

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТЕОДЕСТРУКТИВНОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

М. В. Осиков^{1,2}✉, Е. А. Коробкин^{1,2}

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения России, Челябинск, Россия

² Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия

У пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) несколько чаще наблюдаются снижение минеральной плотности кости (МПК), остеопения и остеопороз. Риск остеопоротических переломов при ХЛЛ выше, чем у здоровых лиц того же возраста. Механизм снижения МПК при ХЛЛ может быть связан со снижением антиоксидантной защиты и окислительным стрессом (ОС). Целью работы было исследовать взаимосвязь между показателями окислительного стресса, антиоксидантной защиты и показателями остеопении у пациентов с ХЛЛ. Обследовали мужчин в возрасте 50–70 лет. Группу 1 составили 14 здоровых мужчин, группу 2 — 54 пациента с ХЛЛ без изменений МПК, группу 3 — 22 пациента с ХЛЛ с признаками остеопении. На денситометре оценивали МПК, T- и Z-критерии в поясничных позвонках, шейке бедренной кости (ШПОБК), проксимальном отделе бедренной кости во всех группах. На старте исследования в сыворотке во всех группах и в гомогенате костной ткани в группах 2 и 3 определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ); общий антиоксидантный статус (ОАС). Показатели остеоденситометрии, ПОЛ и ОАС в сыворотке крови во всех группах оценивали через 6 месяцев наблюдения. На старте исследования по данным остеоденситометрии у 29% больных с ХЛЛ выявлена остеопения в ШПОБК, а через 6 месяцев остеопению наблюдали во всех локализациях у 55% больных. На старте исследования у пациентов с ХЛЛ и остеопенией в сыворотке и костной ткани зафиксированы ОС и сниженный ОАС. Через 6 месяцев у пациентов с ХЛЛ и остеопенией выявлены признаки прогрессии ОС и снижения ОАС. У пациентов с ХЛЛ показатели ОС в сыворотке и костной ткани сопоставимы и могут быть использованы для прогноза возникновения остеопении через 6 месяцев.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, минеральная плотность кости, остеопения, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, редокс-статус

Вклад авторов: М. В. Осиков — разработка идеи, концепции и дизайна работы, редактирование и утверждение окончательного варианта рукописи; Е. А. Коробкин — проведение экспериментальной части работы, статистическая обработка данных, интерпретация полученных данных, написание и редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 10 апреля 2023 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Михаил Владимирович Осиков
ул. Воровского, д. 64, г. Челябинск, 454092, Россия; prof.osikov@yandex.ru

Статья получена: 11.10.2024 **Статья принята к печати:** 13.11.2024 **Опубликована онлайн:** 30.11.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.053

ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN PATHOGENESIS OF BONE DESTRUCTION SYNDROME IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Osikov MV^{1,2}✉, Korobkin EA^{1,2}

¹ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

Reduced bone mineral density (BMD), osteopenia, and osteoporosis are slightly more common in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). The risk of osteoporotic fractures in individuals with CLL is higher, than in healthy individuals of the same age. The mechanism underlying the CLL-associated BMD reduction can be related to decreased antioxidant protection and oxidative stress (OS). The study aimed to assess the relationship between oxidative stress, antioxidant protection, and osteopenia indicators in patients with CLL. Males aged 50–70 years were examined. Group 1 consisted of 14 healthy men, group 2 consisted of 54 patients with CLL having no BMD alterations, and group 3 consisted of 22 patients with CLL having signs of osteopenia. A densitometer was used to estimate BMD, T- and Z-scores of the lumbar vertebrae, proximal femoral neck (PFN), proximal femoral bone in all groups. At the beginning of the study, the levels of lipid peroxidation (LPO) products were determined in blood serum in all groups and bone tissue homogenate in groups 2 and 3; the total antioxidant status (TAS) was also determined. Bone densitometry indicators, serum LPO and TAS were assessed in all groups after 6 months of follow-up. At the beginning of the study osteopenia in PFN based on bone densitometry data was revealed in 29% of patients, while 6 months later osteopenia of all localizations was observed in 55% of patients. At the beginning of the study patients with CLL and osteopenia showed OS and reduced TAS in both blood serum and bone tissue. After 6 months patients with CLL and osteopenia showed signs of OS progression and TAS reduction. In patients with CLL, serum and bone tissue OS indicators are comparable and can be used to predict the onset of osteopenia within 6 months.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, bone mineral density, osteopenia, oxidative stress, lipid peroxidation, redox status

Author contribution: Osikov MV — developing the study idea, concept, and design, editing and approval of the final version of the manuscript; Korobkin EA — experimental phase of the study, statistical data processing, data interpretation, manuscript writing and editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the South Ural State Medical University (protocol No. 3 dated 10 April 2023). All subjects submitted the informed consent to participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Mikhail V. Osikov
Vorovsky, 64, Chelyabinsk, 454092, Russia; prof.osikov@yandex.ru

Received: 11.10.2024 **Accepted:** 13.11.2024 **Published online:** 30.11.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.053

