

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РЕЗОРБЦИИ КОСТИ, РЕГУЛЯЦИЯ ОСТЕОКЛАСТОГЕНЕЗА И КОСТНЫХ ПОТЕРЬ ПОСЛЕ ПЕРЕСАДКИ ПЕЧЕНИ

В.П. БУЗУЛИНА¹, И.А. ПРОНЧЕНКО², И.П. ЕРМАКОВА^{*3}, Н.П. ШМЕРКО⁴, А.А. АНДРИАНОВА⁵, М.Н. КОРНИЛОВ⁶, Е.Б. ЯРОШЕНКО⁷, Т.К. КОЛИАШВИЛИ⁸

¹ врач лабораторно-диагностического отделения, к.б.н., ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

² с.н.с. лабораторно-диагностического отделения, к.м.н., ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

³ д.м.н., с.н.с. лабораторно-диагностического отделения, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

⁴ зав. лабораторно-диагностического отделения, к.м.н. ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

⁵ врач лабораторно-диагностического отделения, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

⁶ врач-хирург отделения пересадки печени и почки, к.м.н., ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

⁷ врач-терапевт отделения пересадки печени и почки, к.м.н. ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва;

⁸ врач-рентгенолог отделения лучевой диагностики и РХМЛ, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Минздрава России, Москва

Цель исследования: оценка гормональной и клеточной регуляции костной резорбции. **Методы и результаты:** в различные сроки после ортотопической трансплантации печени (ОТП) выполнен сравнительный анализ двух маркеров резорбции кости БКЛ и КТРКФ-5б, а также маркеров гормональной (ПТГ, витамин Д3, эстрадиол, тестостерон) и клеточной регуляции (ОПГ, ИЛ-6, ФНО-альфа). Через 1 месяц после ОТП отмечено снижение минеральной плотности, уровня витамина Д3, эстрадиола, тестостерона, повышение цитокинов и маркеров резорбции кости. Через 1 и 2 года после ОТП минеральная плотность L2—L4 увеличивалась на фоне возрастания уровня ПТГ, половых гормонов, снижения ИЛ-6, ФНО-альфа и БКЛ, несмотря на стабильно низкий уровень витамина Д3 и повышенный уровень КТРКФ-5б.

Заключение: в ранние сроки КТРКФ-5б является более специфичным маркером резорбции кости, не зависящим от метаболизма коллагена в печени. Выраженность костной резорбции в отдаленные сроки после ОТП тесно связана с уровнями ПТГ и цитокинов (ФНО-альфа и ОПГ).

Ключевые слова: ортотопическая трансплантация печени, остеопороз, маркеры костной резорбции



ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация печени признана наиболее оптимальным способом помощи больным с острыми и хроническими заболеваниями печени в терминальной стадии [3]. Вместе с тем, даже после успешной пересадки печени, предоперационный статус пациентов, а также иммуносупрессивная терапия являются объективными предпосылками развития осложнений, существенно снижающими качество жизни реципиента. Известно, что хронические заболевания печени ассоциируются с различными метаболическими заболеваниями скелета, наиболее распространенными из которых являются остеопороз и остеопения, диагностируемые у 40—70% пациентов [9, 14, 16, 20]. В эру обязательного включения кортикостероидов в схему иммуносупрессивной терапии в ранние посттрансплантационные сроки (от 3 до 12 месяцев) отмечалось прогрессивное снижение минеральной плотности кости, при том динамика ее изменения в значительной степени зависела от ежедневных и кумулятивных доз глюкокортикоидов. [4, 16, 19, 28]. Нарушения костного метаболизма в этот период характеризовались снижением маркеров формирования и повышением [8, 14, 27] или снижением [7] маркеров резорбции кости. Увеличение (по сравнению с предтрансплантационным уровнем) минеральной плотности кости (МПК) в области поясничных позвонков через 12–24 месяца, а в проксимальных отделах бедра через 36 месяцев после трансплантации, наблюдалось на фоне достоверного повышения или стабильно нормальных значений маркеров формирования, и постепенного снижения до нормы [14, 16, 19, 27, 26] или повышения [5] маркеров резорбции кости. Замена циклоспорина на такролимус в сочетании с индукционной иммуносупрессией, представленной моноклональными антителами к рецептору интерлейкина-2,

существенно снизила в раннем периоде после трансплантации частоту острых отторжений и послеоперационных осложнений, лечение которых требовало применения высоких доз глюкокортикоидов [3]. Снижение частоты хирургических осложнений и ранняя нормализация функции трансплантата на фоне схем иммуносупрессии без глюкокортикоидов явились предпосылками существенного уменьшения выраженности костных потерь в ранние и поздние послеоперационные сроки [1, 4, 19, 24]. Увеличение МПК после ортотопической трансплантации печени (ОТП) связывают с нормализацией гормонального и клеточного механизмов регуляции процессов костного ремоделирования. Так, частота гиперпаратиреоза, являющегося одной из основных причин нарушения костного метаболизма, не превышает после ОТП 10—15% [7, 28]. Уменьшение после ОТП дефицита активных метаболитов витамина Д3, отмечаемое многими, но не всеми исследователями, связывают с восстановлением синтетической (в частности гидроксидной) функции печени, однако тесной взаимосвязи между изменением паратиреоидного гормона и концентрацией витамина Д3 не находят [24]. Наблюдается повышение уровня тестостерона у мужчин и эстрадиола у женщин, при том через один год после ОТП у 70% женщин нормализуются менструальный цикл и фертильность и у 85% мужчин восстанавливается сексуальная активность [6, 19, 23, 29]. Известно, что и тестостерон и эстрадиол осуществляют свои эффекты на процессы ремоделирования кости с помощью клеточных медиаторов, одними из которых являются остеопротегерин (ОПГ), интерлейкин-6 (ИЛ-6) и фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа). Снижение эстрогенов приводит к увеличению активности

