

# РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КОСТНОЙ ТКАНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТЕОПЕНИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Осиков М.В.<sup>1,2</sup>, Коробкин Е.А.<sup>1,2\*</sup>, Коробкин А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 454092, г. Челябинск, Российская Федерация

<sup>2</sup> ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», 454048, г. Челябинск, Российская Федерация

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Снижение минеральной плотности кости (МПК), развитие остеопении и остеопороза возникают у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). У больных ХЛЛ риск развития переломов костей в результате остеопороза выше по сравнению со здоровыми лицами. Патогенез остеодеструктивного процесса при ХЛЛ мало изучен и может быть обусловлен избыточной генерацией активных форм кислорода и/или угнетением антиокислительной защиты.

**Цель:** исследовать взаимосвязь между показателями окислительного стресса в костной ткани и показателями остеопении у больных ХЛЛ.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 48 больных ХЛЛ мужского пола в возрасте 50–70 лет, разделенных, на основании остеоденситометрии (Т-показатель от  $-1,0$  стандартного отклонения (СО) до  $-2,5$  СО), на группу 1 ( $n = 34$ ) без признаков остеопении и группу 2 ( $n = 14$ ) — с признаками остеопении. МПК, Т- и Z-критерии оценивали в поясничном отделе позвоночника, шейке проксимального отдела бедренной кости (ШПОБК), проксимальном отделе бедренной кости. В гомогенате костной ткани определяли содержание продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) спектрофотометрически в спонтанном и металл-катализируемом режимах, резервно-адаптационный потенциал; общий антиоксидантный статус.

**Результаты.** У 30% больных ХЛЛ выявили остеопению по данным остеоденситометрии в ШПОБК. У больных ХЛЛ и остеопенией в костной ткани наблюдали признаки окислительного стресса: накапливались в спонтанном режиме детекции ранние продукты ОМБ нейтрального и основного характера, поздние продукты нейтрального характера, в индуцированном режиме — ранние и поздние продукты ОМБ нейтрального и основного характера, снижался резервно-адаптационный потенциал, общий антиоксидантный статус. Признаки остеопении в ШПОБК у больных ХЛЛ нарастали по мере увеличения содержания в костной ткани ранних и поздних продуктов ОМБ в спонтанном и в металл-индуцированном режиме детекции, снижения общего антиоксидантного статуса в костной ткани.

**Заключение.** На основании полученных данных возможна модернизация диагностических критериев и терапевтических подходов.

**Ключевые слова:** хронический лимфолейкоз, минеральная плотность кости, остеопения, окислительный стресс, окислительная модификация белков, редокс-статус

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** исследование не имело спонсорской поддержки.

**Для цитирования:** Осиков М.В., Коробкин Е.А., Коробкин А.В. Роль окислительного стресса в костной ткани в патогенезе остеопении у больных хроническим лимфолейкозом. Гематология и трансфузиология. 2024; 69(4):442–450. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-4-442-450>

# THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN BONE TISSUE IN THE PATHOGENESIS OF OSTEOPENIA IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Osikov M.V.<sup>1,2</sup>, Korobkin E.A.<sup>1,2\*</sup>, Korobkin A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> South State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, 454048, Chelyabinsk, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction.** A decrease in bone mineral density (BMD), the development of osteopenia and osteoporosis is observed in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). Patients with CLL are at a higher risk of developing fractures due to osteoporosis compared to healthy age-matched individuals. The pathogenesis of the osteodestructive process in CLL has been poorly studied and may be associated with excessive generation of reactive oxygen species and/or inhibition of antioxidant defense.

**Aim:** to investigate the relationship between indicators of oxidative stress in bone tissue and indicators of osteopenia in patients with CLL.

**Materials and methods.** The study included 48 male patients with CLL aged 50–70 years, divided into group 1 ( $n = 34$ ) without signs of osteopenia and group 2 ( $n = 14$ ) with signs of osteopenia based on osteodensitometry (T-score from  $-1.0$  SD to  $-2.5$  SD). BMD, T- and Z-scores were assessed in the lumbar spine, proximal femoral neck (PFC), and proximal femur. In the bone tissue homogenate, the content of products of oxidative modification of proteins (OMP) was determined spectrophotometrically in spontaneous and metal-catalyzed modes, reserve-adaptation potential, and general antioxidant status.

**Results.** Osteopenia was detected in 30 % of patients with CLL according to osteodensitometry in the neck of the proximal femur. In patients with CLL and osteopenia, signs of oxidative stress were observed in the bone tissue: early OMP products of a neutral and basic nature, late products of a neutral nature accumulated in the spontaneous detection mode; early and late OMP products of a neutral and basic nature accumulated in the induced mode; reserve-adaptive potential, the general antioxidant status decreased. Signs of osteopenia in the PFC in patients with CLL in the femoral neck increased as the content of early and late OMP products in the bone tissue increased in spontaneous and metal-induced detection modes, and the general antioxidant status in the bone tissue decreased.