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), относящийся к классу злокачественных лимфом, происходит из малых В-лимфоцитов. ХЛЛ разделяют на два клинических варианта: лимфоидная гиперплазия с клональным лимфоцитозом $\geq 5000/\text{мкл}$; гипертрофия лимфоидных органов без лимфоцитоза. Увеличение лимфоузлов, миндалин и селезенки — проявление лимфомы из малых В-лимфоцитов, которая вместе с ХЛЛ входит в одну нозологическую единицу [1]. Согласно эпидемиологической обстановке ежегодная заболеваемость ХЛЛ в Европе составляет около 5 случаев на 100 тыс., в России — около 3–4 на 100 тыс. [2]. ХЛЛ является второй по распространенности среди неходжкинских лимфом. При ХЛЛ риск снижения костной массы достигает 66%, что в дальнейшем приводит к переломам трубчатых костей и инвалидизации. Снижение минеральной плотности кости (МПК) приводит к развитию остеопороза у 16% и остеопении у 35% пациентов с ХЛЛ [3]. В динамике разрушение костного скелета при ХЛЛ начинается в проксимальных отделах бедренных костей, переходя на позвоночник и остальные кости; связано это, скорее всего, с локализацией опухолевых клеток в костном мозге тазовых костей и взаимодействием с клетками стромы [4].

Чрезмерная генерация активных форм кислорода (АФК) лейкоцитами, снижение функциональной активности антиоксидантной системы могут быть одними из ключевых механизмов потери костной массы при ХЛЛ [5]. Окислительный стресс при ХЛЛ обусловлен большим количеством митохондрий в опухолевых клетках, а их выживаемость связана с устойчивостью к окислительному стрессу и ассоциирована с высоким содержанием внутриклеточных антиоксидантов, которые связывают АФК и ингибируют апоптоз, что приводит к увеличению количества злокачественных лимфоцитов [6].

Процесс остеорезорбции связан с окислительным стрессом, в частности с воздействием АФК на молекулы белков, которое приводит к повреждению окружающих клеток в костной ткани. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), накапливающиеся в тканях, используют как маркеры окислительного стресса при многих онкологических заболеваниях, а их уровень в тканях свидетельствует о функциональной активности антиоксидантной системы при ХЛЛ [7]. Патогенез остеодеструктивного процесса при ХЛЛ остается неясным, а анализ исследований по данной теме показал, что снижение МПК является частью комплекса событий, затрагивающего иммунную систему, внутриклеточные сигнальные пути и редокс-статус, в связи с чем требуется дальнейшее изучение механизма потери костной массы для усовершенствования диагностики и терапии у таких пациентов.

Цель работы — исследовать взаимосвязь содержания продуктов перекисного окисления липидов, антиоксидантного статуса в сыворотке и в костной ткани и показателей минеральной плотности кости у больных с ХЛЛ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России и ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница». Критерии включения в исследование: только мужчины в возрасте 50–70 лет, подписавшие информированное согласие. Критерии исключения: все заболевания и состояния, при которых доказано может снижаться МПК, а именно терминальная

почечная недостаточность, генетические заболевания (муковисцидоз, синдром Элерса-Данло, несовершенный остеогенез, порфирия и др.), заболевания эндокринной системы (сахарный диабет 1-го и 2-го типов, заболевания щитовидной железы и др.), длительное лечение глюкокортикостероидами, заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, первичный билиарный цирроз, целиакия, мальабсорбция и др.), хирургические вмешательства на ЖКТ, наличие онкогематологических заболеваний, кроме хронического лимфолейкоза, ревматологические заболевания, наличие вируса иммунодефицита человека, невозможность самообслуживания.

Контрольную группу (группа 1) составили 14 условно здоровых мужчин, группу 2 — 54 пациента с ХЛЛ с нормальными показателями костной системы и группу 3 — 22 пациента с ХЛЛ со значимым снижением МПК. Все группы были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$): группа 1 — 59,0 [55,7; 63,5] лет, группа 2 — 62,0 [59,7; 65,3] лет, группа 3 — 65,0 [59,0; 66,1] лет. Диагноз ХЛЛ верифицировали с помощью проточного цитофлуориметра «BD FACSCanto II» (BD Biosciences; США) методом иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови следующей клональности: CD5⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁺, CD43⁺, CD200⁺, легких цепей иммуноглобулинов каппа или лямбда. Пациентов распределили по стадиям (классификация Binet): стадия А — 28 пациентов (37%), стадия В — 36 пациента (47%), стадия С — 12 пациентов (16%) [1]. Средний стаж заболевания составлял 10,5 месяцев, длительность исследования — 6 месяцев. На старте исследования оценивали показатели МПК, Т- и Z-критериев в поясничном отделе позвоночника (ПОП), шейке проксимального отдела бедренной кости (ШПОБК), проксимального отдела бедренной кости (ПОБК) на остеоденситометре «DEXXUM 3» (OsteoSys Co; Южная Корея). 10-летний риск перелома костей рассчитывали с помощью международного общепринятого инструмента оценки риска переломов Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) [8]. Всем пациентам с ХЛЛ проводили трепанобиопсию задней верхней ости подвздошной кости для подтверждения диагноза. Биоптат костной ткани гомогенизировали в течение 3 мин при температуре 4 °С (1 : 10) с добавлением 0,9%-го раствора натрия хлорида. Содержание продуктов ПОЛ исследовали в сыворотке во всех группах и в гомогенате костной ткани у пациентов с ХЛЛ экстракционно-спектрофотометрическим методом с использованием спектрофотометра «СФ-56» («ЛОМО-Спектр»; Россия) [9]. Определяли оптическую плотность продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта против соответствующего контроля при 220 нм (содержание продуктов с изолированными двойными связями), 232 нм, 278 нм, 400 нм. Результаты выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.): E232/E220 — относительное содержание диеновых конъюгатов (ДК), E278/E220 — кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ) и E400/E220 — оснований Шиффа (ШО). Общий антиоксидантный статус (ОАС) исследовали при помощи автоматического анализатора «Chem Well 2910 Combi» (Awereness Technology; США) тест-системой «В-7501 Общий антиоксидантный статус» («Вектор-Бест»; Россия), результат выражали как общее количество содержания антиоксидантов в ммоль/л.

