * # | 10,36 [10,01; 10,81] * # \$ |
| МК S КДНФГ, uv, у.е./мг белка | 3,08 [3,51; 3,91] | 5,48 [4,61; 6,32] * | 4,81 [4,31; 4,94] * | 7,78 [7,68; 8,96] * # | 9,14 [8,98; 9,42] * # \$ |
| МК S КДНФГ, vs, у.е./мг белка | 0,32 [0,28; 0,36] | 0,25 [0,21; 0,26] * | 0,33 [0,31; 0,35] \$ | 0,74 [0,71; 0,74] # | 1,15 [0,96; 1,49] * # \$ |
| РАП, % | 38,48 [35,64; 47,05] | 28,22 [23,74; 37,11] * | 35,65 [29,65; 35,65] * \$ | 21,33 [18,55; 24,69] * # | 12,38 [10,38; 12,72] * # \$ |
| ОАС, ммоль/л | 1,97 [1,89; 2,27] | 1,73 [1,54; 2,01] | 2,03 [1,78; 2,35] | 0,91 [0,85; 0,94] * # | 0,53 [0,43; 0,54] * # \$ |

Примечание. * статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1, # с группой 2; \$ различия на 6-й месяц по сравнению со стартом в группах 2 и 3.

Снижение Т-критерия и МПК в ПОП, ШБК и ПОБК, по данным остеоденситометрии, происходит по мере накопления в костной ткани вторичных продуктов ПОЛ, продуктов ОМБ, снижения РАП и ОАС в костной ткани (рис. 3) [12].

Обнаруженные у больных ХЛЛ взаимосвязи между содержанием в костной ткани продуктов окислительной деструкции липидов и белков, ОАС и признаками остеопении могут быть обусловлены влиянием ОС на активность остеокластов и остеобластов с последующим снижением МПК и потерей костной массы (Marcucci G. et al., 2023).