**Conclusion.** Based on the data obtained, it is possible to modernize diagnostic criteria and therapeutic approaches.

**Keywords:** chronic lymphocytic leukemia, bone mineral density, osteopenia, oxidative stress, oxidative modification of proteins, redox status

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

**Financial disclosure:** the study had no sponsorship.

**For citation:** Osikov M.V., Korobkin E.A., Korobkin A.V. The role of oxidative stress in bone tissue in the pathogenesis of osteopenia in patients with chronic lymphocytic leukemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2024;69(4):442–450 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-4-442-450>

## Введение

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) / лимфома из малых лимфоцитов — это опухоль, происходящая из малых В-лимфоцитов. Два этих заболевания обычно объединяют в одну нозологическую форму [1]. Согласно эпидемиологическим данным, ежегодная заболеваемость ХЛЛ в европейских странах составляет

5 случаев на 100 тыс. населения, тогда как в России заболеваемость меньше — 3 случая на 100 тыс. населения, без тенденции к увеличению за последние 5 лет [2]. ХЛЛ является второй по распространенности злокачественной опухолью в группе онкогематологических заболеваний. При ХЛЛ чаще, чем при его от-

сутствии в аналогичных возрастных группах, встречаются остеопороз и связанные с ним переломы костей в результате снижения минеральной плотности кости (МПК) [3]. Остеопороз регистрировали у 16%, а остеопению — у 35% больных ХЛЛ [4]. Однако риск развития остеопоротических компрессионных переломов позвонков как при наличии ХЛЛ, так и без опухоли не отличался [5].

В патогенезе остеопороза при ХЛЛ ключевым является межклеточное взаимодействие клеток стромы с опухолевыми лимфоцитами, что может сопровождаться окислительным стрессом. При ХЛЛ в опухолевых клетках увеличено количество митохондрий, происходит окислительное фосфорилирование и генерация активных форм кислорода (АФК). Указанные изменения могут быть связаны с мутацией TP53, увеличением синтеза гемоксигеназы-1, активацией дыхания и генерации АФК в митохондриях, создавая, таким образом, порочный круг окислительного стресса при ХЛЛ [6–8]. Устойчивость опухолевых клеток при ХЛЛ к окислительному стрессу обеспечивается высоким содержанием внутриклеточных тиолов, глутатиона и металлотioneинов, которые связывают АФК, что ингибирует апоптоз опухолевых клеток, приводит к разрастанию опухоли [9].

В первую очередь окислительной модификации подвергаются молекулы белков, что напрямую зависит от интенсивности воздействия АФК и может приводить к повреждению окружающих клеток и тканей. Содержание в тканях продуктов окислительной модификации белков (ОМБ), в частности 2,4-динитрофенилгидразонов, отражает баланс между прооксидантами и антиоксидантами, скоростью окисления и деструкции белков; повышенное содержание продуктов ОМБ определяется при многих онкологических заболеваниях, что позволяет использовать их в качестве маркера окислительного стресса [10]. Продукты ОМБ принимают участие в активации генов, содержащих антиоксидант-респонсивные элементы [10]. Тем не менее механизм поражения костей скелета при ХЛЛ остается недостаточно изученным, в связи с чем требуется дальнейшее изучение остеодеструктивного синдрома при ХЛЛ для расширения диагностических критериев и модернизации лечения.

Цель работы — исследовать взаимосвязь содержания продуктов ОМБ, антиоксидантного статуса в костной ткани и показателей минеральной плотности кости у больных ХЛЛ.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России и ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», соответствовало этическим нормам и требованиям, одобрено этическим комитетом (протокол № 3 от 10.04.2023).

В исследование были включены 3 группы обследуемых: 1-я группа (контрольная группа) была представлена 14 условно здоровыми мужчинами; в группу 2 были включены 54 больных ХЛЛ без снижения МПК, в группу 3 — 22 больных ХЛЛ со снижением МПК. Все больные ХЛЛ были мужского пола в возрасте 50–70 лет, у них был впервые верифицирован ХЛЛ и до включения в исследования они не получали лечения. Условно здоровые лица из контрольной группы были сопоставимых по возрасту с больными ХЛЛ. Диагнозом ХЛЛ устанавливали с помощью иммунофенотипирования клона лимфоцитов (CD5<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, легких цепей иммуноглобулинов каппа или лямбда) на проточном цитофлуориметре «BD FACSCanto II» («BD Biosciences», США). По классификации J. L. Binet и соавт. [11] стадии А соответствовали 28 (37%) больных, стадии В — 36 (47%) больных и стадии С — 12 (16%) больных. Средняя длительность заболевания до включения в исследование составила 10,5 мес. В контрольную группу были включены 14 условно здоровых мужчин (группа 1), сопоставимых по возрасту. В связи с постменопаузальным остеопорозом у женщин, развивающимся в том же диапазоне возраста, исследование проводили только среди мужчин.

К критериям исключения относили терминальные стадии хронических заболеваний внутренних органов, заболевания эндокринной системы, длительное лечение кортикостероидами, ВИЧ-инфекцию, невозможность самообслуживания.

Остеоденситометрию проводили на денситометре «DEXXUM 3» («OsteoSys Co», Южная Корея), оценивали МПК, T-критерий, Z-критерий в поясничном отделе позвоночника (ПОП), шейке проксимального отдела бедренной кости (ШПОБК), проксимальном отделе бедренной кости (ПОБК). Во всех группах рассчитывали риск перелома костей в ближайшие 10 лет с помощью международного общепринятого инструмента оценки риска переломов Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) [12].

По данным остеоденситометрии, больные ХЛЛ с нормальной МПК (T- и Z-критерий  $\geq -1,0$  стандартного отклонения (СО)) составили группу 2 ( $n = 54$ ), в группу 3 ( $n = 22$ ) были включены больные с признаками остеопении (T- и Z-критерий от  $-1,0$  до  $-2,5$  СО). В соответствии с классификацией J. L. Binet и соавт. [11] у 6 (21%) из 28 больных установлена остеопения на стадии А, у 12 (33%) из 36 на стадии В и у 6 (50%) из 12 больных на стадии С [11]. Все исследуемые группы были сопоставимы по возрасту ( $p > 0,05$ ): группа 1 — 59,0 [55,7; 63,5] года, группа 2 — 62,0 [59,7; 65,3] года, группа 3 — 65,0 [59,0; 66,1] года.