На второй точке исследования, через 6 месяцев, во всех группах оценивали остеоденситометрические показатели, ПОЛ и ОАС в сыворотке. По результатам двух

точек исследования сгенерированы три математические модели, прогнозирующие изменения МПК на основании показателей ПОЛ, ОАС в костной ткани и сыворотке.

Результаты обрабатывали с использованием «IBM SPSS Statistics v. 23» (SPSS: An IBM Company; США), представляли в виде медианы и интерквартильного диапазона (Me [Q₁; Q₃]). Значимость различий оценивали при помощи критерия Манна–Уитни. Для сравнения медиан нескольких выборок использовали критерий Краскела–Уоллиса. Отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Линейный регрессионный анализ был использован для выявления статистической зависимости между показателями. Качество моделей оценивали по коэффициенту детерминации R², характеру распределения регрессионных остатков. Корреляционный анализ был выполнен с помощью коэффициента Спирмена (R).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На момент начала исследования у 29% пациентов с ХЛЛ (группа 3) выявлено значимое снижение в поясничном отделе позвоночника Т-критерия в 4,8 раза по медиане в сравнении с группой 1, Z-критерия — на 100% по медиане, МПК — на 10% по медиане; снижение в шейке проксимального отдела бедренной кости Т-критерия — в 8 раз по медиане в сравнении с группой 1, Z-критерия — в 3 раза по медиане, МПК — на 16% по медиане; в проксимальном отделе бедренной кости снижение Т-критерия произошло в 4,2 раза по медиане, Z-критерия — в 1,3 раза, МПК — на 13% по медиане (табл. 1). В соответствии с Национальными рекомендациями, снижение Т-критерия в ШПОБК в группе 3 может быть расценено как остеопения. По сравнению с группой 2 пациенты с ХЛЛ и остеопенией имели статистически значимое снижение показателей в ПОП: Т-критерий — в 6 раз по медиане, Z-критерий — на 100%, МПК — на 13,5%; показателей в ШПОБК: Т-критерий — в 7 раз по медиане, Z-критерий — в 2,1 раза, МПК — на 15% по медиане и

показателей в ПОБК: Т-критерий — в 8 раз по медиане, Z-критерий — в 4,5 раза по медиане, МПК — на 14% по медиане. Риск десятилетней вероятности перелома костей скелета, рассчитанный по алгоритму FRAX и включающий показатель МПК во всех группах, не имел значимых различий ($p > 0,05$). В группе 2 в динамике 6-месячного наблюдения значимые изменения зафиксированы в ПОП: Т-критерий снизился в 6,5 раз по медиане, МПК — на 9% по медиане и в ШПОБК: Т-критерий снизился в 4 раз по медиане. Однако остеоденситометрические показатели, в том числе и Т-критерий в ПОП и ШПОБК, соответствовали норме по параметрам, указанным в Национальных рекомендациях. Через 6 месяцев по сравнению с группой 2 у пациентов с ХЛЛ и остеопенией были значимо снижены в ПОП: Т-критерий — в 3,7 раза по медиане, Z-критерий — в 1,05 раза, МПК — на 2% по медиане; в ШПОБК: Т-критерий — в 1,5 раза по медиане, Z-критерий — в 1,7 раз, МПК — на 13% по медиане; в ПОБК: Т-критерий — в 22 раза по медиане, Z-критерий — в 1,2 раза, МПК — на 12% по медиане. При детальном анализе динамики показателей остеоденситометрии через 6 месяцев в группе 3 показатели МПК были снижены до показателей остеопении во всех локализациях исследования: в ПОП Т-критерий был снижен в 4 раза по медиане, Z-критерий — в 0,1 раз; в ШПОБК: Т-критерий — в 1,5 раза по медиане, Z-критерий — в 1,2 раз; в ПОБК: Т-критерий — в 2,1 раза по медиане, Z-критерий — в 9,3 раза.

Окислительный стресс в костной ткани у пациентов с ХЛЛ оценивали по содержанию окисленных остатков липидных молекул и общего антиоксидантного статуса. В группе 3 на старте исследования в гептановой фазе липидного экстракта статистически значимо увеличено содержание кетодиенов и сопряженных триенов (на 5,5% по медиане по сравнению с группой 2) и оснований Шиффа (в 24 раза по медиане) (табл. 2).