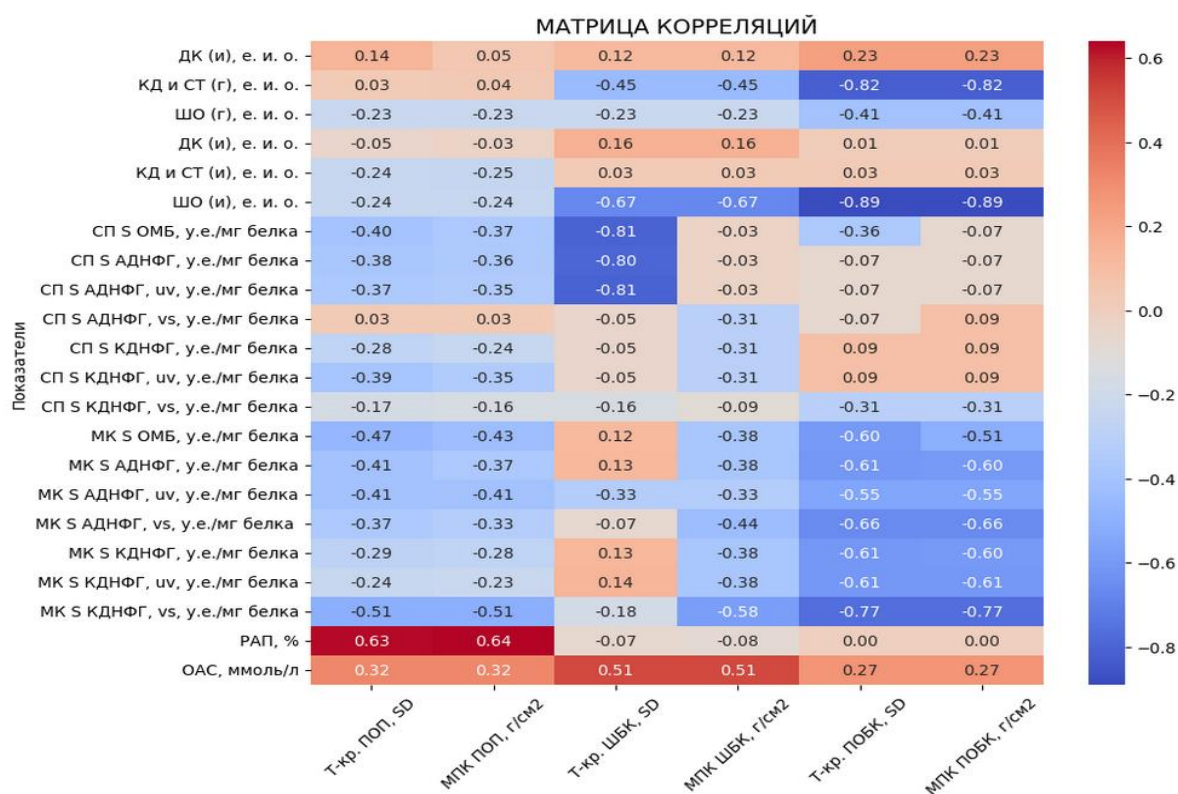


Рисунок 3 – Матрица корреляций между показателями денситометрии и редокс-статусом в костной ткани при ХЛЛ (представлены значения коэффициента корреляции Спирмена).

На шкале справа отражена сила связи по шкале Чеддока

Дисфункция АОЗ при ХЛЛ способствует апоптозу остеобластов и остеоцитов, вызывая эскалацию снижения МПК, возникновение остеопении и остеопороза (El-Gazzar A. et al., 2021).

Для связи тяжести течения ХЛЛ и вероятностью возникновения остеопении нами создана программа для ЭВМ по концентрации в сыворотке фосфора и количеству в крови лимфоцитов с маркерами CD19⁺, CD43⁺ на старте исследования [6]. Модель описывается следующим уравнением (1):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-247,3626 + (0,3505 \cdot CD19^+) + (2,2389 \cdot CD43^+) + (-8,5989 \cdot P))}} \quad (1)$$

где p — вероятность развития остеопении, $CD19^+$, $CD43^+$ — количество лимфоцитов, экспрессирующих соответствующие маркеры, P — концентрация фосфора в сыворотке.

Далее нами разработана программа для ЭВМ, которая прогнозирует вероятность возникновения остеопении при ХЛЛ на основании концентрации фосфора и оценки РАП в сыворотке [10]. Модель описывается следующим уравнением (2):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(0,6461 \cdot (-7,00298 \cdot P) + (0,14537 \cdot \text{РАП}) + (-1,28614 \cdot \text{group}))}}, \quad (2)$$

где p — вероятность развития остеопении, P — концентрация фосфора в сыворотке, РАП — резервно-адаптационный потенциал, рассчитанный, как отношение содержания в сыворотке продуктов ОМБ в спонтанном режиме к металл-катализируемому, принимая результаты металл-катализируемого режима за 100 %, group — обозначение исследуемой группы (0 — здоровые, 1 — больные ХЛЛ).

Для взаимосвязи между содержанием продуктов ПОЛ в костной ткани и содержанием продуктов ПОЛ в сыворотке создана математическая модель, которая позволяет отказаться от повторной трепанобиопсии гребня подвздошной кости (табл. 4) [14, 15].

Таблица 4 – Модель связи содержания продуктов ПОЛ в костной ткани с содержанием продуктов ПОЛ в сыворотке на старте

| Модель | Признаки | Коэффициенты | p |
|--|-------------|--------------|-----------|
| adjusted $R^2 = 0,36$; $p = 0,003$ | Intercept | 0,49817 | < 0,001 * |
| | КД и СТ (г) | -0,40958 | 0,03754 * |
| | ШО (г) | 0,66482 | 0,00107 * |
| Группа 3 | | 0,27 | 0,128 |

Примечание. здесь и далее * - статистически значимые ($p < 0,05$) различия

Модель имеет следующее уравнение (3):

$$x = 0,5 - 0,41 \cdot \text{КДиСТ(г)} + 0,66 \cdot \text{ШО(г)} \quad (3)$$

где x — содержание ДК в костной ткани в изопропанольной фазе на старте исследования, КД и СТ (г) — содержание кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки на старте исследования, ШО (г) — содержание оснований Шиффа в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки на старте исследования.

На втором этапе математического моделирования на старте исследования нами обнаружена взаимосвязь между снижением МПК в ШБК и увеличением содержания ДК в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки на старте исследования (табл. 5) [14, 18].