В группах 2 и 3 для получения костного мозга и подтверждения диагноза выполнена трепанобиопсия гребня подвздошной кости. Костную ткань гомогенизировали с 0,9% раствором натрия хлорида в течение 3 мин

при температуре 4 °С (1:10). Содержание продуктов ОМБ в гомогенате кости определяли на спектрофотометре «СФ-56» («ЛОМО-Спектр», Россия) по реакции карбонильных производных белков с 2,4-динитрофенилгидразином с последующей регистрацией альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ) и кетон-динитрофенилгидразонов (КДНФГ) в ультрафиолетовой части спектра и в области видимого света [13]. Карбонильные производные окисленных белков регистрировали на следующих длинах волн в ультрафиолетовой части спектра: АДНФГ — 230, 254, 270, 280, 356 нм; КДНФГ — 363, 370 нм; в области видимого света: АДНФГ — 428, 430 нм; КДНФГ — 434, 524, 530, 535 нм. Результат выражали в единицах оптической плотности на мг белка (у.е./мг).

Для оценки металл-индуцированной ОМБ активировали окисление белков гидроксильным радикалом  $\text{OH}^\bullet$  в реакции Фентона, используя реакционную смесь, содержащую приготовленные *ex tempore* растворы  $\text{FeSO}_4$  (10 мМ), перекиси водорода (0,3 мМ) и ЭДТА (10 мМ). Резервно-адаптационный потенциал (РАП) рассчитывали как отношение результатов измерения продуктов спонтанного окисления к индуцированному, принимая результаты измерения индуцированного за 100%. Оценку общего антиоксидантного статуса (ОАС) в костной ткани проводили путем количественного определения общего содержания антиоксидантов в гомогенате костной ткани на автоматическом анализаторе «Chem Well 2910 Combi» («Awareness Technology», США) с помощью тест-системы «В-7501 Общий антиоксидантный статус» («Вектор-Бест», Россия).

**Статистический анализ.** Результаты обрабатывали с использованием «IBM SPSS Statistics v. 23» («SPSS: An IBM Company», США), представляли в виде медианы и межквартильного диапазона (Ме [МКИ]). Значимость различий оценивали при помощи критериев Краскела — Уоллиса и Манна — Уитни. Для выявления связи между показателями использовали коэффициент корреляции Спирмена (R), для определения силы связи — шкалу Чеддока. Отличия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

Анализ показателей остеоденситометрии во всех группах с учетом возраста показал, что у больных ХЛЛ и остеопенией (группа 3,  $n = 22$ , 29%) значимо снижены в проксимальном отделе бедренной кости  $T$ -критерий (медиана группы 3 была в 4,2 раза меньше в сравнении с группой 1 и в 16 раз — в сравнении с группой 2),  $Z$ -критерий (медиана группы 3 была 3,8 раза меньше в сравнении с медианой группы 1 и в 4 раза в сравнении с медианой группы 2), МПК (медиана группы 3 была на 8% меньше в сравнении с медианой группы 1 и на 9% меньше в сравнении с медианой группы 2); в ШПОБК —  $T$ -критерий (медиана в группе

3 была в 8 раз меньше в сравнении с медианой группы 1 и в 5,6 раз меньше в сравнении с медианой группы 2),  $Z$ -критерий (медиана в группе 3 была в 2,5 раза меньше в сравнении с медианой группы 1 и в 2 раза меньше в сравнении с медианой группы 2), МПК (медиана группы 3 была на 16% меньше в сравнении с медианой группы 1 и на 14% меньше в сравнении с медианой группы 2); в поясничных позвонках —  $T$ -критерий (медиана в группе 3 была в 4,8 раз меньше в сравнении с медианами групп 1 и 2),  $Z$ -критерий (медиана группы 3 была на 100% меньше в сравнении с медианами групп 1 и 2), МПК (медиана группы 3 была на 9,5% меньше в сравнении с медианой группы 1 и на 12% в сравнении с медианой группы 2) (табл. 1).

Риск десятилетней вероятности перелома костей скелета, рассчитанный по алгоритму FRAX и включающий показатель МПК во всех группах, был сопоставим ( $p > 0,05$ ). Несмотря на значимые изменения МПК,  $T$ -критерия,  $Z$ -критерия в исследуемых локализациях, только в ШПОБК в группе 3 медиана  $T$ -критерия соответствовала остеопении согласно Национальным рекомендациям [14].

Выраженность окислительного стресса в костной ткани у больных ХЛЛ оценивали по содержанию карбонильных продуктов ОМБ и общего антиоксидантного статуса. В костной ткани у больных ХЛЛ и остеопенией в спонтанном режиме статистически значимо было увеличено суммарное количество продуктов ОМБ (медиана группы 3 на 51% больше по сравнению с медианой группы 2) (табл. 2). В группе 3 в спонтанном режиме было значимо увеличено суммарное количество АДНФГ (медиана группы 3 на 50% больше по сравнению с медианой группы 2) — маркеров ранней фрагментации белковых молекул, характеризующих начальный этап окислительного стресса, а также суммарное количество КДНФГ — поздних продуктов модификации белков, свидетельствующих о тяжелой степени окислительного стресса (медиана группы 3 на 47% больше по сравнению с медианой группы 2).

