

УДК 616.71–007.234–036.11+615.357

Влияние паратиреоидного гормона на метаболические процессы при тяжелом глюкокортикоидном остеопорозе

С.Е. Золотухин, Г.С. Аусси, Н.Н. Шпаченко, Ю.Я. Крюк, Д.В. Пырко

НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького. Украина

The article contains data on the modelling of experimental glucocorticoid osteoporosis. Severe, moderate and mild osteoporoses were diagnosed by X-ray criteria. In order to assess degrees of metabolic disturbances in osteoporosis, 11 biochemical indices were reduced to a single scale of values with reference to the control level and studied. Teriparatide, injected subcutaneously at a dose of 5 mcg/kg, was used for the treatment. It was revealed, that Teriparatide inhibited the pathological process, which had already developed, and produced a restorative effect in osteoporosis. This kind of its action, synchronous with withdrawal of Prednisolon, reduced metabolic processes, eventually increasing the life-span of the rats with osteoporosis. Taking into account a positive influence of Teriparatide on metabolism, an effect of the stimulation of osteoblast activity in the drug action mechanism may be assumed. Hence, Teriparatide in glucocorticoid osteoporosis had an expressed therapeutic effect manifested by a reduction of metabolic disturbances and an increase in the life-span of the rats.

Введение

Паратиреоидный гормон и его фармакологический аналог терипаратид («Форстео»), выпускаемый французской фирмой «Eli Lilly», являются основными регуляторами метаболизма кальция и фосфора в костной ткани и почках [1, 7, 11]. Физиологическое действие паратгормона заключается в стимуляции формирования костной ткани посредством прямого влияния на остеобласты [9, 10]. Опосредованно он увеличивает кишечную абсорбцию и канальцевую реабсорбцию Ca^{2+} , а также экскрецию фосфатов почками [2, 3]. Биологическое действие паратгормона осуществляется за счет связывания со специфическими рецепторами на поверхности клетки [9, 10]. В больших дозах паратиреоидный гормон оказывает катаболический

У роботі подано дані про моделювання експериментального глюкокортикоїдного остеопорозу. За рентгенологічними критеріями довжини сегмента хребта діагностували тяжкий, середньої тяжкості і легкий остеопороз. Для оцінки ступеня порушень метаболізму при остеопорозі вивчено 11 біохімічних показників, зведених до єдиної шкали значень відносно рівня контролю. Для лікування використовували терипаратид, який вводили підшкірно в дозі 5 мкг/кг. Встановлено, що терипаратид гальмує розвинений патологічний процес, чинить відновну дію при остеопорозі. Така його дія, синхронна з відміною преднізолону, зменшує обмінні порушення, що збільшує тривалість життя щурів з остеопорозом. Враховуючи позитивний вплив терипаратиду на обмін речовин, можна припустити в механізмі дії препарату ефект стимуляції активності остеобластів. Таким чином, терипаратид при глюкокортикоїдному остеопорозі чинить виражену лікувальну дію, що виявляється в зменшенні обмінних порушень і в збільшенні тривалості життя щурів.

эффект на кость [4, 5, 11].

Защитное действие терипаратида в отношении остеопороза изучали у женщин в постменопаузальном периоде, у мужчин с переломом шейки бедренной кости, при переломах поясничных позвонков [6–8].

Эффективность терипаратида при глюкокортикоидном остеопорозе изучена недостаточно, особенно в связи с его влиянием на метаболические процессы, развивающиеся при тяжелом глюкокортикоидном остеопорозе.

Цель исследования: оценка лечебной эффективности терипаратида путем изучения продолжительности жизни крыс и выраженности расстройств метаболизма, развивающихся при тяжелом глюкокортикоидном остеопорозе.

