

ИНФОРМАЦИОННЫЙ АЛГОРИТМ НЕИНВАЗИВНОЙ ОЦЕНКИ ОСТЕОРЕЗОРБТИВНОГО ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

**А.В. Сафроненко, В.А. Косенко*, А.А. Демидова, И.А. Демидов,
Н.В. Сухорукова, Е.В. Ганцгорн**

*ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России
344022, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29*

В работе на 45-ти больных язвенным колитом установлено, что в качестве неинвазивного контроля развития стероидного остеопороза при системном применении глюкокортикоидов эффективным является исследование активности маркера остеорезорбции катепсина К иммуноферментным методом в десневой жидкости. При концентрации катепсина К в десневой жидкости более 3,7 пмоль/л при системном приеме глюкокортикоидов риск развития остеопороза у больных язвенным колитом повышался в 7,9 раза с диагностической точностью 82,6% ($p=0,002$). В результате исследования предложен эффективный способ неинвазивной оценки остеорезорбтивного побочного действия глюкокортикоидов при аутоиммунных заболеваниях.

Ключевые слова: остеопороз, катепсин К, язвенный колит, глюкокортикоиды

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Сафроненко А.В., Косенко В.А., Демидова А.А., Демидов И.А., Сухорукова Н.В., Ганцгорн Е.В. Информационный алгоритм неинвазивной оценки остеорезорбтивного побочного действия глюкокортикоидов у больных язвенным колитом. *Биомедицина*. 2020;16(3):92–96. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-92-96>

Поступила 17.06.2020

Принята после доработки 10.07.2020

Опубликована 10.09.2020

INFORMATION ALGORITHM FOR NON-INVASIVE EVALUATION OF OSTEORESORBABLE SIDE EFFECTS OF GLUCOCORTICOSTEROIDS IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS

**Andrey V. Safronenko, Vladislav A. Kosenko*, Aleksandra A. Demidova, Igor A. Demidov,
Natalya V. Sukhorukova, Elena V. Gantsgorn**

*Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, Nakhichevansky lane, 29*

A study involving 45 patients with ulcerative colitis found that the activity of the Cathepsin K bone resorption marker measured by an enzyme-linked immunosorbent assay in gingival fluid could be used as a non-invasive control over the development of steroid osteoporosis caused by systemic use of glucocorticoids. When the concentration of Cathepsin K in the gingival fluid exceeded 3.7 pmol/L, the risk of developing osteoporosis in patients with ulcerative colitis taking glucocorticosteroids on a regular basis

increased by 7.9 times with a diagnostic accuracy of 82.6% ($p=0.002$). As a result of the study, an effective method for non-invasive assessment of osteoresorbable side effects of glucocorticosteroids in autoimmune diseases was proposed.

Keywords: osteoporosis, cathepsin K, ulcerative colitis, glucocorticosteroids

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Safronenko A.V., Kosenko V.A., Demidova A.A., Demidov I.A., Sukhorukova N.V., Gantsgorn E.V. Information Algorithm for Non-Invasive Evaluation of Osteoresorbable Side Effects of Glucocorticosteroids in Patients with Ulcerative Colitis. *Journal Biomed.* 2020;16(3):92–96. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-92-96>

Submitted 17.06.2020

Revised 10.07.2020

Published 10.09.2020

Введение

Побочные эффекты, связанные с приемом системно действующих глюкокортикостероидов, включают развитие стероид-ассоциированного остеопороза [3]. У пациентов с язвенным колитом (ЯК) частота его развития составляет 50% [4]. Диагностика остеопороза в большинстве своем основана на анализе результатов рентгенологического исследования. Однако при стероидном остеопорозе страдает не столько плотность, сколько в большей степени качество костной ткани, следствием чего является развитие переломов даже при показаниях денситометрии, соответствующих остеопении и потере костной массы всего на 10–12% [2]. В связи с этим для контроля остеорезорбтивного побочного действия глюкокортикостероидов клиницисты нуждаются в информативной неинвазивной лабораторной поддержке, основанной на динамической оценке содержания биомаркеров в легко доступных для получения биологических средах.

Целью работы явилась разработка информационного и методического алгоритма по неинвазивному контролю стероидного остеопороза у больных язвенным колитом при системном применении глюкокортикостероидов и формировании гормональной зависимости.