Анализ содержания ранних продуктов ОМБ в костной ткани в спонтанном режиме детекции позволил установить, что их увеличение происходит в ультрафиолетовой части спектра (медиана группы 3 на 49% больше по сравнению с медианой группы 2) и видимой части спектра (медиана группы 3 на 47% больше по сравнению с медианой группы 2), что соответствует продуктам нейтрального и основного происхождения. Анализ содержания поздних продуктов ОМБ в спонтанном режиме выявил значимое повышение содержания в костной ткани только аминокислотных остатков нейтрального генеза (медиана группы 3 на 50% больше по сравнению с медианой группы 2).

Анализ содержания продуктов окислительной деградации белков в костной ткани у больных ХЛЛ в ме-

**Таблица 1.** Риск переломов и показатели остеоденситометрии у больных ХЛЛ (Me [МКИ])

**Table 1.** Fracture risk and osteodensitometry indices in patients with CLL (Me [IQR])

Показатели Indicators	Группа 1 (n = 18) Group 1 (n = 18)	Группа 2 (n = 54) Group 2 (n = 54)	Группа 3 (n = 22) Group 3 (n = 22)
<b>FRAX, %</b>	28,50 [25,60; 30,00]	28,20 [26,80; 30,50]	28,70 [23,00; 30,10]
<b>МПК ПОП, г/см<sup>2</sup></b> BMD LS, g/cm <sup>2</sup>	1,31 [0,70; 3,00]	1,35 [1,21; 1,52]	1,18 [1,06; 1,34]*#
<b>T-кр. ПОП, СО</b> T-sc. LS, SD	1,15 [0,70; 3,00]	1,15 [-0,10; 2,55]	-0,30 [-1,30; 1,00]*#
<b>Z-кр. ПОП, СО</b> Z-sc. LS, SD	1,30 [0,80; 3,00]	1,45 [0,40; 2,90]	0,00 [-1,10; 1,40]*#
<b>МПК ШПОБК, г/см<sup>2</sup></b> BMD PFN, g/cm <sup>2</sup>	1,05 [-0,20; 0,50]	1,03 [0,99; 1,06]	0,88 [0,80; 0,93]*#
<b>T-кр. ШПОБК, СО</b> T-sc. PFN, SD	0,20 [-0,20; 0,50]	-0,25 [-0,60; -0,05]	-1,40 [-2,00; -1,10]*#
<b>Z-кр. ШПОБК, СО</b> Z-sc. PFN, SD	0,90 [0,10; 1,10]	0,60 [0,35; 1,00]	-0,60 [-1,00; 0,00]*#
<b>МПК ПОБК, г/см<sup>2</sup></b> BMD PFB, g/cm <sup>2</sup>	1,07 [-0,10; 0,50]	1,08 [1,04; 1,13]	0,98 [0,83; 1,01]*#
<b>T-кр. ПОБК, СО</b> T-sc. PFB, SD	0,25 [-0,10; 0,50]	-0,05 [-0,40; 0,35]	-0,80 [-2,00; -0,60]*#
<b>Z-кр. ПОБК, СО</b> Z-sc. PFB, SD	0,07 [0,88; 2,40]	0,60 [0,20; 1,00]	-0,20 [-1,30; -0,10]*#

Примечания: \* статистически значимые (p < 0,05) различия с группой 1 по критериям Краскела — Уоллиса и Манна — Уитни, # с группой 2.

Notes: \* statistically significant (p < 0.05) differences with group 1 according to the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney criteria, # with group 2.

талл-индуцированном режиме показал, что в группе 3 увеличено суммарное количество ОМБ (медиана группы 3 на 36% больше по сравнению с медианой группы 2). При этом содержание АДНФГ было значимо выше на 34%, а КДНФГ — на 40% при сравнении медиан групп 3 и 2, что характеризует металл-зависимый окислительный стресс за счет ранних и поздних продуктов ОМБ. При анализе ранних продуктов ОМБ в костной ткани в индуцированном режиме отмечено значимое увеличение в ультрафиолетовой части спектра аминокислотных остатков нейтрального происхождения (медиана группы 3 на 33% больше по сравнению с медианой группы 2) и в видимой части спектра аминокислотных остатков основного происхождения (медиана группы 3 на 34% больше по сравнению с медианой группы 2). Значимо высокие показатели КДНФГ костной ткани в металл-катализируемом режиме регистрировались в ультрафиолетовой части спектра (медиана группы 3 на 40% больше по сравнению с медианой группы 2) и видимой части спектра (медиана группы 3 на 30% больше по сравнению с медианой группы 2). У больных ХЛЛ и остеопенией значимо снижался РАП (на 33% при сравнении медиан) — это связано с накоплением ранних и поздних карбонильных производных белков в спонтанном режиме. У больных ХЛЛ и остеопенией был снижен общий антиоксидантный статус (медиана на 30% меньше по сравнению с медианой группы 2).

Проведен корреляционный анализ между показателями МПК, T- и Z-критериями в ШПОБК — ло-

кализации с признаками остеопении и показателями окислительного стресса в костной ткани (табл. 3). Выявлены значимые взаимосвязи: умеренной силы обратная связь между МПК и содержанием КДНФГ в спонтанном режиме, суммарным содержанием продуктов ОМБ, ранними, поздними продуктами ОМБ в металл-катализируемом режиме. Высокой силы обратная связь обнаружена между T-, Z-критериями и суммарным содержанием продуктов ОМБ, содержанием АДНФГ в спонтанном режиме. Прямые связи обнаружены между общим антиоксидантным статусом в костной ткани и МПК (выраженной силы), T-критерием (выраженной силы), Z-критерием (умеренной силы).