В изопропанольной фазе липидного экстракта значимо увеличивается уровень оснований Шиффа (на 41% по медиане по сравнению с группой 2). Не обнаружено у больных

Таблица 1. Показатели минеральной плотности кости (Me [Q₁; Q₃])

Показатели	Группа 1 (n = 14)	Группа 2		Группа 3	
		Старт (n = 54)	6 месяцев (n = 18)	Старт (n = 22)	6 месяцев (n = 12)
FRAX, %	28,50 [25,60; 30,00]	28,00 [26,80; 30,50]	27,10 [24,20; 28,70]	28,70 [23,00; 30,10]	28,55 [26,20; 31,10]
Т-кр. ПОП, SD	1,15 [0,70; 3,00]	1,30 [-0,10; 2,50]	0,20 [-0,50; 0,80] [§]	-0,30 [-0,60; 1,00] ^{**}	-1,10 [-1,80; -1,00] ^{**&}
Z-кр. ПОП, SD	1,30 [0,80; 3,00]	1,60 [0,40; 2,90]	1,20 [0,00; 2,10]	0,00 [-1,10; 1,40] ^{**}	-1,05 [-1,20; -0,55] ^{**&}
МПК ПОП, г/см ²	1,31 [1,06; 1,36]	1,37 [1,21; 1,52]	1,24 [1,16; -1,35] [§]	1,18 [1,06; 1,34] [#]	1,15 [1,11; 1,21] [#]
Т-кр. ШПОБК, SD	0,20 [-0,20; 0,50]	-0,20 [-0,60; 0,10]	-0,80 [-1,20; -0,40] [§]	-1,40 [-2,00; -1,10] ^{**}	-2,10 [-2,30; -1,60] ^{**&}
Z-кр. ШПОБК, SD	0,90 [0,10; 1,10]	0,70 [0,40; 1,00]	0,00 [-0,40; 0,50] [§]	-0,60 [-1,00; 0,00] ^{**}	-1,00 [-1,30; -0,60] ^{**&}
МПК ШПОБК, г/см ²	1,05 [0,98; 1,10]	1,04 [0,99; 1,08]	0,96 [0,91; 1,02] [§]	0,88 [0,80; 0,93] ^{**}	0,89 [0,85; 0,92] ^{**}
Т-кр. ПОБК, SD	0,25 [-0,10; 0,50]	-0,10 [-0,30; 0,30]	-0,60 [-0,80; 0,20] [§]	-0,80 [-2,00; -0,60] ^{**}	-1,65 [-2,50; -1,20] ^{**&}
Z-кр. ПОБК, SD	0,07 [0,88; 2,40]	0,70 [0,30; 1,10]	-0,10 [-0,30; 0,30] [§]	-0,20 [-1,30; -0,10] ^{**}	-1,85 [-2,20; -1,50] ^{**&}
МПК ПОБК, г/см ²	1,07 [0,88; 1,12]	1,09 [1,05; 1,14]	1,01 [0,98; 1,05] [§]	0,93 [0,83; 1,01] [#]	0,94 [0,92; 0,97] ^{**}

Примечание: * — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1 по критерию Краскела–Уоллиса, # — с группой 2; § — различия в группе 2; & — различия в группе 3.

Таблица 2. Показатели окислительного стресса костной ткани у больных с ХЛЛ (Me [Q₁; Q₃])

Показатели	Группа 2 (n = 54)	Группа 3 (n = 22)
ДК (г), е.и.о.	0,609 [0,602; 0,617]	0,612 [0,608; 0,626]
КД и СТ (г), е.и.о.	0,073 [0,056; 0,077]	0,077 [0,076; 0,081] [#]
ШО (г), е.и.о.	0,003 [0,001; 0,007]	0,076 [0,038; 0,078] [#]
ДК (и), е.и.о.	0,504 [0,485; 0,526]	0,506 [0,489; 0,507]
КД и СТ (и), е.и.о.	0,104 [0,097; 0,121]	0,100 [0,095; 0,109]
ШО (и), е.и.о.	0,061 [0,047; 0,065]	0,086 [0,084; 0,094] [#]
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 по критерию U Манна–Уитни; (г) — гептановая фаза липидного экстракта костной ткани; (и) — изопропанольная фаза.

с ХЛЛ и остеопенией в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта костной ткани значимых изменений концентрации диеновых конъюгатов, а также в изопропанольной фазе кетодиенов и сопряженных триенов. В костной ткани в группе 3 был значимо снижен общий антиоксидантный статус (на 30% по медиане в сравнении с группой 2).

Показатели окислительного стресса в сыворотке во всех группах представлены в табл. 3.

Установлено, что на старте исследования при сравнении с группой 2 у пациентов с ХЛЛ и снижением МПК в гептановой фазе липидного экстракта было выявлено значимое увеличение содержания диеновых конъюгатов на 14% по медиане, кетодиенов и сопряженных триенов — на 9% по медиане. В изопропанольной фазе в сыворотке определялось значимо высокое содержание диеновых конъюгатов (на 15% по медиане), кетодиенов и сопряженных триенов (на 13% по медиане), однако ШО были снижены на 20% по медиане. В группе 3 был значимо снижен общий антиоксидантный статус в сыворотке на старте исследования на 47% по медиане в сравнении с группой 2.