* e-mail: lab_transpl_nii@mail.ru

остеокластов через редуцирование гормонального контроля над прорезорбтивными (провоспалительными) цитокинами ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО-альфа [15, 25], которые воздействуют на резорбцию кости через систему RANK/RANKL/OPG, являющуюся ключевым регулятором остеокластогенеза и активности остеокластов. Оценку состояния резорбции кости в настоящее время осуществляют, главным образом, на основании определения в моче N-телопептида (NTx) или в сыворотке крови C-телопептида (CTx) коллагена 1 типа или так называемых β -кросслапов (БКЛ), отражающих активность остеокластов [10]. В последнее время появились работы о высокой прогностической значимости сывороточной костной тарtrateзистентной кислой фосфатазы — фракции 56 (КТРКФ-56) — маркера остеокластической активности, которая имеет низкую дневную вариабельность и не накапливается в циркулирующей крови в случае почечной или печеночной патологии [22]. Однако в доступной нам литературе сравнительного анализа двух маркеров резорбции (БКЛ и КТРКФ-56), а также исследования роли ИЛ-6 и ФНО-альфа в нарушениях костной резорбции и потерях минеральной плотности кости у реципиентов после трансплантации печени мы не обнаружили.

Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка изменения двух маркеров резорбции кости, а также оценка состояния гормональной и клеточной регуляции костной резорбции и их роли в костных потерях у реципиентов в различные сроки после трансплантации печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 47 реципиентов в возрасте от 18 до 65 лет в различные сроки после трансплантации печени (ОТП). 34 реципиента (24 женщины и 10 мужчин) в возрасте 40.2 ± 12.9 лет обследовано в стационарных условиях через 1 месяц после OTP на фоне удовлетворительной функции трансплантата, наблюдаемой на фоне стабилизации, но неполного восстановления клинико-лабораторных показателей (группа 1). 28 реципиентов группы 1 и 19 новых реципиентов обследованы в сроки 7—18 (в среднем 12.1 ± 3.3) месяцев (группа 2) и 18—38 (в среднем 26.0 ± 5.5) месяцев (группа 3) после OTP в амбулаторном режиме. В эти периоды у большинства реципиентов было отмечено отчетливое улучшение клинических и лабораторных показателей, однако у 5 реципиентов группы 2 и у 3 реципиентов группы 3 активность печеночных ферментов все еще оставалась выше нормальных значений [1, 2].

Интраоперационно всем реципиентам до реперфузии печеночного трансплантата вводили 500 мг метилпреднизолона (Солу-Медрол).

В последующем прием глюкокортикоидов зависел от клинических показаний. Базисным препаратом иммуносупрессии являлся ингибитор кальциневрина такролимус (Програф) в сочетании с микофенолатами при индукции анти СД-25-антителами или без них [3]. Кортикостероиды, как правило, назначались реципиентам, которые до OTP страдали первичным билиарным циррозом, первичным склерозирующим холангитом и циррозом печени в исходе аутоиммунного гепатита. Суммарная доза кортикостероидов, полученная 31 реципиентом группы 1, на момент обследования составила 1.15 ± 0.7 гр. 3 реципиента группы 1 длительное время получали глюкокортикоиды до операции, и кумулятивная доза метилпреднизолона у них составила 44.5 гр., 16.1 гр. и 8.6 гр. соответственно. В отдаленные сроки после OTP кортикостероиды входили в схему иммуносупрессивной терапии у 21 реципиента группы 2 и у 17 реципиентов группы 3, и общая доза метилпреднизолона составила 3.75 ± 2.4 гр. и 6.70 ± 2.9 гр. соответственно. Клиническая характеристика реципиентов OTP и данные лабораторных анализов представлены в работах [1, 2]. В сыворотке крови, взятой утром натощак, определяли биохимические маркеры резорбции — бета-кросслапы (БКЛ) и костную фракцию 56 тарtrateзистентной кислой фосфатазы (КТРКФ-56), кальцийрегулирующие гормоны — паратиреоидный гормон (ПТГ) и витамин Д3, половые гормоны — эстрадиол и тестостерон, а также цитокины — остеопротегерин (ОПГ), интерлейкин — 6 (ИЛ-6) и фактор некроза опухоли альфа (ФНО-альфа). БКЛ, ПТГ, витамин Д3, эстрадиол и тестостерон измеряли иммунологическими методами наборами фирмы «Roche» (Германия) на электрохемилюминисцентном анализаторе Elecsys 2010 (Германия). Цитокины определяли иммуноферментными методами: ОПГ наборами фирмы «Biomedica» (Австрия), КТРКФ-56 — «IDS» (Англия), а ИЛ-6 и ФНО-альфа — «Invitrogen» (США) на анализаторе «Пикон» (Россия).

МПК исследовали в области поясничных позвонков (L2—L4) и в шейке бедра (Neck) методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DEXA) на денситометре фирмы «LUNAR» (США). Индивидуальные результаты определения МПК выражали в виде Т-критерия — кратности стандартных отклонений здоровых (SD) от пика костной массы.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS 14.0 (США) с использованием корреляционной и вариационной статистики. Критический уровень значимости различия показателей принимали равным 0.05.