## Обсуждение

При остеоденситометрии T-критерий представляет стандартное отклонение от среднего значения пиковой костной массы в определенном участке скелета и используется для женщин в постменопаузе и мужчин старше 50 лет. Z-критерий представляет стандартное отклонение выше или ниже среднего показателя МПК у лиц той же возрастной группы [14]. При ХЛЛ снижение МПК чаще всего начинается с проксимальных отделов бедренной кости, постепенно переходя на позвончик и другие костные структуры, причем тяжесть заболевания коррелирует со снижением МПК [15]. При ХЛЛ уменьшение концентраций в сыворотке фосфора, витамина D и тестостерона ниже референсных значений и накопление продуктов окислительной деструкции липидов в костной ткани способствуют

**Таблица 2.** Показатели окислительного стресса костной ткани у больных ХЛЛ (Me [МКИ])  
**Table 2.** Indicators of oxidative stress of bone tissue in patients with CLL (Me [IQR])

Показатели Indicators	Группа 2 (n = 54) Group 2 (n = 54)	Группа 3 (n = 22) Group 3 (n = 22)	P
<b>СП S ОМБ, у.е./мг белка</b> SP S OMP, c. u./mg protein	9,99 [9,14; 15,07]	20,27 [20,23; 24,79]	0,001
<b>СП S АДНФГ, у.е./мг белка</b> SP S ADNPH, c. u./mg protein	9,21 [8,44; 13,29]	18,54 [18,03; 21,81]	0,001
<b>СП S АДНФГ, уф, у.е./мг белка</b> SP S ADNPH, uv, c. u./mg protein	9,11 [8,33; 12,74]	17,95 [17,22; 20,43]	0,001
<b>СП S АДНФГ, вс, у.е./мг белка</b> SP S ADNPH, vl, c. u./mg protein	0,43 [0,11; 0,65]	0,81 [0,59; 1,11]	0,001
<b>СП S КДНФГ, у.е./мг белка</b> SP S KDNPH, c. u./mg protein	1,16 [0,71; 1,43]	2,21 [1,72; 2,51]	0,001
<b>СП S КДНФГ, уф, у.е./мг белка</b> SP S KDNPH, uv, c. u./mg protein	1,06 [0,71; 1,41]	2,15 [1,69; 2,41]	0,001
<b>СП S КДНФГ, вс, у.е./мг белка</b> SP S KDNPH, vl, c. u./mg protein	0,02 [0,01; 0,06]	0,05 [0,03; 0,09]	0,254
<b>МК S ОМБ, у.е./мг белка</b> MC S OMP, c. u./mg protein	171,32 [146,78; 188,64]	266,84 [247,76; 288,76]	0,001
<b>МК S АДНФГ, у.е./мг белка</b> MC S ADNPH, c. u./mg protein	124,82 [108,38; 132,82]	189,08 [173,64; 203,51]	0,001
<b>МК S АДНФГ, уф, у.е./мг белка</b> MC S ADNPH, uv, c. u./mg protein	86,11 [73,75; 92,15]	128,42 [119,65; 141,63]	0,001
<b>МК S АДНФГ, вс, у.е./мг белка</b> MC S ADNPH, vl, c. u./mg protein	38,72 [31,24; 40,78]	57,94 [53,98; 64,43]	0,001
<b>МК S КДНФГ, у.е./мг белка</b> MC S KDNPH, c. u./mg protein	47,19 [41,21; 55,82]	77,76 [74,12; 85,24]	0,001
<b>МК S КДНФГ, уф, у.е./мг белка</b> MC S KDNPH, uv, c. u./mg protein	43,78 [38,41; 52,05]	72,39 [69,23; 79,64]	0,001
<b>МК S КДНФГ, вс, у.е./мг белка</b> MC S KDNPH, vl, c. u./mg protein	3,73 [3,01; 4,23]	5,36 [4,89; 6,08]	0,001
<b>РАП/RAP, %</b>	93,33 [90,35; 94,71]	62,53 [59,99; 70,56]	0,001
<b>ОАС, ммоль/л</b> TAS, mmol/l.	0,88 [0,81; 1,04]	0,61 [0,49; 0,62]	0,001

Примечания: p — статистически значимые различия между группами по критерию Манна — Уитни, СП — спонтанный режим спектрофотометрии, МК — металл-катализируемый режим спектрофотометрии, S — суммарное содержание продуктов ОМБ, АДНФГ — альдегид-динитрофенилгидразоны, КДНФГ — кетон-динитрофенилгидразоны, уф, у.е./мг — продукты, определяемые в ультрафиолетовой области спектра в единицах оптической плотности на мг белка, вс, у.е./мг — продукты, определяемые в видимой области спектра в единицах оптической плотности на 1 мг белка.  
 Notes: p — statistically significant differences between groups according to the Mann-Whitney test, SP — spontaneous mode, MC — metal-catalyzed mode, S — total content of products OMP, ADNPH — aldehyde-dinitrophenylhydrazones, KDNPH — ketone-dinitrophenylhydrazones, uv, c. u./mg — products determined in the ultraviolet region of the spectrum in units of optical density per mg of protein, vl, c. u./mg — products determined in the visible light in units of optical density per 1 mg of protein.