Материал и методы

Глюкокортикоидный остеопороз моделировали на 118 белых беспородных крысах самцах путем ежедневного внутримышечного введения метилпреднизолона (фирма «Pfizer», США) в дозе 3 мг/кг по методике, описанной нами [2, 5]. По рентгенологическим критериям длины сегмента позвоночника, также описанным в указанных работах, диагностировали тяжелый, средней тяжести и легкий остеопороз. После диагностики нужной степени тяжести глюкокортикоидного остеопороза прекращали введение преднизолона. Для лечения крыс использовали терипаратид («Форстео»), вводя его подкожно в течение 3 дней. Препарат вводили в область бедра, в участок, предварительно освобожденный от шерсти. Доза препарата составила 5 мкг/кг (0,1 мл разбавленного официального раствора). Доза 5 мкг/кг, вводимая крысам, по лечебному эффекту соответствовала дозе 0,45 мкг/кг, вводимой человеку. Эти данные о соответствии доз подтверждаются литературными источниками [8, 10]. Используемая в лечении остеопороза доза терипаратида являлась средней терапевтической дозой [8].

При изучении продолжительности жизни крыс с остеопорозом общий период наблюдения за животными составил 1 месяц. В данном исследовании группой контроля служили крысы, которым моделировали остеопороз трех степеней тяжести, по 10 крыс в каждой подгруппе, но терипаратид не вводили. Основная группа крыс, так же как и контрольная, состояла из 3 подгрупп животных (по 10 крыс в каждой), различающихся по тяжести остеопороза. Крысам основной группы 1 раз в день 3 дня подряд вводили терипаратид в средней терапевтической дозе.

При выполнении биохимических методов исследования использованы 3 группы крыс. Контрольную группу крыс №1 (интактные животные), n=10, использовали для определения исходного уровня биохимических показателей в норме. Контрольная группа крыс №2 — это группа животных с остеопорозом, но без лечения. Крыс этой группы, в зависимости от тяжести остеопороза подразделяли на подгруппы (n=8 в каждой). Основная группа крыс, также в зависимости от тяжести моделируемого остеопороза, разделенная на 3 подгруппы (n=8 в каждой), отличалась от контрольной группы №2 тем, что их лечили терипаратидом. В этой группе препарат вводили 1 раз в день подкожно в дозе 5 мкг/кг в течение 3 дней. На 4-й день после начала введения препарата всех крыс основной и контрольной групп №2 под гексеналовым наркозом выводили из эксперимента путем декапитации, а

кровь брали на исследование.

Из совокупности параметров биохимического статуса для оценки гиперметаболизма нами выбраны 11 наиболее информативных и простых показателей. Эти показатели, на наш взгляд, отражали разные виды нарушения метаболизма. Такими показателями являлись: концентрация в сыворотке крови общего белка (ОБ), креатинина (Кр), мочевины (М), мочевой кислоты (МК), глюкозы (Г), холестерина (Хл), триглицеридов (Тг), малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгат (ДК), билирубина (Б) и уровень молекул средней массы (МСМ). Все биохимические показатели определяли с помощью наборов жидких реагентов, готовых к употреблению. Содержание веществ измеряли с помощью биохимического анализатора «Kone Progress Plus» (Финляндия). Уровень маркера эндогенной интоксикации МСМ определяли скрининговым методом по Н.И. Габриелян и соавт. (1989). Детекцию МСМ в супернатанте проводили на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 254 нм.

Для оценки тяжести расстройств метаболизма при остеопорозе нами все 11 биохимических показателей были приведены к единой шкале значений относительно уровня контроля. Для такой унификации мы использовали формулу, рассчитывающую величину каждого биохимического показателя как относительного коэффициента «Тi»:

$$O_i = \frac{|a_i - \bar{b}_i|}{\bar{b}_i} \cdot 100\% ,$$

где: a_i — величина одного из одиннадцати упомянутых биохимических показателей при остеопорозе; \bar{b}_i — среднее значение одноименного биохимического показателя, определяемого в контрольной группе животных. В числителе представлена разность значений биохимических показателей, взятая по абсолютной величине.

С учетом того, что величины относительных коэффициентов «Тi» отражали степень выраженности нарушений метаболизма, эти коэффициенты мы назвали «дисметаболическими».

Все полученные данные обработаны на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ «Statistica».

Результаты и их обсуждение

Продолжительность жизни крыс в контроле изучали после определения степени тяжести остеопороза, а в основной группе, помимо определения тяжести, — после первого введения крысам терипаратида. Результаты исследования представлены на рис. 1.