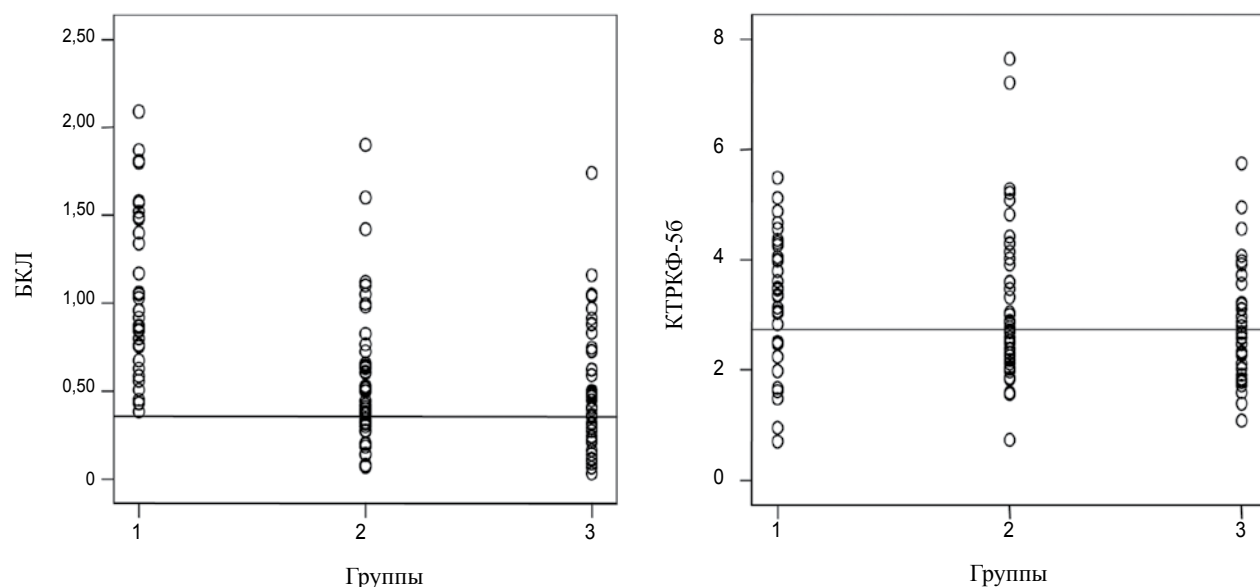


Рис. 1. Индивидуальные данные БКЛ и КТРКФ-56 в различные сроки после OTP

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования биохимических маркеров резорбции кости и уровней гормонов и цитокинов представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, через 1 месяц после ОТП из двух маркеров резорбции кости достоверно ($p=0.0001$) повышенными по сравнению со здоровыми (норма 0.3 ± 0.14 нг/мл) оказались только БКЛ, при этом высокие значения БКЛ наблюдались у 28 (82.3%) реципиентов и только у 6 (17.6%) не выходили за пределы нормы. В противоположность этому величины КТРКФ-56 (норма 2.8 ± 1.5 ед/л) у 26 (78.8%) реципиентов не отличались от нормальных значений (находились в диапазоне $2.47\text{—}4.31$ ед/л), у 2 были снижены (0.95 и 0.70 ед/л) и только у 5 — слегка повышены ($4.56\text{—}5.49$ ед/л). В отдаленном периоде после ОТП повышение БКЛ имело место у 20 (42.5%) и 14 (29.8%) реципиентов групп 2 и 3 соответственно, и средние значения БКЛ в этих группах оказались статистически значимо ($p=0.0001$) ниже, чем при обследовании через 1 месяц после ОТП. Средние значения КТРКФ-56 у реципиентов групп 2 и 3 не отличались от величин, зарегистрированных через 1 месяц после ОТП, и у 37 (78.7%) реципиентов не превышали уровень нормы. Высокие значения КТРКФ-56 (7.21 и 7.24 ед/л) отмечены у двух реципиентов группы 2, тогда как у остальных они были слегка повышены (рис.1).

Во всех трех группах отмечалось в среднем статистически значимое ($p=0.0001$) снижение минеральной плотности кости в поясничных позвонках и в области шейки бедра по сравнению со здоровыми людьми (табл.2). Наиболее выраженное снижение МПК выявлено через 1 месяц после ОТП. Так в группе 1 потеря костной массы до степени остеопороза в поясничных позвонках и шейке бедра отмечена у 13 (38%) реципиентов, до степени остеопении — у 14 (41%) реципиентов и у 7 (21%) реципиентов МПК в двух измеряемых отделах не отличалась от нормы. В отдаленные сроки после ОТП и в группе 2, и в группе 3 наблюдалось статистически значимое уменьшение костных потерь в поясничных позвонках (соответственно $p=0.015$ и $p=0.001$), тогда как в области шейки бедра имела место только тенденция к увеличению МПК у реципиентов группы 3. Из 47 реципиентов

группы 2 и группы 3 остеопороз выявлен соответственно в 13% и 13%, остеопения — в 57% и 49%, а нормальные значения МПК — в 30% и 38% случаев.

Учитывая, что во всех трех группах изменение МПК варьировало от степени остеопороза до нормальных значений, представлялось целесообразным проанализировать уровень маркеров резорбции кости при различных потерях костной массы (рис.2). Оказалось, что через 1 месяц после ОТП высокие значения БКЛ наблюдались и при остеопорозе, и при остеопении и при нормальных значениях МПК, и, следовательно, не зависели от степени потери костной массы. Через 12 месяцев после ОТП (группа 2) отмечалось статистически значимое ($p<0.05$) по сравнению с группой 1 снижение БКЛ при остеопорозе, остеопении и нормальной МПК соответственно на 43%, 36% и 59%, а через 26 месяцев (группа 3) — на 47%, 48% и 61%. В отличие от БКЛ уровни КТРКФ-56 в поздние сроки после ОТП у реципиентов с остеопорозом практически не отличались от величин, зарегистрированных через 1 месяц после ОТП. Через 24 месяца после ОТП (группа 3) КТРКФ-56 у реципиентов с остеопорозом была достоверно выше ($P=0.051$), чем у реципиентов с нормальными значениями МПК.

Из двух кальцийрегулирующих гормонов ПТГ (норма 40 ± 12.8 пг/мл) оказался достоверно повышенным по сравнению со здоровыми только в группах 2 и 3, тогда как витамин ДЗ (норма 27 ± 8.7 нг/мл) оставался сниженным во всех группах. Через 1 месяц после ОТП гиперпаратиреоз выявлен у 5 (15%) реципиентов (ПТГ от 67 до 119 пг/мл), в группе 2 у 8 (17%) реципиентов (ПТГ от 73 до 232 пг/мл) и в группе 3 у 11 (23%) реципиентов (ПТГ от 71 до 104 пг/мл). Во всех группах реципиентов не выявлено какой-либо корреляции между ПТГ и витамином ДЗ, однако получены достоверные прямые корреляции между уровнями ПТГ и БКЛ в группе 2 ($r=0.428$; $p=0.002$) и группе 3 ($r=0.444$; $p=0.002$) и достоверная обратная корреляция между витамином ДЗ и БКЛ ($r=-0.485$; $p=0.003$) в группе 3.