Модель имеет следующее уравнение (4):

$$x = 1,396 - 0,62 \cdot \text{ДК(г)} \quad (4)$$

где x — вероятность снижения МПК ШБК ($\text{г}/\text{см}^2$), ДК (г) — содержание диеновых конъюгатов в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки на старте.

Таблица 5 – Модель связи МПК ШБК с содержанием продуктов ПОЛ в сыворотке на старте

| Модель | Признаки | Коэффициенты | p |
|--|-----------|--------------|----------|
| adjusted R ² = 0,34; p = 0,001 | Intercept | 1,3960 | < 0,001* |
| | ДК (г) | -0,620 | 0,00156* |
| Группа 3 | | 0,27 | 0,128 |

На заключительном этапе нами разработана модель, которая прогнозирует по содержанию ДК в гептановой фазе и ШО в изопропанольной фазе липидного экстракта сыворотки на старте снижение МПК в ПОБК через 6 месяцев наблюдения (табл. 6) [14, 16]. Модель описывается следующим уравнением (5):

$$x = 2,39 - 1,99 \cdot \text{ДК(г)} - 3,12 \cdot \text{ШО(и)} + 0,27 \cdot \text{Остеопения} \quad (5)$$

где x — вероятность снижения МПК ПОБК (г/см²), ДК (г) — содержание диеновых конъюгатов в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки на старте, ШО (и) — содержание основания Шиффа в изопропанольной фазе липидного экстракта сыворотки на старте. Признак наличия остеопении был включен в модель, так как улучшал качество прогноза, но не показал статистической значимости (1 — есть, 0 — нет).

Таблица 6 – Модель определения МПК в ПОБК через 6 месяцев по содержанию продуктов ПОЛ в сыворотке

| Модель | Признаки | Коэффициенты | p |
|--|-----------|--------------|----------|
| adjusted R ² = 0,71; p = 0,002 | Intercept | 2,39 | < 0,001* |
| | ДК (г) | -1,99 | 0,024* |
| | ШО (и) | -3,12 | 0,017* |
| Группа 3 | | 0,27 | 0,128 |

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленные и предполагаемые механизмы развития остеопении при ХЛЛ с учетом полученных нами результатов представлены на интегральной схеме (рис. 4). При ХЛЛ ОС проявлялся накоплением продуктов ПОЛ, продуктов ОМБ и снижением ОАС в костной ткани и в сыворотке на старте исследования, увеличением в сыворотке продуктов ПОЛ и ОМБ, снижением ОАС через 6 месяцев [8]. Избыточное количество АФК стимулирует остеокластогенез, ингибирует остеобластическую активность, что приводит к изменению архитектуры костей и потере костной массы (Kimball J. S. et al., 2021). АФК, вырабатываемые преимущественно митохондриями, подавляют экспрессию остеогенных маркеров, ослабляя остеогенез, вызывают апоптоз остеоцитов и остеобластов, стимулируют дифференцировку остеокластов (Marcucci G. et al., 2023; Zhang C. et al., 2023). Дисфункция АОЗ потенцирует ОС в костной ткани, увеличивает потерю костной массы; показана прямая связь снижения активности СОД с МПК (León-Reyes G. et al., 2023). Высокие концентрации АФК и азота снижают активность, синтез и нарушают посттрансляционные модификации MMP-2 (Prado A. F. et al., 2021). Активация синтазы оксида азота (iNOS) и повышение синтеза оксида азота (II) повышает экспрессию MMP-9 (Wang Y. et al., 2024).