Таблица. Изменение отдельных биохимических показателей в связи с лечением терипаратидом при остеопорозе 3 степеней тяжести (M±m)

Биохимические показатели, ед.	Контроль (n=10)	Тяжесть остеопороза					
		Тяжелый тип		Средней тяжести		Легкий тип	
		без лечения (n=6)	после лечения (n=8)	без лечения (n=8)	после лечения (n=8)	без лечения (n=8)	после лечения (n=8)
Общий белок, г/л	66,8±2,8	55,4±4,7	58,4±2,9	58,3±4,7	61,2±4,3	60,8±4,9	65,2±5,1
Креатинин, мкмоль/л	89,±6,1	152,8±4,5 ¹⁾	132,7±1,8 ¹⁾	120,4±10,5	101,5±8,7	116,4±5,2	92,7±4,9 ^{3,6)}
Мочевина, ммоль/л	7,2±0,42	16,7±1,1 ¹⁾	12,8±1,1 ¹⁾	11,8±1,5 ¹⁾	9,3±0,8	8,4±0,7 ³⁾	8,1±0,72 ³⁾
Мочевая кислота, ммоль/л	215,0±12,9	520,3±16,3 ¹⁾	412,6±12,5 ^{1,2)}	384,7±18,0 ¹⁾	305,3±14,3 ^{1,3,4)}	283,3±13,9 ^{1,3,4)}	257,3±12,5 ^{3,4)}
Глюкоза, ммоль/л	4,98±0,38	7,8±0,31 ¹⁾	4,9±0,22	5,9±0,38	5,8±0,21	4,8±0,41 ²⁾	5,2±0,23 ²⁾
Холестерин, ммоль/л	3,5±0,25	2,3±0,1 ¹⁾	3,3±0,11 ²⁾	3,0±0,19	3,5±0,22	3,9±0,2 ¹⁾	3,5±0,21
Триглицериды, ммоль/л	1,65±0,12	0,7±0,03 ¹⁾	0,9±0,02 ^{1,2)}	1,53±0,07 ³⁾	1,40±0,01 ³⁾	1,6±0,11 ³⁾	1,61±0,11 ³⁾
МДА, нм/мг	3,7±0,13	4,5±0,03 ¹⁾	3,9±0,18 ²⁾	5,0±0,3 ³⁾	3,7±0,11 ⁴⁾	3,8±0,08 ⁴⁾	3,7±0,12 ⁴⁾
ДК, Е/мг	0,76±0,06	1,6±0,06 ¹⁾	1,3±0,05 ^{1,2)}	1,3±0,2 ¹⁾	1,1±0,07 ¹⁾	1,1±0,03 ¹⁾	0,82±0,07 ^{3,6)}
Билирубин, ммоль/л	4,8±0,5	20,1±0,8 ¹⁾	13,7±0,5 ^{1,2)}	10,5±0,38 ^{1,3)}	8,1±0,42 ^{1,3,4)}	5,9±0,33 ^{3,4,5)}	4,5±0,23 ^{3,4,5,6)}
МСМ 254 нм, Е/мл	0,23±0,022	0,511±0,032 ¹⁾	0,412±0,021 ¹⁾	0,396±0,31 ¹⁾	0,291±0,03 ³⁾	0,322±0,022	0,250±0,024 ^{3,4,6)}

Примечание: 1) — обозначена достоверность различий по сравнению с контролем ($p < 0,05$); 2) — обозначена достоверность различий по сравнению с тяжелым типом до лечения ($p < 0,05$); 3) — обозначена достоверность различий по сравнению с тяжелым типом без лечения ($p < 0,05$); 4) — обозначена достоверность различий по сравнению с тяжелым типом после лечения ($p < 0,05$); 5) — обозначена достоверность различий по сравнению с остеопорозом средней тяжести без лечения ($p < 0,05$); 6) — обозначена достоверность различий по сравнению с остеопорозом средней тяжести после лечения ($p < 0,05$)

Как видно из рис. 1, продолжительность жизни крыс с остеопорозом различалась и в подгруппах (по тяжести процесса), и в группах (по лечению). Без лечения крысы с тяжелым остеопорозом жили $3,2 \pm 0,8$ суток, при остеопорозе средней тяжести — $8,9 \pm 1,2$ суток, при остеопорозе легкой степени — $16,3 \pm 1,5$ суток. Введение терипаратида в течение 3 суток приводило к увеличению продолжительности жизни крыс до $10,2 \pm 1,3$ суток при тяжелом остеопорозе, до $18,3 \pm 2,4$ суток — при остеопорозе средней тяжести и до $29,4 \pm 3,1$ суток при легком остеопорозе. Следует также отметить, что в последней подгруппе 5 крыс за период наблюдения не погибли (у них имела место выживаемость).