Проведен анализ состояния эндогенной секреции половых гормонов: эстрадиола у женщин-реципиентов (норма 89 ± 39 пг/мл) и тестостерона у мужчин (норма 5.4 ± 1.3 нг/мл) в различные сроки после трансплантации печени. Как видно из табл. 3, в ранние сроки после ОТП уровень эстрадиола снижен в одинаковой степени у женщин в пре- и постменопаузе, однако в более поздние сроки у женщин в пременопаузе наблюдается восстановление менструального цикла и повышение эстрадиола до нормального уровня. На этом фоне у женщин в пременопаузе прирост МПК в поясничных позвонках в группах 2 и 3 составил 62% и 76%, а в шейке бедра — 35% и 41% соответственно. У женщин в постменопаузе степень повышения МПК оказалась ниже, чем у женщин в пременопаузе и составила 31% и 39% в позвончике и 21% и 23% в шейке бедра. Важно отметить, что снижение БКЛ в группах 2 и 3 наблюдалось как у женщин в пременопаузе, так и в постменопаузе, а достоверное снижение КТРКФ-56 — только у женщин в пременопаузе в группе 3. Выявлены достоверная отрицательная корреляция между БКЛ и МПК в поясничных позвонках у женщин группы 2 ($r=-0.413$ $p=0.015$) и прямая корреляция между уровнем эстрадиола и МПК в поясничных позвонках у женщин группы 3 ($r=0.543$ $p=0.003$). Уровень тестостерона у мужчин через 1 месяц после ОТП был достоверно ($p=0.048$) ниже, чем в группе 2. Дефицит тестостерона выявлен у 3 (33%) реципиентов группы 1, у 1 (6%) реципиента группы 2 и у 3 (23%) реципиентов группы 3. Как и у женщин, у мужчин в поздние сроки после ОТП наблюдалось достоверное снижение БКЛ. Корреляционный анализ не выявил достоверных взаимосвязей между уровнем половых гормонов и маркерами резорбции кости ни у женщин, ни у мужчин во всех трех группах. Уровни клеточных цитокинов ОПГ (норма 2.08 ± 1.56 пмоль/мл), ФНО- α и ИЛ-6 (нормы соответственно 4.05 ± 2.0 пг/мл и 4.85 ± 2.4 пг/мл для реципиентов, принимающих иммуносупрессанты, по данным клиники Майо (<http://www.mayoclinic.org/gi-rst/mayomodel17.html>) имели тенденцию к снижению с увеличением срока после ОТП (табл.1). Однако

Таблица 1

Биохимические маркеры резорбции, гормоны и цитокины в различные сроки после пересадки печени (M $\pm$ STD)

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3
БКЛ (нг/мл)	1.04 ± 0.5 n=34	$0.56\pm 0.4^*$ n=47	$0.49\pm 0.3^*$ n=47
КТРКФ-56 (ед/л)	3.21 ± 1.2 n=33	3.09 ± 1.4 n=47	2.78 ± 1.0 n=38
ПТГ (пг/мл)	40.4 ± 22 n=34	$56.1\pm 37^*$ n=47	$52.1\pm 23^*$ n=47
Витамин ДЗ (нг/мл)	22.7 ± 10 n=33	22.9 ± 11 n=47	20.2 ± 10 n=36
ОПГ (пмоль/мл)	5.14 ± 2.2 n=30	5.37 ± 2.0 n=43	4.74 ± 1.8 n=32
ФНО-альфа (пг/мл)	7.89 ± 3.2 n=22	7.51 ± 2.0 n=28	$6.16\pm 1.1^*$ n=13
ИЛ-6 (пг/мл)	12.71 ± 10.9 n=22	$4.98\pm 6.4^*$ n=26	$2.79\pm 1.1^*$ n=11

* — различие достоверно ($p<0,05$) по сравнению с группой 1

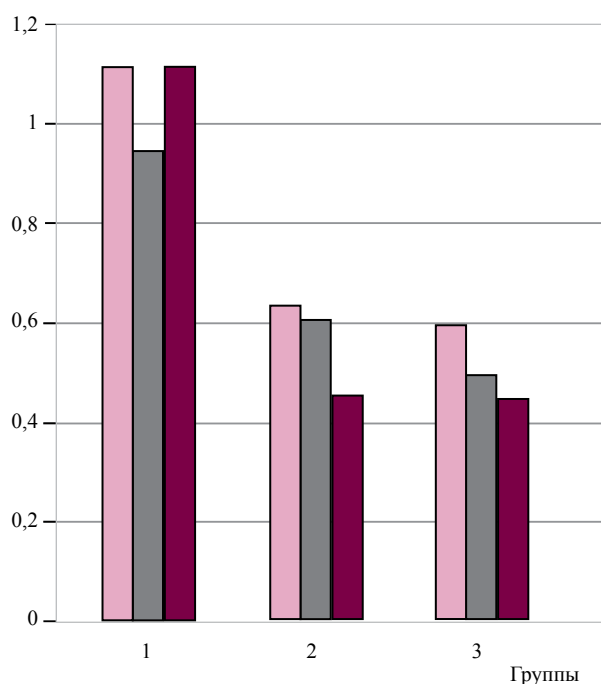
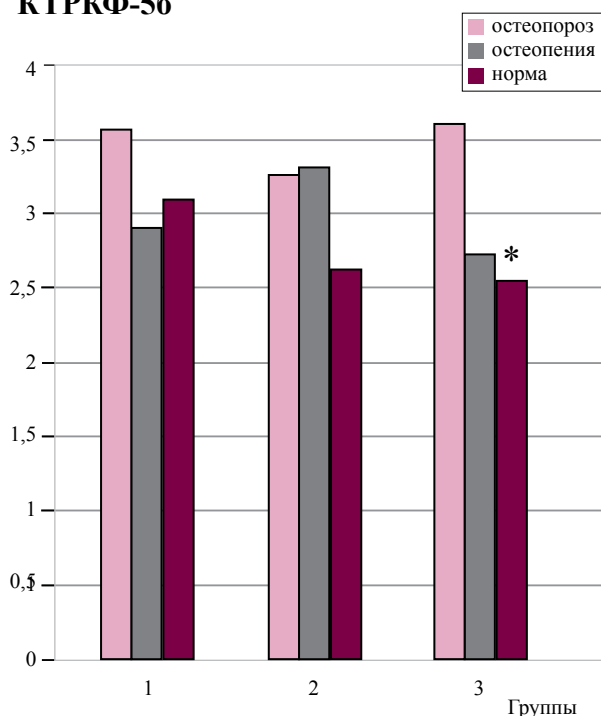
+) — различие достоверно ($p<0,05$) по сравнению с группой 2