В группе 3 по сравнению с группой 2 через 6 месяцев наблюдения выявлено значимое увеличение в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки диеновых конъюгатов на 28%, кетодиенов и сопряженных триенов — на 29% и оснований Шиффа — на 31% по медиане, а в изопропанольной фазе диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов — на 29% и оснований Шиффа —

на 28% по медиане. ОАС в группе 3 через 6 месяцев наблюдения был значимо ниже на 74% по медиане в сравнении с группой 2.

На старте исследования в группе 3 при сравнении с группой 1 в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки зафиксированы значимо увеличенные концентрации диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов на 98%, оснований Шиффа на 95%, в изопропанольной фазе ДК, КД и СТ на 92%, ШО на 62% по медианам. В группе 3 ОАС был снижен на 53% по медиане в сравнении с группой 1.

Через 6 месяцев при сравнении с группой 1 в гептановой фазе липидного экстракта у пациентов с ХЛЛ и остеопенией значимо увеличивались концентрации сывороточных ДК на 98,7%, КД и СТ — на 99% и ШО — на 96% по медиане, в изопропанольной фазе ДК — на 96%, КД и СТ — на 98% и ШО — на 86% по медиане. ОАС сыворотки в группе 3 через 6 месяцев значимо снизился на 73% по сравнению с группой 1.

Через 6 месяцев в группе 3 в гептановой фазе значимо увеличивались концентрации ДК, КД и СТ в сыворотке крови на 40% по медиане, в изопропанольной фазе экстракта ДК — на 53% по медиане, КД и СТ — на 74,5% и ШО — на 64%. Также в группе 3 в динамике шестимесячного наблюдения снижался ОАС в сыворотке (на 43% по медиане).

При использовании математического моделирования с применением критерия Спирмена выявлена значимая отрицательная взаимосвязь изменений минеральной

Таблица 3. Показатели окислительного стресса в сыворотке (Me [Q₁; Q₃])

Показатели	Группа 1 (n = 14)	Группа 2		Группа 3	
		Старт (n = 54)	6 месяцев (n = 18)	Старт (n = 22)	6 месяцев (n = 12)
ДК (г), е.и.о.	0,014 [0,013; 0,014]	0,582 [0,561; 0,613] [*]	0,800 [0,776; 0,804] ^{*s}	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] ^{*s}	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] ^{*s}	0,611 [0,608; 0,624] ^{*#}	1,312 [1,286; 1,547] ^{*#&}
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] ^{*s}	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] ^{*s}	0,031 [0,026; 0,046] ^{*#}	0,087 [0,042; 0,105] ^{*#&}
ОАС, ммоль/л	1,97 [1,89; 2,27]	1,73 [1,54; 2,01] [*]	2,03 [1,78; 2,35] ^s	0,91 [0,85; 0,94] [#]	0,53 [0,43; 0,54] ^{*#&}

Примечание: ^{*} — статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1 по критерию Краскела–Уоллиса, [#] — с группой 2; ^s — различия в группе 2; [&] — различия в группе 3; (г) — гептановая фаза липидного экстракта костной ткани; (и) — изопропанольная фаза.

Таблица 4. Регрессионные модели

Модели	Признаки	Коэффициенты	p
Модель связи МПК ШПОБК с ПОЛ в сыворотке на старте adjusted R ² = 0,34; p = 0,001	Intercept	1,396	< 0,001*
	ДК (r)	-0,620	0,00156*
Модель связи ПОЛ в кости с ПОЛ в сыворотке на старте adjusted R ² = 0,36; p = 0,003	Intercept	0,49817	< 0,001*
	КД и СТ (r)	-0,40958	0,03754*
	ШО (r)	0,66482	0,00107*
Модель определения МПК ПОПБК через 6 месяцев по показателям ПОЛ сыворотки adjusted R ² = 0,71; p = 0,002	Intercept	2,39	< 0,001*
	ДК (r)	-1,99	0,024*
	ШО (и)	-3,12	0,017*
Группа 3		0,27	0,128

Примечание: * — статистически значимые (p < 0,05) различия

плотности костной ткани в шейке бедренной кости и уровнем диеновых конъюгатов в гептановой фазе липидного экстракта сыворотки на старте исследования (табл. 4). Модель можно описать следующим уравнением:

$$x = 1,396 - 0,62 \times \text{ДК (r)},$$

где x — показатель МПК ШПОБК, ДК (r) — диеновые конъюгаты в гептановой фазе.

Метод линейного регрессионного анализа позволил сопоставить показатели окислительной деструкции липидов в костной ткани с показателями ПОЛ в сыворотке крови на момент начала наблюдения с помощью математического моделирования, что позволило отказаться от повторного исследования редокс-статуса костной ткани в динамике и исключить дополнительную медицинскую травматизацию пациентов, связанную с проведением трепанобиопсии гребня подвздошной кости. Модель можно описать следующим уравнением:

$$x = 0,5 - 0,41 \times \text{КД и СТ (r)} + 0,66 \times \text{ШО (r)},$$

где x — концентрация диеновых конъюгатов в костной ткани в изопропанольной фазе, КД и СТ (r) — кетодиены и сопряженные триены в гептановой фазе, ШО (r) — основания Шиффа в гептановой фазе.