Материалы и методы

В исследование включены 45 пациентов (27 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 16-ти до 45-ти лет. Критерии включения: верифицированный диагноз ЯК с длительностью заболевания не менее 1-го года и наличием не менее 2-х рецидивов в анамнезе; левосторонний и тотальный язвенный колит, средняя степень активности, показания для системного введения глюкокортикостероидов (отсутствие эффекта от 5-аминосалициловой кислоты через две недели применения), информированное согласие пациента. В десневой жидкости и сыворотке крови у 45-ти больных с ЯК при рецидиве заболевания до и после курсов глюкокортикостероидов (1–3 курса), а также в подгруппе у 18-ти пациентов со стероидозависимостью определяли остеомаркер катепсин К, характеризующий активность остеорезорбции. Лабораторные величины сопоставляли с денситметрической плотностью при рентгенологическом исследовании альвеолярного отростка челюстей.

При сборе десневой жидкости бумажный эндодонтический штифт размером № 25 с помощью пинцета помещали в зубодесневую борозду на 10 сек для сорбирования экссудата. Объем экссудата определяли по разнице веса бумажного штифта до и после сорбции экссудата. Далее бумажный штифт помещали в пробирку с фосфатно-солевым буфером и путем центрифугирования вы-

деляли сорбент. Полученный супернатант переливали в полипропиленовые пробирки с последующим хранением при температуре -80°C до 2-х мес. Перед иммунологическим исследованием пробирки выдерживали при комнатной температуре и разводили в 200 раз. Катепсин К в десневой жидкости и сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. При этом использовали набор реактивов Cathepsin K (CTSK) (Human) ELISA Kit («Cloud-Clone Corp.», США). Иммунологические исследования проводили на иммуноферментном анализаторе Lisa («Эрба Лахема с.р.о.», Чехия).

Статистический анализ результатов осуществляли с применением программы Statistica 12.0 (StatSoft, США).

Результаты и их обсуждение

Большим ЯК системные глюкокортикостероиды при ремиссии заболевания в режиме перорального приема (1-й курс) назначены в дозе, эквивалентной 60 мг преднизолона, с постепенным снижением до 5 мг и последующей отменой. При снижении дозы глюкокортикостероидов, эквивалентной 30–40 мг преднизолона, дополнительно вводили месалазин с последующим переходом на поддерживающую терапию месалазином. Рецидив среднетяжелого ЯК, возникший на фоне поддерживающей терапии месалазином, у части больных требовал повторного назначения глюкокортикостероидов (2-й курс) в сочетании с азатиоприном/6-меркаптопурин. Дальнейшая тактика аналогична лечению при первой атаке. При рецидиве, возникшем на фоне поддерживающей терапии тиопуринами, повторно назначали глюкокортикостероиды (3-й курс). 18 пациентов, у которых при снижении дозы преднизолона ниже 10 мг/сут возникало обострение заболевания, или при рецидиве заболевания в течение 3-х мес. после прекращения гормонального лечения составляли стероидозависимую группу больных.

Исходно у пациентов при ремиссии заболевания до 1-го курса катепсин К в сыворотке крови составил $4,9 \pm 0,7$ пмоль/л, а в десневой жидкости — $1,8 \pm 0,2$ пмоль/л. После 2-го курса статистически значимое различие изучаемого лабораторного показателя в сыворотке крови отсутствовало ($5,3 \pm 0,6$ пмоль/л), а в десневой жидкости достоверно повышалось до $2,6 \pm 0,3$ пмоль/л. После 3-го курса глюкокортикостероидов возрастание концентрации катепсина К имело место как в сыворотке крови (до $6,3 \pm 0,4$ пмоль/л), так и в десневой жидкости ($3,0 \pm 0,3$ пмоль/л).

Основным поставщиком катепсина К являются активированные остеокласты. Катепсин К могут секретировать также активированные макрофаги, поскольку остеокласты постоянно образуются из макрофагов с последующим приобретением функции разрушения костного матрикса путем образования лакун. Остеокласты способны закислить среду в прелакунарном пространстве до pH 3 всего за несколько минут [5]. Закисление среды в резорбционной лакуне способствует растворению кристаллов гидроксиапатита и протеолизу белков матрикса кости. После закисления среды в резорбционную лакуну остеокластами экскретируются протеолитические ферменты. Одним из ферментов, играющих ключевую роль в резорбции костной ткани, и является катепсин К [1]. Катепсин К вызывает деградацию коллагеновой составляющей кости. Активность катепсина К очень высокая и превосходит активность катепсина L и панкреатической эластазы. В результате действия катепсина К из зоны резорбции кости в кровоток попадают большие фрагменты коллагена. Секретия и синтез катепсина К остеокластами стимулируются воспалительными цитокинами, которые высвобождаются из зоны воспаления и тканевого повреждения [5].

При формировании стероидной зависимости выявлены повышенные концен-

трации катепсина К в сыворотке крови ($6,4 \pm 0,5$ пмоль/л) и в десневой жидкости ($4,1 \pm 0,5$ пмоль/л).