Таблица 2

Минеральная плотность кости в позвончике (L2—L4) и шейке бедра (Neck)

Группы	МПК L2-L4 (Т-критерий)	МПК Neck (Т-критерий)
Группа 1	-2.10 ± 1.47	-1.27 ± 1.27
Группа 2	$-1.34\pm 1.18^*$	-1.07 ± 1.05
Группа 3	$-0.96\pm 1.31^*$	-0.98 ± 1.10

* — различие достоверно по сравнению с группой 1

БКЛ**КТРКФ-56**

* - различие достоверно ($P=0.05$) по сравнению с подгруппой «остеопороз»

Рис. 2. Изменение БКЛ и КТРКФ-56 в зависимости от потери костной массы в различные сроки после ОТП

значения этих показателей варьировали от нормальных до высоких. ОПГ был повышен у 21 (70%), 33 (76%) и 24 (75%) реципиентов группы 1, 2 и 3 соответственно, ФНО-альфа — только у 7 (32%) реципиентов группы 1 и 5 (18%) группы 2, ИЛ-6 — у 10 (45%) группы 1 и у 3 (4%) группы 2. У 5 из 10 реципиентов группы 1 повышение ИЛ-6 от умеренных до экстремальных значений (от 11.2 до 42.0 пг/мл) сочеталось с высокими значениями ФНО-альфа (рис.3). Ни у кого из 11

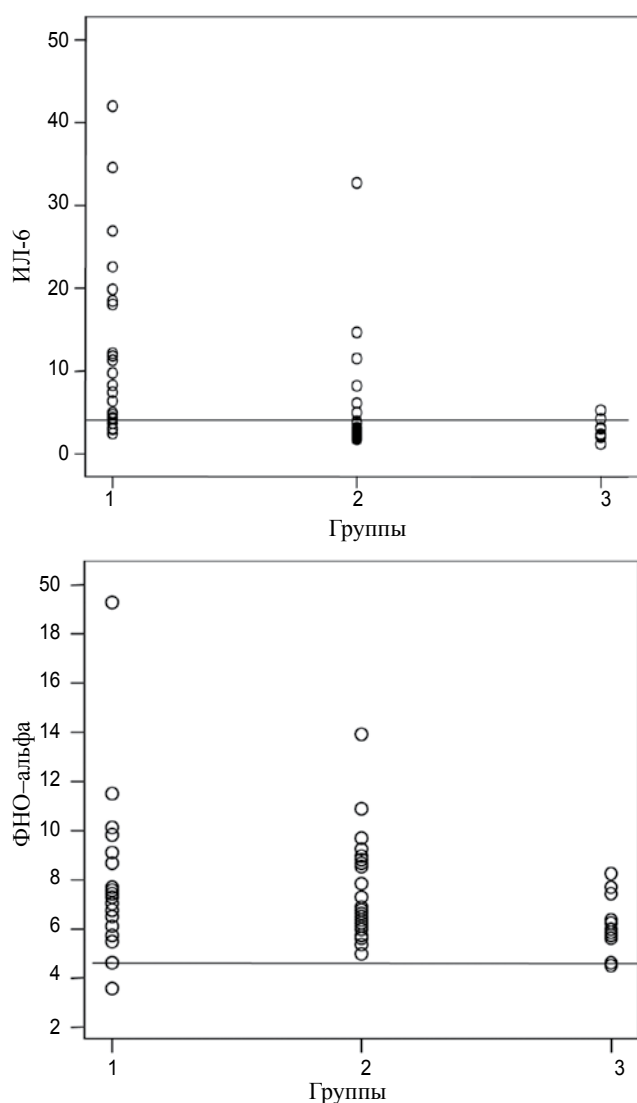


Рис. 3. Индивидуальные данные ИЛ-6 и ФНО-альфа в различные сроки после ОТП

реципиентов, обследованных в группе 3, повышения ИЛ-6 и ФНО-альфа отмечено не было. Через 1 месяц после ОТП величины БКЛ и КТРКФ-56 у реципиентов с высоким уровнем ИЛ-6 не отличались от значений, полученных у реципиентов с нормальным уровнем ИЛ-6 (БКЛ составили 1.09 ± 0.48 и 1.12 ± 0.47 г/см³, а КТРКФ-56 — 2.77 ± 1.18 и 3.34 ± 1.04 нмоль/л соответственно). Вместе с тем у реципиентов группы 2 выявлены положительные достоверные корреляции между маркерами резорбции и ФНО-альфа (для БКЛ $r=0.471$, $p=0.011$ и для КТРКФ-56 $r=0.480$, $p=0.010$), между маркерами резорбции и остеопротегерином ($r=0.338$, $p=0.027$ и $r=0.498$, $p=0.001$ для БКЛ и КТРКФ-56 соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 1 месяц после ОТП у абсолютного большинства реципиентов (у 82%) наблюдались высокие значения БКЛ, которые сочетались с нормальными или слегка повышенными значениями КТРКФ-56. Кроме того, между обоими маркерами резорбции отсутствовала какая-либо корреляция. Таким образом, заметное расхождение между двумя биохимическими маркерами БКЛ и КТРКФ-56 не позволяло на основании их определения адекватно оценить состояние костной резорбции в раннем послеоперационном периоде. Вместе с тем, анализ состояния гормональной и клеточной регуляции костной резорбции показал, что в ранние сроки после операции уровень ПТГ в среднем находился в пределах нормы (однако у 15% реципиентов отмечено его повы-