Снижение концентрации в сыворотке витамина D потенцирует ОС и как следствие резорбцию костной ткани (Gu J. C. et al., 2022; Renke G. et al., 2023). Витамин D снижает выраженность ОС за участия в метаболизме клеточного глутатиона, активности глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и др. механизмов (Mansournia M. A. et al., 2023). Витамин D оказывает противовоспалительный эффект, включая подавление синтеза IL-6 через прогестерон-индуцированный блокирующий фактор, вмешиваясь в NF-κB-зависимые пути внутриклеточной сигнализации; при дефиците витамина D уровень IL-6 в сыворотке повышается, что имеет значение в активации оси IL-6/гепсидин при ХЛЛ (Kim D. H. et al., 2020; Potre C. et al., 2023). Витамин D участвует в патогенезе ХЛЛ за счет влияния на опосредованные TLR9 и CD40⁺ сигнальные пути, например, PI3K/AKT, экспрессию генов S100A8, S100A9, KITLG и др. механизмы, повышая пролиферацию клеток ХЛЛ (Gerousi M. et al., 2023). Показано участие витамина в регуляции синтеза и/или активности MMP: при дефиците витамина D и его метаболитов снижается активность MMP-2, повышается экспрессия MMP-9 (Vo H. et al., 2023; Lim K. et al., 2020).

Обсуждается роль тестостерона в регуляции кальций-фосфорного обмена при ХЛЛ, показано, что у мужчин старше 45 лет в условиях снижения концентрации тестостерона уровень кальция и фосфора в сыворотке ниже по сравнению с женщинами того же возраста (Bosman A. et al., 2023). Снижение концентрации тестостерона в сыворотке ассоциировано с показателями ОС, обсуждается влияние клеток ХЛЛ на снижение продукции или эффектов тестостерона (Christensen L. L. et al., 2024). В частности, у пациентов с ХЛЛ низкие концентрации тестостерона в сыворотке могут быть связаны с высокой экспрессией андроген-инактивирующего фермента UGT2B17, экспрессией тестостероновых рецепторов на опухолевых лимфоцитах (Vanura K., 2021).

Дефицит тестостерона выступает одним из механизмов формирования ОС, сопровождается повышением концентрации в сыворотке концентрации 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина, в том числе за счет повышения активности НАДФН-оксидазы-4, снижаются уровни тиоловых антиоксидантов. Кроме этого, дефицит тестостерона ассоциирован с повышением уровня MMP-9 (Aslan R. et al., 2022).

С помощью метода регрессионного анализа созданы программы для ЭВМ и установлено, что у больных ХЛЛ и остеопенией на старте исследования содержание в сыворотке продуктов ОС сопоставимо с содержанием продуктов ОС в костной ткани; вероятность снижения МПК на старте определяется по содержанию продуктов ОС, концентрации фосфора в сыворотке, количеству в крови CD19⁺, CD43⁺ лимфоцитов на старте; вероятность снижения МПК в ПОБК через 6 месяцев определяется по содержанию продуктов ОС, концентрации в фосфора на старте.