У пациентов с ЯК корреляция между концентрацией катепсина К в десневой жидкости и денситометрической плотностью альвеолярного отростка нижней челюсти при томографии (коэффициент корреляции 0,84, $p=0,002$) была более выраженной по сравнению с теснотой связи содержания катепсина К в сыворотке крови и плотностью костной ткани поясничных позвонков L1–L4 (коэффициент корреляции 0,64, $p=0,008$).

Проведенный ROC-анализ позволил выявить, что при концентрации катепсина К в десневой жидкости более $3,7$ пмоль/л в условиях системного приема глюкокортикостероидов риск развития остеопороза повышался в 7,9 раза с диагностической точностью 82,6% ($p=0,002$).

Итак, в исследовании был разработан методический и информационный алгоритм

по неинвазивному контролю стероидного остеопороза у больных язвенным колитом при системном применении глюкокортикостероидов путем оценки концентрации катепсина К в десневой жидкости и сопоставления индивидуальных значений концентрации с критической величиной лабораторного показателя.

Выводы

1. Для контроля стероидного остеопороза у больных язвенным колитом при системном применении глюкокортикостероидов необходимо исследовать активность катепсина К иммуноферментным методом в десневой жидкости.

2. При концентрации катепсина К в десневой жидкости более $3,7$ пмоль/л в условиях системного приема глюкокортикостероидов риск развития остеопороза у больных ЯК повышался в 7,9 раза с диагностической точностью 82,6% ($p=0,002$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Любимова Н.В., Кушлинский Н.Е. Биохимические маркеры метастазирования в кости. *Успехи молекулярной онкологии*. 2015;1:61–75. [Lyubimova N.V., Kushlinskiy N.E. Biohimicheskie markery metastazirovaniya v kosti [Biochemical markers of bone metastasis]. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* [Advances in Molecular Oncology]. 2015;1:61–75. (In Russian)].
2. Салухов В.В., Ковалевская Е.А. Глюкокортикоид-индуцированный остеопороз: современное состояние проблемы. *Российский биомедицинский журнал*. 2018;4(19):832–860. [Saluhov V.V., Kovalevskaya E.A. Glyukortikoid-inducirovanny osteoporoz: sovremennoe sostoyaniye problem [Glucorticoid-induced osteoporosis: the current state of the problem]. *Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal* [Russian Biomedical Journal]. 2018;4(19):832–860. (In Russian)].
3. Танковский В.Э., Иванов А.Н. Неспецифический язвенный колит. *Российский общенациональный офтальмологический форум*. 2018;2:591–593. [Tankovskiy V.E., Ivanov A.N. Nespecificheskiy yazvennyy kolit [Nonspecific ulcerative colitis]. *Rossiyskiy obshchenatsional'nyy oftalmologicheskiy forum* [Russian National Ophthalmological Forum]. 2018;2:591–593. (In Russian)].
4. Халиф И.Л., Шапина М.В., Головенко А.О., Белоусова Е.А., Чашкова Е.Ю., Лахин А.В. и др. Течение хронических воспалительных заболеваний кишечника и методы их лечения, применяемые в Российской Федерации (результаты многоцентрового популяционного одномоментного наблюдательного исследования). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2018;3(28):54–62. [Halif I.L., Shapina M.V., Golovenko A.O., Belousova E.A., Chashkova E.Yu., Lahin A.V., et al. Tehenie hronicheskikh vospalitel'nykh zabolevaniy kishechnika i metody ih lecheniya, primenyemye v Rossiyskoy Federatsii (rezul'taty mnogocentrovogo populyatsionnogo odnomomentnogo nablyudatel'nogo issledovaniya) [The course of chronic inflammatory bowel diseases and the methods of their treatment used in the Russian Federation (results of a multicenter population simultaneous observational study)]. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]. 2018;3(28):54–62. (In Russian)].
5. Zupan J., Jeras M., Marc J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts. *Biochem. Med.* 2013;23(1):43–63.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сафроненко Андрей Владимирович, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Косенко Владислав Анатольевич*, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: wakos@mail.ru

Демидова Александра Александровна, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: alald@inbox.ru

Демидов Игорь Анатольевич, к.м.н., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: demidova-66@yandex.ru

Сухорукова Наталья Владимировна, к.м.н., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: natasuh77@mail.ru

Ганцгорт Елена Владимировна, к.м.н., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Andrey V. Safronenko, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Vladislav A. Kosenko*, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: wakos@mail.ru

Aleksandra A. Demidova, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: alald@inbox.ru

Igor A. Demidov, Cand. Sci. (Med.), Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: demidova-66@yandex.ru

Natalya V. Sukhorukova, Cand. Sci. (Med.), Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: natasuh77@mail.ru

Elena V. Gantsgorn, Cand. Sci. (Med.), Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author