Согласно другой модели, уровни сывороточных диеновых конъюгатов в гептановой и оснований Шиффа в изопропанольной фазах экстракта на момент начала исследования имели значимую отрицательную взаимосвязь с уровнем МПК ПОПБК через 6 месяцев после начала наблюдения. Модель можно описать следующим уравнением:

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

где x — вероятность снижения МПК ПОБК (г/см²), ДК (r) — диеновые конъюгаты в гептановой фазе, ШО (и) — основания Шиффа в изопропанольной фазе. Признак наличия остеопении был включен в модель, так как улучшал качество прогноза, но не показал статистической значимости (1 — есть, 0 — нет).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Стандартизованным показателем при проведении остеоденситометрии считается T-критерий, он представляет собой количество стандартных отклонений от максимальной МПК, используется у женщин в постменопаузе и мужчин старше 50 лет. Z-критерий представляет количество

стандартных отклонений от среднего показателя МПК у лиц той же возрастной группы [8].

При ХЛЛ наиболее распространенной локализацией снижения МПК считается шейка бедренной кости. Однако при тяжелых стадиях заболевания изменения показателей МПК могут обнаруживаться в других областях скелета, включая позвоночник [4].

Механизм развития остеопении в той или иной локализации, вероятно, связан с негативным влиянием большого количества свободных радикалов, синтезируемых опухолевыми клетками, на молекулы белков и липидов и образованием продуктов вследствие их окислительной деструкции [10, 11].

Как известно, диеновые конъюгаты, кетодиены и сопряженные триены являются продуктами ранних стадий перекисной окисления липидов. Их концентрация отражает активность процессов ПОЛ и интенсивность окислительного стресса. Шиффовы основания не подвергаются метаболизму и являются маркерами дистрофических процессов в клетках и тканях. Биомаркерами окислительного стресса в тканях при ХЛЛ в настоящее время принято считать карбонильные остатки окисленных липидов, образующиеся после гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот, например 4-гидроксиноненаль или малоновый диальдегид [7]. Выживание клональных В-клеток связано с окислительным фосфорилированием (превращением АФК в менее вредные формы), усилением антиокислительной защиты, а именно активацией изоформ супероксиддисмутазы (SOD, SOD1 (Cu/Zn SOD), SOD2 (Mn-SOD)), системы тиоредоксина и ферментного каскада, индуцирующего биосинтез и рециркуляцию глутатиона [12]. АФК при ХЛЛ преимущественно синтезируются в митохондриях в отличие от других опухолей, где эту функцию выполняют НАДФН-оксидазы [12]. АФК буферизируются под действием антиоксидантных факторов, экспрессия которых находится под контролем факторов транскрипции, регулирующих окисление и фосфорилированием [12]. Окислительный стресс рассматривают как основной механизм потери костной массы [13–15]. Окислительный стресс опосредованно, через активацию сигнальных путей (FGF23, Nrf-2, JNK, ERK1/2, NF-κB, RANKL/OPG) стимулирует дифференцировку остеокластов, влияет на пролиферацию и продолжительность жизни, снижает активность остеобластов и участвует в их апоптозе [15]. В частности, при избыточной экспрессии Nrf-2, активации гемоксигеназы-1 (HO-1) и RUNX2-зависимой транскрипционной активности при ХЛЛ снижается дифференцировка остеобластов [16, 17]. Так же механизм снижения минерализации костной ткани в условиях окислительного стресса связан с повышенной экспрессией

FGF23 в костной ткани из-за апоптоза остеоцитов и остеобластов, активации митоген-активированных протеинкиназ (МАРК) [18, 19].

Как следствие, в результате окислительного стресса, индуцированного опухолью, зрелые остеокласты резорбируют костный матрикс, позволяя опухолевым клеткам расти и мигрировать в тканях. Дисфункция антиоксидантной защиты при ХЛЛ способствует апоптозу остеобластов и остеоцитов, вызывая еще большее снижение МПК, ведущее к остеопении и остеопорозу [20].

На основе полученных данных нами была создана компьютерная программа «Моделирование изменений минеральной плотности кости в зависимости от редокс-статуса у пациентов с хроническим лимфолейкозом», позволяющая спрогнозировать развитие остеопении или остеопороза у пациентов с ХЛЛ за период в 6 месяцев в зависимости от показателей ПОЛ сыворотки. Апробация данной модели по результатам наших исследований позволила продемонстрировать высокую чувствительность и специфичность созданной программы и имела высокое прогностическое значение. Практическое применение программы специалистами здравоохранения позволит выделить подгруппу пациентов с ХЛЛ у которых может возникнуть остеопения.