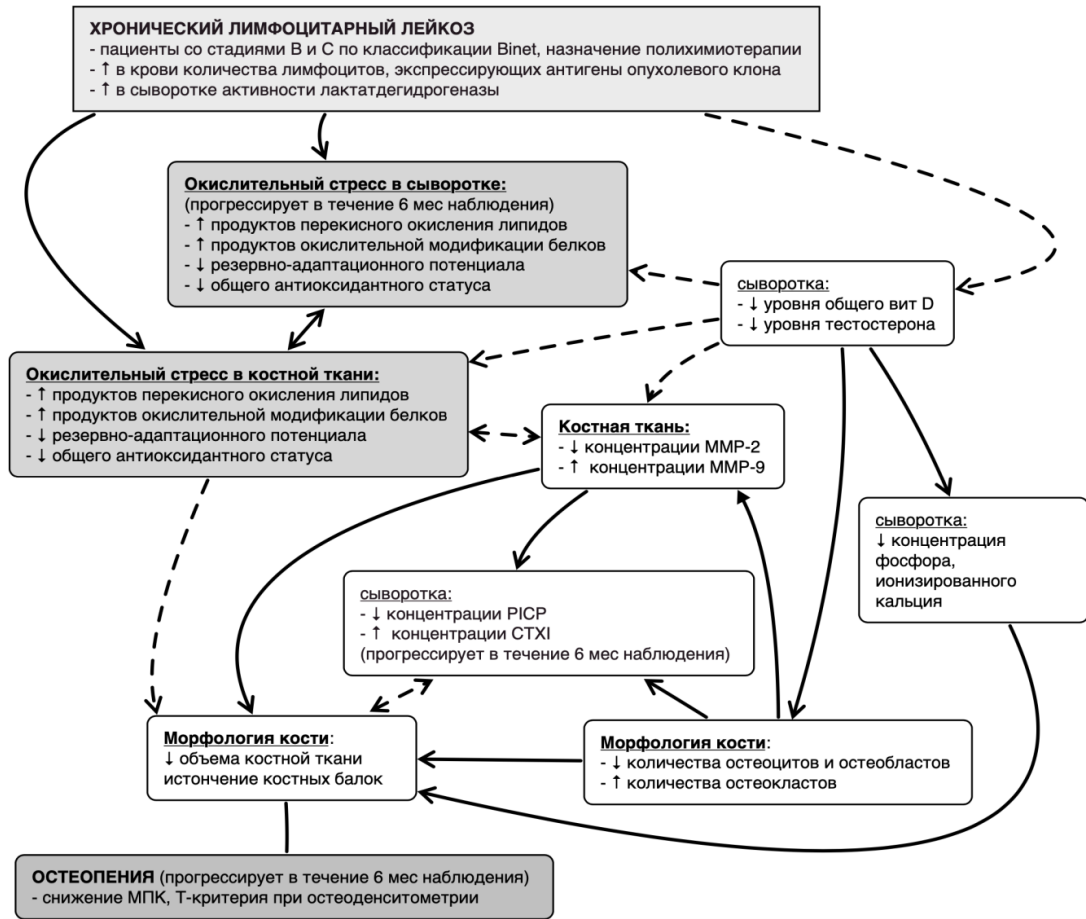


Рисунок 4 – Роль ОС в сыворотке и в костной ткани в патогенезе остеопении при ХЛЛ (предполагаемые механизмы обозначены пунктирными линиями)

ВЫВОДЫ

1. Снижение минеральной плотности костной ткани у больных ХЛЛ, по данным остеоденситометрии и критериям ВОЗ, соответствует остеопении (у 28,9% больных на старте исследования только в шейке бедренной кости, у 31,6% через 6 месяцев наблюдения – в поясничном отделе позвоночника, проксимальном отделе бедренной кости и в ее шейке), морфологически проявляется снижением объема костной ткани, количества остеоцитов и остеобластов, увеличением количества остеокластов, истончением костных балок; сопряжено с тяжелым течением опухолевого процесса: увеличением в крови количества лимфоцитов, экспрессирующих антигены опухолевого клона, увеличением в сыворотке активности лактатдегидрогеназы, преобладанием пациентов со стадиями, согласно классификации Binet, В и С, назначением полихимиотерапии.

2. У больных ХЛЛ и остеопенией на старте исследования в сыворотке снижается концентрация ионизированного кальция, фосфора, общего витамина D; через 6 месяцев в сыворотке сохраняются низкие концентрации фосфора, общего витамина D и снижается концентрация тестостерона; снижение концентрации в сыворотке терминального С-пропептида проколлагена I типа и увеличение концентрации С-телопептида коллагена I типа прогрессирует

в динамике 6-месячного наблюдения; на старте исследования в костной ткани снижается концентрация матриксной металлопротеиназы-2 и увеличивается концентрация матриксной металлопротеиназы-9.

3. Окислительный стресс в костной ткани у больных ХЛЛ и признаками остеопении проявляется накоплением первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в гептановой и в изопропанольной фазах липидного экстракта; ранних продуктов окислительной модификации белков нейтрального и основного характера, поздних продуктов нейтрального характера в спонтанном режиме детекции; ранних и поздних продуктов окислительной модификации белков нейтрального и основного характера в металл-индуцированном режиме детекции; снижением РАП и ОАС.

4. Окислительный стресс в сыворотке у больных ХЛЛ и признаками остеопении проявляется на старте исследования накоплением в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов, в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции ранних и поздних продуктов окислительной модификации белков нейтрального и основного характера, снижением РАП и ОАС; через 6 месяцев наблюдения зафиксирована эскалация указанных изменений редокс-статуса.

5. У больных ХЛЛ и остеопенией на старте исследования снижение Т-критерия и минеральной плотности костной ткани в поясничном отделе позвоночника и бедренной кости происходит по мере увеличения содержания в костной ткани вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в гептановой фазе, конечных продуктов в изопропанольной фазе; по мере увеличения суммарного содержания продуктов окислительной модификации белков в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции, в том числе ранних и поздних продуктов нейтрального и основного характера; по мере снижения ОАС.