снижению МПК и развитию остеопении у мужчин в возрасте 50–70 лет [16].

Обнаруженное у больных ХЛЛ увеличение содержания продуктов ОМБ и снижение общего антиоксидантного статуса в костной ткани, а также ассоциации между данными показателями и показателями остеоденситометрии могут отражать влияние окислительного стресса на клетки стромы костной ткани, роль окислительного стресса у больных ХЛЛ в патогенезе остеопении. Опухолевые лимфоциты способны синтезировать большое количество АФК и косвенно усиливать свою антиоксидантную защиту через активацию изоформ супероксиддисмутазы (SOD1 (Cu/Zn SOD), SOD2 (Mn-SOD)), системы тиоредоксина и ферментного каскада, индуцирующего биосинтез и рециркуляцию глутатиона [17]. Показатель ОАС отражает

содержание и/или активность ферментных и неферментных антиоксидантов (альбумин, глутатионы, мочевиная кислота, билирубин, убихинон, витамины А, Е, С, флавоноиды и др.). Особенностью генерации АФК в клетках ХЛЛ являются низкие значения НАДФН-оксидазы 2-го типа, в частности ее каталитической субъединицы gp91phox, а основными источниками АФК выступают митохондрии с высокой степенью окислительного фосфорилирования [18]. Кроме этого, p53 участвует в регуляции метаболизма, аутофагии, ферроптоза, а его мутация может приводить к изменениям реализации антиоксидантного статуса, иммунного и воспалительного ответа [19, 20].

Сигнальные пути, запускаемые АФК, регулируют пролиферацию, рост, дифференцировку и апоптоз клеток, тем самым влияя на продолжительность

**Таблица 3.** Коэффициенты корреляции между показателями денситометрии и окислительного стресса в костной ткани у больных ХЛЛ и признаками остеопении (группа 3)

**Table 3.** Correlation coefficients between densitometry and oxidative stress in bone tissue in patients with CLL and signs of osteopenia (group 3)

Показатели Indicators	T-кр. ШПОБК, СО T-sc. PFN, SD	Z-кр. ШПОБК, СО Z-sc. PFN, SD	МПК ШПОБК, г/см <sup>2</sup> BMD PFN, g/cm <sup>2</sup>
СП S ОМБ, у.е./мг белка SP S OMP, c. u./mg protein	-0,81*	-0,81*	-0,03
СП S АДНФГ, у.е./мг белка SP S ADNPFH, c. u./mg protein	-0,80*	-0,81*	-0,03
СП S КДНФГ, у.е./мг белка SP S KDNPH, c. u./mg protein	-0,05	-0,05	-0,31*
МК S ОМБ, у.е./мг белка MC S OMP, c. u./mg protein	0,12	0,13	-0,38*
МК S АДНФГ, у.е./мг белка MC S ADNPFH, c. u./mg protein	0,13	0,12	-0,38*
МК S КДНФГ, у.е./мг белка MC S KDNPH, c. u./mg protein	0,13	0,12	-0,38*
РАП/RAP, %	R = -0,07	R = -0,01	R = -0,08
ОАС, ммоль/л TAS, mmol/L	R = 0,51*	R = 0,45*	R = 0,51*

Примечания: приведены значения коэффициента корреляции Спирмена (R). \* p < 0,05.

Notes: the values of Spearman's correlation coefficient (R) are given. \* p < 0.05.

жизни остеобластов. Митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК), такие как терминальная киназа с — Jun-N-киназа (JNK), регулируемая внеклеточными сигналами (ERK1/2), и p38 участвуют в апоптозе остеобластов [21]. АФК не только напрямую усиливают дифференцировку остеокластов, но также взаимодействуют с остеобластами, регулируя образование и дифференцировку остеокластов [22].

В совокупности эти данные позволяют предположить, что АФК могут ингибировать дифференцировку остеобластов и, следовательно, образование кости, стимулировать дифференцировку остеокластов и остеокластогенез. Считается, что влияние окислительного стресса на различные типы клеток и их взаимодействие играют важную роль в дисфункции костного гомеостаза, включая остеогенез, индуцированный остеобластами, и активацию остеокластогенеза, тем самым приводя к остеопорозу [22]. В частности, угнетению остеобластогенеза способствуют высокие концентрации АФК (гидроксильный радикал, гидроксид-ион, триплетный кислород, супероксид-анион, пероксид-ион, перекись водорода, оксид азота), активация сигнального пути JNK, усиление экспрессии проапоптотических генов, таких как каспаза-3, лиганд Fas и каспаза-9, что приводит к экспрессии RANKL и дифференцировке остеокластов [21]. Например, перекись водорода стимулирует сигнальный путь ERK в стромальных клетках, что усиливает экспрессию Вах и гиперполяризацию потенциала митохондриальной мембраны, приводит к апоптозу

остеобластов [21]. Клетки ХЛЛ сами могут синтезировать АФК и модифицировать свою антиоксидантную защиту [23]. Прямой контакт стромальных клеток с АФК, генерируемыми злокачественными В-клетками, вызывает изменения в экспрессии генов (аконитаза-2, амило-альфа-1, 6-глюкозидаза, изоцитратдегидрогеназа-1, АТФ-цитратлиаза, фумаратгидратаза-1, гликогенсинтаза-2, сукцинат-КоА-лигаза), метаболически активных ферментов, активируя гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, сдвигая баланс между свободнорадикальным окислением, генерацией АФК и антиоксидантной защитой в стромальных клетках, что ведет к нарушению образования остеобластов, активации остеокластогенеза, снижению МПК и развитию остеопении [24].