шение), витамин ДЗ был умеренно снижен, тестостерон у мужчин и эстрадиол у женщин и в пре-, и в постменопаузе снижены, а цитокины повышены (ФНО-альфа у 32%, ИЛ-6 у 45% и ОПГ у 70% реципиентов). Повышение провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-6, могло быть обусловлено как гиперпаратиреозом (у части реципиентов), так и дефицитом половых гормонов (эстрадиола) и быть причиной усиления активности остеокластов и, следовательно, ускорения резорбции кости [15]. Однако между обоими маркерами резорбции кости и уровнями секреции ПТГ, половых гормонов и цитокинов в ранние сроки после ОТП достоверных взаимосвязей не выявлено. Более того, у реципиентов и с высоким, и с нормальным уровнем ИЛ-6 в ранние сроки после операции выраженность резорбции (оцененная и по БКЛ, и по КТРКФ-5б) в среднем оказалась аналогичной. Кроме того, через 1 месяц после ОТП не выявлено связи между маркерами резорбции кости и выраженностью костных потерь. При том и при остеопорозе, и при остеопении, и при нормальной МПК отмечены высокие значения БКЛ. Таким образом, очевидно, что в ранние сроки после ОТП имеют место нарушения гормональной и клеточной регуляции костной резорбции, которые могли быть причиной ее ускорения и костных потерь. Следует отметить, что указанные нарушения выявлены нами через 1 месяц после ОТП на фоне неполного восстановления функционального состояния печеночного трансплантата и повышенных показателей цитолиза и холестаза [1,2]. Вместе с тем, показано, что у пациентов с циррозом печени наблюдается ускорение резорбции и повышение цитокинов (ОПГ, ИЛ-6 и ФНО-альфа), и их значения широко варьируют согласно этиологии и тяжести заболевания [15, 18]. Однако высокие значения ИЛ-6 и ФНО-альфа в раннем послеоперационном периоде могли быть связаны и с усиленным синтезом различных цитокинов (в том числе ИЛ-6 и ФНО-альфа), который наблюдается в процессе регенерации печени после трансплантации [21, 30]. Повышение ОПГ, выявляемое в раннем (до 14 суток) периоде после трансплантации печени, связывали с активацией иммунной системы реципиента донорским органом, однако, уровень ОПГ не зависел ни от функции трансплантата, ни от концентрации такролимуса [12]. Таким образом, высокие уровни ИЛ-6, как и БКЛ, наблюдаемые в ранние послеоперационные сроки, по-видимому, не у всех реципиентов отражают выраженность костной резорбции. Известно, что БКЛ являются продуктом деградации коллагена 1 типа и позволяют оценить темпы деградации относительно старой кости. Однако в литературе имеются данные о том, что БКЛ не являются высокоспецифичным маркером резорбции костной ткани, поскольку в патологических условиях их уровень может зависеть от метаболизма коллагена в других

органах и тканях. [11]. В частности, в процессе регенерации печени после трансплантации отмечен, как уже говорилось, усиленный синтез различных цитокинов, которые способствуют синтезу фибриллярных матричных коллагенов типа 1, 3, 5 и фибронектина [21,30]. С другой стороны, тепловая и холодная ишемия могут привести к дегенеративным изменениям клеток донорской печени и развитию миофибробласт-зависимому синтезу коллагена 1 типа [32]. Хирургическое вмешательство и отсроченное восстановление функции трансплантата могли явиться причинами выработки фибробластами печени неспецифических коллагенов, и в частности коллагена 1 типа, как это было отмечено у больных с хроническими заболеваниями печени [14, 31]. Следовательно, высокие и сверхвысокие значения БКЛ, отмеченные у реципиентов через 1 месяц после ОТП, могли объясняться не только резорбцией старой кости, но и выбросом в кровотоки неспецифических коллагенов, синтезированных непосредственно в печени. В этой связи в ранние сроки после ОТП для оценки костной резорбции представляется целесообразным в большей степени опираться на величины КТРКФ-5б, которая является более специфическим ее маркером, не связанным с метаболизмом коллагена в печени.

В поздние сроки (и через 12, и через 24 месяца) после ОТП отмечено достоверное снижение БКЛ, а также, в отличие от раннего срока, достоверная положительная корреляция между обоими маркерами резорбции (БКЛ и КТРКФ-5б). Кроме того, в эти сроки выявились в среднем умеренное повышение ПТГ (частота гиперпаратиреоза, однако, не превышала 20%) и нормализация половых гормонов и цитокинов (ФНО-альфа и ИЛ-6). Однако достоверных корреляций между маркерами резорбции кости и уровнем половых гормонов ни у женщин, ни у мужчин в отдаленные, как и в ранние, сроки после ОТП не выявлено. Вместе с тем, получены достоверные прямые корреляции между уровнями ПТГ и БКЛ, между маркерами резорбции (БКЛ и КТРКФ-5б) и ФНО-альфа, а также между обоими маркерами резорбции и ОПГ. Таким образом, в отдаленные сроки после пересадки печени наблюдается замедление костной резорбции, а ее выраженность тесно связана с уровнями ПТГ и цитокинов (ФНО-альфа и ОПГ). В свою очередь, выраженность костных потерь (МПК поясничных позвонков) у женщин в отдаленные сроки после ОТП непосредственно зависит (обратная корреляция) от выраженности костной резорбции (БКЛ), и от уровня секреции эндогенного эстрадиола (прямая корреляция). Кроме того, у реципиентов с остеопорозом в сроки более 24 месяцев после ОТП КТРКФ-5б достоверно выше, чем у реципиентов с нормальной МПК. Через два года после трансплантации некоторые авторы наблюдали, наряду с повышением биохимических маркеров резорбции и формиро-

Таблица 3

Клиническая характеристика, минеральная плотность кости, гормональная регуляция и биохимические маркеры резорбции у мужчин и женщин в пре-и постменопаузе в различные сроки после ОТП