Полученные данные о продолжительности жизни крыс с глюкокортикоидным остеопорозом, которым с лечебной целью вводили терипаратид, свидетельствовали об эффективности используемого препарата и перспективе дальнейших исследований, направленных на уточнение механизма его действия. Результаты биохимического анализа крови у крыс основной и контрольных групп представлены в таблице.

Как видно из представленных данных, все биохимические показатели крови при сравнении между собой в подгруппах, различающихся по

тяжести остеопороза, после лечения изменялись в сторону восстановления ($p < 0,05$) или имели тенденцию к восстановлению своих первоначальных значений.

При тяжелом остеопорозе терипаратид в 2,3 раза снижал повышенный уровень билирубина ($p < 0,05$), на 58% уменьшал гипергликемию, на 50% снижал концентрацию МК ($p < 0,05$), на 40% — концентрацию ДК ($p < 0,05$), а также в несколько меньшей степени, на 17 и 13%, снижал показатели МДА ($p < 0,05$) и Тг ($p < 0,05$). В контрольной группе 2 крысы погибли до исследования крови.

При остеопорозе средней степени тяжести терипаратид уменьшал на 50% выраженность билирубинемии ($p < 0,05$), на 37% уменьшал показатели МК ($p < 0,05$), на 35% — МДА ($p < 0,05$) и на 8% — Тг ($p < 0,05$).

При остеопорозе легкой степени терипаратид снижал на 37% величину ДК ($p < 0,05$), на 31% — уровень МСМ ($p < 0,05$), на 29% — билирубина ($p < 0,05$), на 14% — МК ($p < 0,05$).

Указанные изменения биохимических показателей, безусловно, свидетельствовали об эффективности терипаратида при глюкокортикоидном остеопорозе и селективности его действия в отношении отдельных биохимических констант крови. На рис. 2 представлено изменение среднего пока-

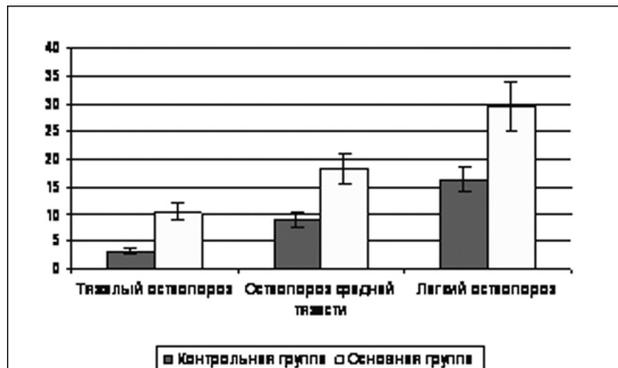


Рис. 1. Диаграмма продолжительности жизни крыс с остеопорозом 3 степеней тяжести в контроле (без лечения) и в основной группе, леченной терипаратидом, в сутках. Примечание: все данные при сравнении продолжительности жизни в группах и подгруппах статистически достоверны ($p < 0,05$)

зателя дисметаболизма «Тi» при лечении остеопороза терипаратидом.

Полученные данные о влиянии терипаратида на обменные нарушения, обусловленные развитием системной воспалительной реакции при глюкокортикоидном остеопорозе, свидетельствуют о снижении его выраженности. Более того, терипаратид не столько тормозит развившийся патологический процесс, сколько оказывает в отношении нарушенного обмена восстановительное действие. Такое его действие, синхронное с отменой преднизолонa, уменьшает обменные нарушения, что в конечном итоге увеличивает и продолжительность жизни крыс с остеопорозом. Учитывая положительное влияние терипаратида на обмен веществ и на снижение риска переломов, что описано в литературе, можно допустить в механизме действия препарата эффект стимуляции активности остеобластов. Во всяком случае, исключить непрямот стимулирующее действие терипаратида на остеобласты нельзя.