6. Созданы математические модели с помощью метода линейной регрессии для расчета показателей редокс-статуса в костной ткани на основании показателей редокс-статуса в сыворотке, расчета минеральной плотности костной ткани на старте исследования на основании показателей редокс-статуса в сыворотке на старте исследования, расчета минеральной плотности костной ткани через 6 месяцев наблюдения на основании показателей редокс-статуса в сыворотке на старте исследования.

7. С использованием логистической регрессии созданы математические модели для расчета вероятности возникновения остеопении у больных ХЛЛ по концентрации в сыворотке фосфора и количеству в крови лимфоцитов, экспрессирующих CD19⁺, CD43⁺; вероятности возникновения остеопении у больных ХЛЛ на основании концентрации фосфора в сыворотке и РАП сыворотки (отношение содержания в сыворотке продуктов окислительной модификации

белков в спонтанном режиме к содержанию в сыворотке продуктов окислительной модификации белков в металл-катализируемом режиме).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Осиков, М. В. Иммунологические аспекты патогенеза остеопороза у больных с хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, А. А. Федосов, А. В. Синеглазова // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2023. – № 1. – С. 4-17.
2. Осиков, М. В. Роль изменений редокс-статуса в патогенезе хронического лимфолейкоза / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, А. А. Федосов, А. В. Синеглазова // Вестник современной клинической медицины. – 2023. – Т. 16, № 5. – С. 65-71.
3. Клинико-инструментальные особенности костной ткани при хроническом лимфолейкозе / М. В. Осиков, А. В. Синеглазова, **Е. А. Коробкин** // Популяционные, клинические и профилактические аспекты полипатий. Мультидисциплинарный подход: Материалы XII Межрегиональной научно-практической конф., посвященной 100-летию ЗДН РФ, профессора Д. А. Глубокова, Челябинск, 14 декабря 2023 года. – Челябинск: Издательский центр «Титул», 2023. – С. 105.
4. Осиков, М. В. Клинико-инструментальные особенности костной ткани у больных с хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, А. В. Синеглазова, **Е. А. Коробкин** // IV Всероссийский конгресс клинической медицины с международным участием им. С.С. Зимницкого : Сборник тезисов, Казань, 07–08 декабря 2023 года. – Казань: Медицинский издательский дом «Практика», 2024. – С. 44-45.
5. **Коробкин, Е. А.** Концентрация витамина D в сыворотке как фактор риска остеопении при хроническом лимфолейкозе / **Е. А. Коробкин**, И. А. Макейкина // Альманах молодой науки. – 2024. – № 1(52). – С. 34-35.
6. Прогноз остеопении у пациентов с хроническим лимфолейкозом в зависимости от уровня фосфора сыворотки и экспрессии CD19, CD43 в лимфоцитах периферической крови: **Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2024614288 РФ : № 2024613207 : заявл. 21.02.2024 : опубл. 21.02.2024** / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин** ; правообладатель ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.
7. Осиков, М. В. Взаимосвязь фенотипа лимфоцитов периферической крови и признаков остеопении у больных с хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, А. А. Федосов, Г. П. Димов // **Российский иммунологический журнал.** - 2024. - Т. 27. - №2. - С. 375-382. [Scopus]
8. **Коробкин, Е. А.** Окислительный стресс в костной ткани как механизм остеопении у больных с хроническим лимфолейкозом / **Е. А. Коробкин**, И. А. Макейкина // Актуальные проблемы биомедицины - 2024 : Материалы XXX Всероссийской конф. молодых учёных с межд. участием. – Санкт-Петербург: ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2024. – С. 46-47.