	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	женщины премено- пауза	женщины постмено- пауза	мужчины	женщины премено- пауза	женщины постмено- пауза	мужчины	женщины премено- пауза	женщины постмено- пауза	мужчины
Число реципиентов	11	13	10	15	16	16	16	16	15
Возраст (годы)	30.3±9.7	51.5±5.3*	36.4±12.1	35.5±9.8	52.9±5.1*	41.9±11.9	34.2±9.4	54.2±4.8*	43.7±10.8
Доза стероидов (гр)	1.49±1.1	1.03±0.5	1.04±0.5	3.39±2.2 n=8	3.99±2.4 n=8	4.19±3.4 n=5	6.67±2.6 n=6	5.27±2.8 n=6	8.44±3.1 n=5
МПК (L2—L4)	-1.67±1.3	-2.77±1.6*	-1.69±1.2	-0.64±1.1#	-1.92±0.9*#	-1.39±1.1	-0.41±1.2#	-1.70±1.1*#	-0.95±1.3
МПК (Neck)	-1.04±0.9	-1.68±1.6	-0.99±1.1	-0.68±0.9	-1.33±1.2	-1.27±1.1	-0.61±0.8	-1.30±1.1*	-1.16±1.3
Эстрадиол	26.6±15.9	10.5±6.9		137.6±129#	24.1±23.2*		110.3±75.8#	18.9±33.3*	
Тестостерон			4.45±2.4			6.86±2.96#			6.03±3.4
БКЛ	1.02±0.41	1.00±0.46	1.11±0.59	0.48±0.30#	0.55±0.42#	0.63±0.49#	0.42±0.27#	0.49±0.29#	0.50±0.46#
КТРКФ-5б	3.32±0.94	3.22±1.27	3.04±1.54	2.86±0.91	2.81±1.11	3.47±1.94	2.46±0.97#	2.87±0.95	2.89±1.18

* — различие достоверно ($p=0.05$) по сравнению с женщинами в состоянии пременопаузы

— различие достоверно ($p=0.05$) по сравнению с группой 1

вания кости, и повышение уровня ОПГ, который, однако, как и у пациентов с циррозом печени, не коррелировал с минеральной плотностью кости [13, 18]. Таким образом, уменьшение костных потерь, наблюдаемое в отдаленные сроки после ОТП, ассоциируется с появлением закономерных взаимосвязей между БКЛ и КТРКФ-5б, а также между маркерами резорбции и маркерами гормональной и клеточной регуляции костного метаболизма. Это, по-видимому, связано с восстановлением функционального состояния трансплантата и отсутствием побочных эффектов иммуносупрессивной терапии, подтверждаемых нормализацией биохимических показателей цитолиза и холестаза

ВЫВОДЫ

1. В ранние сроки после трансплантации КТРКФ-5б, в отличие от БКЛ, является наиболее специфическим маркером резорбции кости, поскольку ее активность не связана с метаболизмом коллагенов в печени.

2. Снижение уровня ИЛ-6 является прогностическим признаком отсутствия послеоперационных осложнений и предпосылкой к восстановлению метаболизма костной ткани.

3. Выраженность костной резорбции в отдаленные сроки после ОТП тесно связана с уровнями ПТГ и цитокинов (ФНО-альфа и ОПГ).

4. В отдаленные сроки после ОТП уменьшение костных потерь в поясничном отделе позвоночника у женщин в пременопаузе ассоциируется с замедлением костной резорбции (снижением уровня БКЛ и КТРКФ-5б) и с повышением эндогенной секреции эстрадиола.

SUMMARY

AIM: evaluate hormonal regulation of bone resorption after liver transplantation

Methods and results: bone densitometry of L2–L4 and neck of femur; the level in serum of blood some hormones (PTH, vitamin D3, estradiol, testosterone) and cytokines (OPG, IL-6, FNO-α) regulating osteoclastogenesis as well as comparative analyses of two bone resorption markers β-crosslaps and tartrate-resistant acid phosphatase type 5b (TRAP-5b) were fulfilled at different periods following orthotopic liver transplantation. At the early date after operation there were the bone density decrease of L2–L4, the lowering of vitamin D3, estradiol in women, testosterone in men and the elevation of cytokines and of resorption markers. In 1 and 2 years following liver transplantation there were revealed the rise of bone density, the level of PTH, estradiol, testosterone, which were associated with the lowering of IL-6, FNO-α and β-crosslaps while the level of vitamin D3 and TRAP-5b remained stable.

Conclusion: at the early date TRAP-5b was more specific marker of bone resorption which did not depend on collagen metabolism in liver. In 1 and 2 years following liver transplantation bone resorption was association with level of PTH, FNO-α and OPG.

Key words: orthotopic liver transplantation, osteoporosis, markers of bone resorption

ЛИТЕРАТУРА

- Бузулина В.П., Пронченко И.А., Ермакова И.П. и соавт. Биохимические маркеры ремоделирования костной ткани — предикторы динамики костных потерь после пересадки печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов — 2010 Т.12 — №3 — С.52–62.
- Бузулина В.П., Пронченко И.А., Ермакова И.П. и соавт. Клинические аспекты и биохимические маркеры формирования костной ткани в раннем периоде после пересадки печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов — 2012 — Т.14 — №1 — С.19–26.
- Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н. и соавт. Опыт 100 трансплантаций трупной печени в одном центре // Вестник трансплантологии и искусственных органов — 2012 — Т.14 — №1 — С.6–14.
- Ермакова И.П., Бузулина И.П., Пронченко И.А. и соавт. Влияние глюкокортикоидов на костный метаболизм после пересадки печени // Тез. докл. IV Всероссийский съезд трансплантологов 9–10 ноября. — 2008 — С.148.
- Atamaz F., Hepculer S., Akulidiz M., Karasu Z. Effects of alendronate on bone mineral density and bone metabolic markers in patients with liver transplantation // Osteoporosis Int. — 2006 — Vol. 17. — P. 942–949.

