

ВИТАМИН К2 И ВИТАМИН D: ВЛИЯНИЕ ВЪРХУ КОСТНИЯ ТЪРНОВЪР ПРИ ЖЕНИ С ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА ОСТЕОПОРОЗА

Т. Симеонова¹, К. Стефанова², Б. Игнатов¹, К. Костов¹

¹Катедра физиология и патофизиология, Медицински университет – Плевен

²Диагностично-консултативен Център II – Плевен

Резюме. Въведение: Витамините К2 и D играят централна роля в метаболизма на калция и си взаимодействат синергично в поддържането на здравето на костите и сърдечно-съдовата система. Витамин D стимулира синтеза на протеини, които се активират от витамин К2-зависимо карбоксилиране. Ефектите на витамин К2 върху калциевия метаболизъм, костния търновър и потенциалната му роля в превенцията и лечението на остеопорозата не са напълно изяснени. **Цел:** Да изследваме нивата на витамините К2 и D при пациентки с ОП и жени в менопауза и да проучим влиянието им върху костния търновър. **Материал и методи:** Изследвани бяха 48 жени в менопауза, разпределени в две групи след измерване на КМП на гръбнака с ДХА: работна група, 26 жени с ОП на възраст 65.62 ± 9.2 г. и контролна група от 22 жени без ОП на възраст 63.55 ± 8.7 г. Бяха измерени плазмените концентрации на калций, фосфати, АФ, витамин D, ПТХ, ОС, усОС. Витамин К2 статусът беше оценен индиректно чрез съотношението усОС/ОС. **Резултати:** Измерените показатели не показват сигнификантни разлики в двете групи. И в двете групи съотношението усОС/ОС е високо и показва дефицит на витамин К2. Нивата на витамин D показват недостатъчност. В групата с ОП, ОС показва позитивна корелация с витамин D ($p = 0.015$) и с АФ ($p = 0.025$). УсОС показва позитивна корелация с витамин D ($p = 0.033$). УсОС/ОС показва висока негативна корелация с ОС ($p < 0.001$) и негативна корелация с АФ, ($p = 0.043$). **Заключение:** Данните ни показват лош витамин К2 и D статус. В групата с постменопаузална ОП двата витамина повлияват костния търновър чрез взаимосвързаните нива на ПТХ, АФ и ОС, което потиска функцията на остеобластите и нарушава баланса между костно образуване и резорбция в полза на резорбцията.

Ключови думи: постменопаузална остеопороза, витамин К2, витамин D, остеокалцин, некарбоксилиран остеокалцин

Увод

Адекватното хранене играе основна роля в профилактиката и лечението на остеопорозата (ОП), а от хранителните вещества най-важни са калций и витамин D. В много страни суплементацията с калций самостоятелно или в комбинация с витамин D се препоръчва в схемите за профилактика и лечение поради предполагаемата им способност да поддържат здравето на костите и да повишават костната минерална плътност (КМП). Но при жени в менопауза често се среща едновременно развитие на ОП и артериална калцификация, наречено „калциев парадокс“ [1]. Научни доказателства свързват приема на добавките с калций с по-висок риск от сърдечно-съдови заболявания, атеросклероза, стенокардия и миокарден инфаркт, което обезсмисля всяка тяхна полза за костното здраве [2]. Процесите на вкалчяване в атероматозните плаки са подобни на тези, наблюдавани при костното ремоделира-

не, включват общи регулатори и се предполага, че един механизъм може да причинява двете заболявания. Публикации в научната литература предполагат, че витамин К2 и възможният му дефицит са свързващото звено между калциевите добавки и увеличения сърдечно-съдов риск [3].

Витамин К2 участва в регулацията на много жизнени процеси, но все още не са изяснени напълно физиологичните му ефекти и механизмите за повлияване на калциевия метаболизъм, както и потенциалната му роля за поддържане на костното здраве и развитието на ОП. Има доказателства, че такова широко участие е пряко свързано с основната му роля да поддържа стабилни нива на калций в множество биологични пътища и физиологични процеси [4]. Участието в калциевия метаболизъм е свързано с витамин К-зависимите протеини. Витамин К е кофактор на ензима γ -глутамил карбоксилаза, който катализира карбоксилирането на остатъците от глутаминова киселина (Glu) във витамин К-зависимите про-

теини до γ -карбоксиглутаминова киселина (Gla) и ги прави функционално активни [5]. В костите и кръвоносните съдове остеокалцинът (OC) и матриксният Gla-протеин (MGP) регулират калциевата хомеостаза.