ВЫВОДЫ

У больных с ХЛЛ с частотой 29% выявляется остеопения по данным остеоденситометрии в шейке проксимального отдела бедренной кости. В динамике

шестимесячного наблюдения признаки остеопении определяются уже у 55% больных во всех локализациях инструментального исследования. У больных ХЛЛ и остеопенией в костной ткани наблюдаются признаки окислительного стресса: накапливаются в гептановой фазе липидного экстракта вторичные и конечные продукты, в изопропанольной фазе — конечные продукты окисления липидов, снижается общий антиоксидантный статус. Так же у пациентов с ХЛЛ и остеопенией констатирован системный окислительный стресс, который сопровождается повышенной концентрацией первичных и вторичных продуктов окислительной деструкции липидов в гептановой фазе, первичных, вторичных и конечных продуктов в изопропанольной фазе, сниженным общим антиоксидантным статусом в сыворотке крови. Через 6 месяцев относительно показателей на старте исследования зафиксировано прогрессирование окислительного стресса в сыворотке крови: увеличивается содержание первичных, вторичных и конечных продуктов окислительной деструкции липидов в гептановой и изопропанольной фазах, снижается общий антиоксидантный статус. Показатели редокс-статуса в сыворотке крови и костной ткани достоверно сопоставимы, а сывороточные показатели окислительного стресса могут использоваться для прогноза возникновения остеопении. Проведенное исследование может оказать влияние на выбор тактики ведения пациентов, подготовить лечебно-профилактические мероприятия, например назначение антиоксидантной терапии или терапии бисфосфонатами.

Литература

1. Никитин Е. А., Бялик Т. Е., Зарицкий А. Ю., Исебер Л., Капланов К. Д., Лопаткина Т. Н., и др. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лимфоцитов. Клинические рекомендации. Современная Онкология. 2020; 22 (3): 24–44. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385.
2. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О., Лисичникова И. В. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). М-во здравоохранения Российской Федерации, МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии». Москва: Коллектив авторов, 2023; 275 с.
3. Petty L, Stephens D, Sharma A. Risk Factors for Fragility Fractures in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cureus*. 2024; 16 (2): e54774. DOI: 10.7759/cureus.54774.
4. Giannoni P, Marini C, Cutrona G, Sambuceti GM, Fais F, de Toter D. Unraveling the Bone Tissue Microenvironment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2023; 15 (20): 5058. DOI: 10.3390/cancers15205058.
5. D'Arena G, Seneca E, Migliaccio I, De Feo V, Giudice A, La Rocca F, et al. Oxidative stress in chronic lymphocytic leukemia: still a matter of debate. *Leuk Lymphoma*. 2019; 60 (4): 867–5. DOI: 10.1080/10428194.2018.1509317.
6. Sciacotta R, Gangemi S, Penna G, Giordano L, Poggia G, Allegra A. Potential New Therapies "ROS-Based" in CLL: An Innovative Paradigm in the Induction of Tumor Cell Apoptosis. *Antioxidants (Basel)*. 2024; 13 (4): 475. DOI: 10.3390/antiox13040475.
7. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwaseel SH, Nepovimova E, Kuca K, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*. 2023; 97 (10): 2499–574. DOI: 10.1007/s00204-023-03562-9.
8. Белая Ж. Е., Белова К. Ю., Бирюкова Е. В., Дедов И. И., Дзеранова Л. К., Дралкина О. М., и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза. Остеопороз и остеопатии. 2021; 24 (2): 4–47. DOI: org/10.14341/osteo12930.
9. Волчегорский И. А., Долгушин И. И., Колесников О. Л., Цейликман В. Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск: ЧелГПУ, 2000; 167 с.
10. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskalyeva B, Abdull Razis AF, Modu B, et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem*. 2023; 11: 1158198. DOI: 10.3389/fchem.2023.1158198.
11. Zhivodernikov IV, Kirichenko TV, Markina YV, Postnov AY, Markin AM. Molecular and Cellular Mechanisms of Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (21): 15772. DOI: 10.3390/ijms242115772.
12. Pagano MA, Frezzato F, Visentin A, Trentin L, Brunati AM. Protein Phosphorylation and Redox Status: An as Yet Elusive Dyad in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (19): 4881. DOI: 10.3390/cancers14194881.
13. Han J, Yang K, An J, Jiang N, Fu S, Tang X. The Role of NRF2 in Bone Metabolism — Friend or Foe? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 813057. DOI: 10.3389/fendo.2022.813057.
14. Ma F, Luo S, Lu C, Jiang X, Chen K, Deng J, et al. The role of Nrf2 in periodontal disease by regulating lipid peroxidation, inflammation and apoptosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 963451. DOI: 10.3389/fendo.2022.963451.
15. Marcucci G, Domazetovic V, Nedjani C, Ruzzolini J, Favre C, Brandi ML. Oxidative Stress and Natural Antioxidants in Osteoporosis: Novel Preventive and Therapeutic Approaches. *Antioxidants (Basel)*. 2023; 12 (2): 373. DOI: 10.3390/antiox12020373.
16. Gao Y, Patil S, Jia J. The Development of Molecular Biology of Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (15): 8182. DOI: 10.3390/ijms22158182.
17. Zhou X, Yuan W, Xiong X, Zhang Z, Liu J, Zheng Y, et al. HO-1 in Bone Biology: Potential Therapeutic Strategies for Osteoporosis. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 791585. DOI: 10.3389/fcell.2021.791585.

18. Vervloet MG. Shedding Light on the Complex Regulation of FGF23. *Metabolites*. 2022; 12 (5): 401. DOI: 10.3390/metabo12050401.
19. Domazetovic V, Falsetti I, Ciuffi S, Iantomasi T, Marcucci G, Vincenzini MT, et al. Effect of Oxidative Stress-Induced Apoptosis on Active FGF23 Levels in MLO-Y4 Cells: The Protective Role of 17- β -Estradiol. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (4): 2103. DOI: 10.3390/ijms23042103.
20. El-Gazzar A, Högler W. Mechanisms of Bone Fragility: From Osteogenesis Imperfecta to Secondary Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (2): 625. DOI: 10.3390/ijms22020625.