- Burra P. Sexual dysfunction after liver transplantation // Liver Transplantation. — 2009 — Vol.15 — P. S50–S56.
- Crawford B.A.L., Kam C., Pavlovic J., Byth K. et al. Zoledronic acid prevents bone loss after liver transplantation // Ann. Intern. Med. — 2006 — Vol. 144 — P.239–248.
- Compston J.E. Osteoporosis after liver transplantation // Liver Transpl. — 2003 — Vol. 9 — P. 321–330.
- Crosbie O.M., Freaney R., McKenna M.J., Curry M.P., Hegarty J.E. Predicting bone loss following orthotopic liver transplantation // Gut. — 1999 — Vol.44 — P. 430–434.
- Delmas P.D., Eastell R., Garnero P. et al. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis // Osteoporosis Int. — 2000 — Vol.11(Suppl.6) — P.2–17.
- Eastell R., Bauman M., Hoyle N.R., Wiczorek L., eds. Bone markers: biochemical and clinical perspectives // Roche. Martin Duntz. — 2001 — P.1–252.
- Fabrega E., Orive A., Garcia-Unzueta M., Amado J.A. et al. 2006 // Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand system in the early postoperative period of liver transplantation // Clin Transplant. — 2006 — Vol. 20(3) — P. 383–388.
- Fahrleitner A., Prenner G., Kniepeiss D., Iberer F. et al. Serum osteoprotegerin levels in patients after liver transplantation and correlation to bone turnover, bone mineral density and fracture status // Wien Klin Wochenschr. — 2002 — Vol.114(15–16) — P.717–724.
- Floreani A., Mega A., Tizian L., Burra P. et al. Bone metabolism and gonad function in male patients undergoing liver transplantation: a two-year longitudinal study // Osteoporosis Int. — 2001 — Vol.12 — P.749–754.
- Goral V., Simsek M., Mete N. Hepatic osteodystrophy and liver cirrhosis // World J. Gastroenterol. — 2010 — Vol.16(13) — P.1639–1643.
- Giannini S., Nobile M., Ciuffreda M., Iemmolo R.M. et al. Long-term persistence of low bone density in orthotopic liver transplantation // Osteoporosis Int. — 2000 — Vol. 11 — P.417–424.
- Guanabens N., Pares A., Alvarez L., Martinez de Osaba M.J. et al. Collagen-related markers of bone turnover reflect the severity of liver fibrosis in patients with primary biliary cirrhosis // J Bone Miner Res. — 1998 — Vol.13(4) — P.731–738.
- Guanabens N., Enjuanes A., Alvarez L., Peris P. et al. High osteoprotegerin serum levels in primary biliary cirrhosis are associated with disease severity but not with the mRNA gene expression in liver tissue // J Bone Miner Metab. — 2009 — Vol.27(3) — P.347–354.
- Guichelaar M.M.J., Malinchoc M., Sibonga J., Clarke B.L., Hay J.E. Immunosuppressive and postoperative effects of orthotopic liver transplantation on bone metabolism // Liver Transpl. — 2004 — Vol.10 — P. 638–647.
- Guichelaar M.J., Schmoll J., Malinchoc M., Hay J.E. Fracture and avascular necrosis before and after orthotopic liver transplantation: long-term follow-up and predictive factors // Hepatology. 2007; V.46. P.1198–1207.
- Han Y.P., Zhou L., Wang J. et al. Essential role of matrix metalloproteinases in interleukin 1-induced myofibroblastic activation of hepatic stellate cell collagen // J. Biol. Chem. — 2004 — Vol.279 — P.4820–4828.
- Irie S., Hayashida N., Shinkawa T., Taira Y. et al. Suitability of tartrate-resistant acid phosphatase type 5b as a screening marker for bone mineral density in community-dwelling elder individuals // Tohoku J. Exp. Med. — 2011 — Vol. 224 — P. 105–110.
- Jabiry-Zieniewicz Z., Kaminski P., Bobrowska K., Pietrzak B. et al. Menstrual function in female liver transplant recipients of reproductive age // Transplant Proc. — 2009 — Vol. 41 — P. 1735–1739.
- Kulak C.A., Borba V.Z., Kulak J., Campos D.J., Shane E. Post-transplantation osteoporosis // Arg. Bras. Endocrinol. Metab. — 2010 — Vol.52(2) — P. 143–149.
- McCormick R.K. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility // Alternative Medicine Review. — 2007 — Vol.12 — P.113–145.
- Misof B.M., Bodingbauer M., Roschger P., Weczerle T. Short-term effects of high dose zoledronic acid treatment on bone mineralization density distribution after orthotopic liver transplantation // Calcif Tissue Int. — 2008 — Vol.83 — P. 167–175.
- Monegal A., Navasa M., Guanabens N., Peris P. et al. Bone disease after liver transplantation: a long-term prospective study of bone mass changes, hormonal disorders and histomorphometric characteristics // Osteoporosis Int. — 2001 — Vol.12 — P. 484–492.
- Monegal A., Navasa M., Guanabens N., Peris P. et al. Bone mass and mineral metabolism in liver transplant patients treated with FK506 or cyclosporine A // Calcif Tissue Int. — 2001 — Vol. 68 — P. 83–86.
- Seehofer D., Steinmueller T., Graef K.-J., Rayes N. et al. Pituitary function test and endocrine status in patient with cirrhosis of liver before and after hepatic transplantation // Annals of transplantation. — 2002 — Vol. 7 — P. 32–37.
- Taki-Eldin A., Zhou L., Xie H.-Y., Zheng S.-S. Liver regeneration after liver transplantation // Eur Surg Res. — 2012 — Vol. 48 — P. 139–153.
- Theret N., Lehti K., Musso O., Clement B. MMP2 activation by collagen 1 and concanavalin A in cultured human hepatic stellate cells // Hepatology — 1999 — Vol.30(2) — P.462–468.
- Tzimas G.N., Afshar M., Emadali A., Chevet E. et al. Correlation of cell necrosis and tissue calcification with ischemia/reperfusion injury after liver transplantation // Transplantation Proceedings. — 2004 — Vol. 36 — P. 1766–1768.