9. Осиков, М. В. Продукты пероксидации липидов в костной ткани как маркеры остеопении у больных с хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, Г. П. Димов // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия.** – 2024. – Т. 68, № 1. – С. 48-54.
10. Показатели окислительной деструкции белков крови и фосфора сыворотки как маркер остеопении при ХЛЛ: **свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2024619167 РФ : № 2024618027 : заявл. 16.04.2024 : опубл. 22.04.2024** / М. В. Осиков, Е. А. Коробкин ; правообладатель ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.
11. Осиков, М. В. Мутационный статус IGVH как маркер остеопении у больных с хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, М. С. Бойко // *Клиническая патофизиология.* – 2024. – Т. 30, № S2. – С. 90.
12. Осиков, М. В. Современные представления о патогенезе остеопороза при хроническом лимфолейкозе (обзор литературы) / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, А. А. Федосов, А. В. Синеглазова // *Acta Biomedica Scientifica.* – 2024. – Т. 9, № 4. – С. 100-107.
13. Osikov, M. V. The Role of Changes in the Redox Status in the Pathogenesis of Chronic Lymphocytic Leukemia / M. V. Osikov, **E. A. Korobkin**, A. A. Fedosov, A. V. Sineglazova // **Doklady Biochemistry and Biophysics.** – 2024. – Vol. 519, № 1. – P. 564-570. [Scopus]
14. Осиков, М. В. Роль окислительного стресса в патогенезе остеодеструктивного синдрома у больных с хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин** // **Вестник РГМУ.** – 2024. – №6. – С. 68–74. DOI: 10.24075/vrgmu.2024.053.
15. Модель связи продуктов перекисного окисления липидов в кости с продуктами перекисного окисления липидов в сыворотке при хроническом лимфолейкозе: **Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2024686756 РФ : № 2024686257 : заявл. 05.11.2024 : опубл. 12.11.2024** / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин** ; правообладатель ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.
16. Модель определения минеральной плотности кости в проксимальном отделе бедренной кости через 6 месяцев по показателям перекисного окисления липидов сыворотки при хроническом лимфолейкозе: **Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2024687502 РФ : № 2024686283 : заявл. 05.11.2024 : опубл. 19.11.2024** / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин** ; правообладатель ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.
17. Осиков, М. В. Роль окислительного стресса в костной ткани в патогенезе остеопении у больных хроническим лимфолейкозом / М. В. Осиков, **Е. А. Коробкин**, А. В. Коробкин // **Гематология и трансфузиология.** – 2024. – Т. 69, № 4. – С. 442-450. [Scopus]
18. Модель определения минеральной плотности кости в шейке проксимального отдела бедренной кости по показателям перекисного окисления липидов сыворотки при хроническом лимфолейкозе: **Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2025615595 РФ :**

№ 2025614197 : заявл. 04.03.2025 : опубл. 06.03.2025 / М. В. Осиков, Е. А. Коробкин ; правообладатель ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

19. Осиков, М. В. Роль изменений ремоделирования костной ткани в патогенезе остеопении у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом / М. В. Осиков, Е. А. Коробкин // **Современные проблемы науки и образования.** – 2025. – № 2. (дата обращения: 15.03.2025). DOI: 10.17513/spno.33929

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

| | |
|--|--|
| АОЗ – антиоксидантная защита | ПОП – поясничный отдел позвоночника |
| АФК – активные формы кислорода | РАП – резервно-адаптационный потенциал |
| ДК – диеновые конъюгаты | СТ – сопряженные триены |
| КД – кетодиены | ХЛЛ – хронический лимфоцитарный лейкоз |
| ЛДГ - лактатдегидрогеназа | ХЛЛ+ОП – хронический лимфоцитарный лейкоз с остеопенией |
| ММР – матриксная металлопротеиназа | ХЛЛ–ОП – хронический лимфоцитарный лейкоз без остеопении |
| МПК – минеральная плотность костной ткани | ШБК – шейка бедренной кости |
| НАДФН - никотинамидадениндинуклеотидфосфат | ШО – основания Шиффа |
| ОДМ - остеоденситометрия | ЭВМ – электронно-вычислительная машина |
| ОМБ – окислительная модификация белков | СТХI – С-телопептид коллагена I типа |
| ОС – окислительный стресс | FRAX – Fracture Risk Assessment Tool |
| ПОБК – проксимальный отдел бедренной кости | РІСР – терминальный С-пропептид проколлагена I типа |
| ПОЛ – перекисное окисление липидов | SNP – однонуклеотидный полиморфизм |