References

- Nikitin EA, Bjalik TE, Zarickij AYu, Iseber L, Kaplanov KD, Lopatkina TN, i dr. Hronicheskiy limfocitarniy lejkoz/limfoma iz malyh limfocitov. *Klinicheskie rekomendacii. Sovremennaja Onkologija*. 2020; 22 (3): 24–44. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385. Russian.
- Kaprin AD, Starinskij VV, Shahzadova AO, Lisichnikova IV. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2022 godu (zabolevaemost' i smertnost'). M-vo zdravoochraneniya Rossijskoj Federacii, MNIOL im. P.A. Gercena — filial FGBU «NMIC radiologii». Moskva: Kollektiv avtorov, 2023; 275 s. Russian.
- Petty L, Stephens D, Sharma A. Risk Factors for Fragility Fractures in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cureus*. 2024; 16 (2): e54774. DOI: 10.7759/cureus.54774.
- Giannoni P, Marini C, Cutrona G, Sambuceti GM, Fais F, de Toter D. Unraveling the Bone Tissue Microenvironment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2023; 15 (20): 5058. DOI: 10.3390/cancers15205058.
- D'Arena G, Seneca E, Migliaccio I, De Feo V, Giudice A, La Rocca F, et al. Oxidative stress in chronic lymphocytic leukemia: still a matter of debate. *Leuk Lymphoma*. 2019; 60 (4): 867–5. DOI: 10.1080/10428194.2018.1509317.
- Sciaccotta R, Gangemi S, Penna G, Giordano L, Ploggia G, Allegra A. Potential New Therapies "ROS-Based" in CLL: An Innovative Paradigm in the Induction of Tumor Cell Apoptosis. *Antioxidants (Basel)*. 2024; 13 (4): 475. DOI: 10.3390/antiox13040475.
- Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*. 2023; 97 (10): 2499–574. DOI: 10.1007/s00204-023-03562-9.
- Belaja ZhE, Belova KYu, Birjukova EV, Dedov II, Dzeranova LK, Drapkina OM, i dr. Federal'nye klinicheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniju i profilaktike osteoporoza. *Osteoporoz i osteopatii*. 2021; 24 (2): 4–47. DOI: org/10.14341/osteo12930. Russian.
- Volchegorskij IA, Dolgushin II, Kolesnikov OL, Cejlikman VYe. Jeksperimental'noe modelirovanie i laboratornaja ocenka adaptivnyh reakcij organizma. *Cheljabinsk: ChelGPU*, 2000; 167 s. Russian.
- Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Abdull Razis AF, Modu B, et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem*. 2023; 11: 1158198. DOI: 10.3389/fchem.2023.1158198.
- Zhivodernikov IV, Kirichenko TV, Markina YV, Postnov AY, Markin AM. Molecular and Cellular Mechanisms of Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (21): 15772. DOI: 10.3390/ijms242115772.
- Pagano MA, Frezzato F, Visentin A, Trentin L, Brunati AM. Protein Phosphorylation and Redox Status: An as Yet Elusive Dyad in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (19): 4881. DOI: 10.3390/cancers14194881.
- Han J, Yang K, An J, Jiang N, Fu S, Tang X. The Role of NRF2 in Bone Metabolism — Friend or Foe? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 813057. DOI: 10.3389/fendo.2022.813057.
- Ma F, Luo S, Lu C, Jiang X, Chen K, Deng J, et al. The role of Nrf2 in periodontal disease by regulating lipid peroxidation, inflammation and apoptosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 963451. DOI: 10.3389/fendo.2022.963451.
- Marcucci G, Domazetovic V, Nediani C, Ruzzolini J, Favre C, Brandi ML. Oxidative Stress and Natural Antioxidants in Osteoporosis: Novel Preventive and Therapeutic Approaches. *Antioxidants (Basel)*. 2023; 12 (2): 373. DOI: 10.3390/antiox12020373.
- Gao Y, Patil S, Jia J. The Development of Molecular Biology of Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (15): 8182. DOI: 10.3390/ijms22158182.
- Zhou X, Yuan W, Xiong X, Zhang Z, Liu J, Zheng Y, et al. HO-1 in Bone Biology: Potential Therapeutic Strategies for Osteoporosis. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 791585. DOI: 10.3389/fcell.2021.791585.
- Vervloet MG. Shedding Light on the Complex Regulation of FGF23. *Metabolites*. 2022; 12 (5): 401. DOI: 10.3390/metabo12050401.
- Domazetovic V, Falsetti I, Ciuffi S, Iantomasi T, Marcucci G, Vincenzini MT, et al. Effect of Oxidative Stress-Induced Apoptosis on Active FGF23 Levels in MLO-Y4 Cells: The Protective Role of 17- β -Estradiol. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (4): 2103. DOI: 10.3390/ijms23042103.
- El-Gazzar A, Högler W. Mechanisms of Bone Fragility: From Osteogenesis Imperfecta to Secondary Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (2): 625. DOI: 10.3390/ijms22020625.