Таким образом, у 30% больных ХЛЛ выявлена остеопения в ШПОБК. У больных ХЛЛ и остеопенией в костной ткани наблюдались признаки окислительного стресса: накапливались в спонтанном режиме детекции ранние продукты ОМБ нейтрального и основного характера, поздние продукты нейтрального характера, в индуцированном режиме — ранние и поздние продукты окислительной модификации белков нейтрального и основного характера, снижался РАП, снижался общий антиоксидантный статус. Признаки остеопении в ШПОБК у больных ХЛЛ нарастали по мере увеличения содержания в костной ткани ранних и поздних продуктов ОМБ в спонтанном и в металл-индуцированном режиме детекции, снижения общего антиоксидантного статуса в костной ткани.

## Литература

1. Никитин Е.А., Бялик Т.Е., Зарицкий А.Ю. 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). МЗ РФ, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии». М., 2023. 275 с.
3. Brander M., Oeffinger K.C., Greiner M.A., Dinan M.A. Prevalence, screening, treatment, and complications of osteoporosis and osteopenia in Medicare patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). *J Clin Oncol.* 2020; 38(Suppl 15): e24050. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15\_suppl.e24050.
4. 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.
5. Desai A., Kuritzky B., Castillo J.J., Olszewski A.J. Vertebral Compression Fractures in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia: Incidence and Risk Factors. *Blood.* 2012; 120(21): 4586. DOI: 10.1182/blood.V120.21.4586.4586.
6. Czeglé I., Gray A.L., Wang M., et al. Mitochondria and Their Relationship with Common Genetic Abnormalities in Hematologic Malignancies. *Life.* 2021; 11(12): 1351. DOI: 10.3390/life11121351.
7. Sadeghi M., Fathi M., Navashenaq G.J., et al. The prognostic and therapeutic potential of HO-1 in leukemia and MDS. *Cell Commun Signal.* 2023; 21(1): 57. DOI: 10.1186/s12964-023-01074-8.
8. Barbato A., Scandura G., Puglisi F., et al. Mitochondrial Bioenergetics at the Onset of Drug Resistance in Hematological Malignancies: An Overview. *Front Oncol.* 2020; 10: 604143. DOI: 10.3389/fonc.2020.604143.
9. Kuo C.L., Ponneri Babuhasankar A., Lin Y.C., et al. Mitochondrial oxidative stress in the tumor microenvironment and cancer immunoescape: foe or friend? *J Biomed Sci.* 2022; 29(1): 74. DOI: 10.1186/s12929-022-00859-2.
10. Jomova K., Raptova R., Alomar S.Y., 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.
11. Binet J.L., Auquier A., Dighiero G., et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer.* 1981; 48(1): 198–206. DOI: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v.
12. Leslie W.D., Lix L.M., Johansson H., et al. Spine-hip discordance and fracture risk assessment: a physician-friendly FRAX enhancement. *Osteoporos Int.* 2011; 22(3): 839–47. DOI: 10.1007/s00198-010-1461-5.
13. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации; ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава. Рязань: РИО РязГМУ, 2014. 60 с.
14. Белая Ж.Е., Белова К.Ю., Бiryukova Е.В. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза. Остеопороз и остеопатии. 2021; 24(2): 4–47. DOI: 10.14341/osteo12930.
15. Giannoni P., Marini C., Cutrona G., et al. Unraveling the Bone Tissue Microenvironment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers.* 2023; 15(20): 5058. DOI: 10.3390/cancers15205058.
16. Осиков М.В., Коробкин Е.А., Димов Г.П. Продукты перекисидации липидов в костной ткани как маркеры остеопении у больных с хроническим лимфолейкозом. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2024; 68(1): 48–54. DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.48-54.