Заключение

Таким образом, терипаратид при глюкокортикоидном остеопорозе оказывает выраженное лечебное действие. Это действие проявляется в снижении степени расстройств метаболизма и в увеличении продолжительности жизни крыс.

Литература

1. Беневоленская Л.И. Проблема остеопороза в современной медицине / Л.И. Беневоленская // Вестник РАМН. — 2003. — № 7. — С. 15–18.
2. Буфистова А.В. Прогнозирование тяжести течения

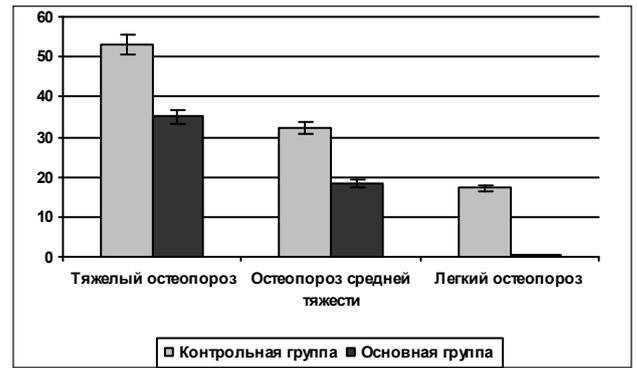


Рис. 2. Диаграмма изменения среднего показателя дисметаболизма «Тi» при лечении крыс терипаратидом (основная группа) при остеопорозе 3 степеней тяжести. Примечание: все средние показатели гиперметаболизма при сравнении в любых вариантах между собой различаются ($p < 0,05$)

- глюкокортикоидного остеопороза (экспериментальное исследование) / А.В. Буфистова, С.Е. Золотухин, В.П. Коробов [и др.] // Загальна патологія та патологічна фізіологія. — 2006. — Т. 1, № 2. — Додаток А. — С. 64–74.
3. Ермоленко В.Н. Фосфорно-кальциевый обмен и почки // Нефрология: Руководство для врачей / [под ред. И.Е. Тареевой]. — М.: Медицина, 2000. — С. 62–75.
 4. Кластер У. Нарушения минерального обмена и костного метаболизма: терапевтический справочник Вашингтонского университета / [под ред. М. Вудли и А. Уэлан]. — М.: Практика, 1995. — С. 502–601.
 5. Климовицкий В.Г. Влияние гормонов щитовидной и паращитовидной желез на механизмы резорбции и формирования костной ткани при глюкокортикоидном остеопорозе (экспериментальное исследование) / В.Г. Климовицкий, С.Е. Золотухин, А.В. Буфистова [и др.] // Український морфологічний альманах. — 2005. — Т. 3, № 1. — С. 30–34.
 6. Тесняк О.М. Медикаментозные методы лечения остеопороза / О.М. Тесняк // Ревматология. — 2005. — Т. 7, № 2. — С. 29–36.
 7. Benson C.T. Teriparatide has no effect on the calcium-mediated pharmacodynamics of digoxin / C.T. Benson, J.R. Voelker // J. Clinical Pharmacology Therapy. — 2003. — V. 73. — P. 87–94.
 8. Body J.J. A randomized double-blind trial compare the efficacy of teriparatide [recombinant human parathyroid hormone (1–34)] with alendronate in postmenopausal Women with osteoporosis / J.J. Body, G.A. Gaich, W.H. Scheele [et al.] // J. Clinical Endocrinology and Metabolism. — 2002. — V. 87. — P. 4528–4535.
 9. Juppner H. A G-protein-linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid-related peptide / H. Juppner, A.B. Abon-Samra, M. Freeman [et al.] // Science. — 1991. — V. 254. — P. 1024–1026.
 10. Mosekilde Li. The anabolic effects of parathyroid hormone on cortical bone mass, dimensions and strength-assessed in sexually mature, ovariectomized rat model / Li Mosekilde, C.C. Danielsen, C.H. Sogaard [et al.] // Bone. — 1995. — V. 16. — P. 223–230.
 11. Sambrook Ph. Osteoporosis / Ph. Sambrook, C. Cooper // Lancet. — 2006. — T. 367. — P. 2010–2018.