## References

1. Nikitin E.A., Bialik T.E., Zaritsky A.Y., et al. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocyte lymphoma. Clinical recommendations. *Modern Oncology.* 2020; 22(3): 24–44 (In Russian). DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385.
2. Kaprin A.D., Starinskij V.V., Shahzadova A.O., Lisichnikova I.V. Malignant neoplasms in Russia in 2022 (morbidity and mortality); National Medical Research Radiological Centre of the Ministry Of Health of the Russian Federation. Moscow, 2023. 275 p. (In Russian).
3. Brander M., Oeffinger K.C., Greiner M.A., Dinan M.A. Prevalence, screening, treatment, and complications of osteoporosis and osteopenia in Medicare patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). *J Clin Oncol.* 2020; 38(Suppl 15): e24050. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15\_suppl.e24050.
4. 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.
5. Desai A., Kuritzky B., Castillo J.J., Olszewski A.J. Vertebral Compression Fractures in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia: Incidence and Risk Factors. *Blood.* 2012; 120(21): 4586. DOI: 10.1182/blood.V120.21.4586.4586.
6. Czeglé I., Gray A.L., Wang M., et al. Mitochondria and Their Relationship with Common Genetic Abnormalities in Hematologic Malignancies. *Life.* 2021; 11(12): 1351. DOI: 10.3390/life11121351.
7. Sadeghi M., Fathi M., Gholizadeh Navashenaq J., et al. The prognostic and therapeutic potential of HO-1 in leukemia and MDS. *Cell Commun Signal.* 2023; 21(1): 57. DOI: 10.1186/s12964-023-01074-8.
8. Barbato A., Scandura G., Puglisi F., et al. Mitochondrial Bioenergetics at the Onset of Drug Resistance in Hematological Malignancies: An Overview. *Front Oncol.* 2020; 10: 604143. DOI: 10.3389/fonc.2020.604143.
9. Kuo C.L., Ponneri Babuhasankar A., Lin Y.C., et al. Mitochondrial oxidative stress in the tumor microenvironment and cancer immunoescape: foe or friend? *J Biomed Sci.* 2022; 29(1): 74. DOI: 10.1186/s12929-022-00859-2.
10. Jomova K., Raptova R., Alomar S.Y., 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.
11. Binet J.L., Auquier A., Dighiero G., et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer.* 1981; 48(1): 198–206. DOI: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v.
12. Leslie W.D., Lix L.M., Johansson H., et al. Spine-hip discordance and fracture risk assessment: a physician-friendly FRAX enhancement. *Osteoporos Int.* 2011; 22(3): 839–47. DOI: 10.1007/s00198-010-1461-5.
13. Fomina M.A., Abalenikhina Yu.V. A method for a comprehensive assessment of the content of products of oxidative modification of proteins in tissues and biological fluids: methodological recommendations; Ryazan State Medical University – Ryazan: RIO RyazGMU; 2014. 60 p. (In Russian).
14. Belaya J.E., Belova K.Y., Biryukova E.V., et al. Federal clinical recommendations on diagnostics, treatment and prevention of osteoporosis. *Osteoporos I Osteopathii.* 2021; 24(2): 4–47 (In Russian). DOI: 10.14341/osteo12930.
15. Giannoni P., Marini C., Cutrona G., Sambuceti GM, et al. Unraveling the Bone Tissue Microenvironment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers.* 2023; 15(20): 5058. DOI: 10.3390/cancers15205058.
16. Osikov M.V., Korobkin E.A., Dimov G.P. Products of lipid peroxidation in bone tissue as markers of osteopenia in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2024; 68(1): 48–54 (In Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.48-54.

17. Pagano M.A., Frezzato F., Visentin A., et al. Protein Phosphorylation and Redox Status: An as Yet Elusive Dyad in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers*. 2022; 14(19): 4881. DOI: 10.3390/cancers14194881.
18. Darwiche W., Gomila C., Ouled-Haddou H., et al. Ascorbic acid (vitamin C) synergistically enhances the therapeutic effect of targeted therapy in chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Clin Cancer Res*. 2020; 39(1): 228. DOI: 10.1186/s13046-020-01738-0.
19. Krishnaraj J., Yamamoto T., Ohki R. p53-Dependent Cytoprotective Mechanisms behind Resistance to Chemo-Radiotherapeutic Agents Used in Cancer Treatment. *Cancers*. 2023; 15(13): 3399. DOI: 10.3390/cancers15133399.
20. Corazzari M., Collavin L. Wild-type and mutant p53 in cancer-related ferroptosis. A matter of stress management? *Front Genet*. 2023; 14: 1148192. DOI: 10.3389/fgene.2023.1148192.
21. Zhu C., Shen S., Zhang S., et al. Autophagy in Bone Remodeling: A Regulator of Oxidative Stress. *Front Endocrinol*. 2022; 13: 898634. DOI: 10.3389/fendo.2022.898634.
22. Marques-Carvalho A., Kim H.N., Almeida M. The role of reactive oxygen species in bone cell physiology and pathophysiology. *Bone Rep*. 2023; 19: 101664. DOI: 10.1016/j.bonr.2023.101664.
23. Sciacotta R., Gangemi S., Penna G., et al. Potential New Therapies "ROS-Based" in CLL: An Innovative Paradigm in the Induction of Tumor Cell Apoptosis. *Antioxidants*. 2024; 13(4): 475. DOI: 10.3390/antiox13040475.
24. von Heydebrand F., Fuchs M., Kunz M., et al. Protein kinase C- $\beta$ -dependent changes in the glucose metabolism of bone marrow stromal cells of chronic lymphocytic leukemia. *Stem Cells*. 2021; 39(6): 819–30. DOI: 10.1002/stem.3352.

### Информация об авторах

**Осиков Михаил Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; руководитель научного отдела ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»,  
e-mail: prof.osikov@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

**Коробкин Егор Александрович\***, ассистент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; врач-гематолог ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»,  
e-mail: doktore77@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7241-1325>

**Коробкин Александр Владимирович**, кандидат медицинских наук, главный внештатный гематолог Челябинской области, заведующий отделением гематологии и химиотерапии ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»,  
e-mail: akoro@rambler.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4922-3742>

\* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 15.11.2024

Принята к печати: 02.12.2024

### Information about the authors

**Mikhail V Osikov**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Pathophysiology Department at the South State Medical University, Head of scientific department at the Chelyabinsk Regional Clinical Hospital,  
e-mail: prof.osikov@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

**Egor A. Korobkin\***, Assistant Professor of Pathophysiology Department at the South State Medical University; Hematologist at the Chelyabinsk Regional Clinical Hospital,  
e-mail: doktore77@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7241-1325>

**Alexander V. Korobkin**, Cand. Sci. (Med.), Chief freelance hematologist of the Chelyabinsk region, Head of the Hematology Department of the Chelyabinsk Regional Clinical Hospital,  
e-mail: akoro@rambler.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4922-3742>

\* Corresponding author

Received 15 Nov 2024

Accepted 02 Dec 2024