Остеокалцинът се синтезира и секретира почти изключително от остеобластите, отговорни за синтеза и минерализацията на костния матрикс по време на развитието на скелета и неговата периодична регенерация [6]. Витамин K2 участва и в активирането на други 11 или 12 протеина, които играят различни роли в модулирането на калцификацията на съединителната тъкан. Тъй като този процес е физиологично необходим в костите, но е патологичен в артериите, много изследвания са посветени на намирането на възможна връзка между витамин K2 и превенцията на ОП и сърдечно-съдовите заболявания [7].

В съвременната научна литература се срещат все повече данни за лош витамин K2 статус и свързани с него неблагоприятни ефекти върху костния и съдовия метаболизъм. Директното измерване на нивата на витамин K в кръвта има ограничения както за изследователски цели, така и в клиничната практика, защото молекулата му е малка и се открива само във високи концентрации [8]. При дефицит на витамин K2 в серума се повишават некарбоксилираните фракции на OC (ucOC) и MGP (ucMGP), които представят по-добре функционалния му статус [9]. Съотношението ucOC/OC днес се приема за по-добър индикатор на витамин K2 статуса от ucOC и се използва по-широко в клинични условия поради по-добрата възможност за сравняване на получените данни. На базата на проведени проучвания върху хранителния прием на витамин K2, стойности на ucOC/OC $\geq 20\%$ са индикатор за дефицит [10]. В документ, публикуван през 2017 г., Европейската група по безопасност на храните потвърждава тези стойности [11].

Целта на нашето проучване беше да получим данни за витамин K2 и витамин D статуса на жени в менопауза и с ОП и да проучим влиянието им върху костния търновър, оценен с някои биомаркери.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Клиничен контингент

Изследвани бяха 48 жени в менопауза. Всички участнички подписаха информирано съгласие. Диагнозата беше поставена след измерване на КМП на прешлените в лумбалния отдел на гръб-

начния стълб чрез ДХА. Оформянето на групите се извърши според стандартите на СЗО, а КМП се определи, както следва:

- Нормална костна минерална плътност: Т-скор над -1.0 SD включително;
- Остеопения: Т-скор между -1.0 SD и -2.5 SD;
- Остеопороза: Т-скор ≤ -2.5 SD;
- Тежка остеопороза: Т-скор ≤ -2.5 SD + фрактура.

Критерии за включване на участничките в работната група

Участничките бяха разделени в работна и контролна група:

- Възраст ≥ 45 години;
- Настъпила менопауза;
- Анамнестични и клинични данни за липса на заболявания, водещи до вторична ОП;
- Доказана постменопаузална ОП чрез изследване на КМП с ДХА;
- Непровеждано до момента на диагнозата лечение за ОП, включително суплементация с витамин D, K2 и калциеви препарати.

Критерии за включване на участничките в контролната група

- Възраст ≥ 45 години;
- Настъпила менопауза;
- Доказана липса на ОП чрез изследване на КМП с ДХА;
- Непровеждана до момента на изследването суплементация с витамин D, K2 и калциеви препарати.

На всички участнички бяха направени антропометрични измервания. Телесното тегло и ръстът бяха измерени с калибрирана везна и ръстomer. От телесното тегло в килограми и ръста в квадратни метри се изчисли индексът на телесната маса (ИТМ) по формулата: $ИТМ = \text{kg/m}^2$.

Лабораторни изследвания

Изследванията се проведеха в периода от октомври до март. За избягване на циркадната вариабилност пробите венозна кръв бяха събирани сутрин между 8.00 и 9.30 часа, след 12-часово гладуване и изследвани в сертифицирана медицинско-диагностична клинична лаборатория.

Калций, фосфор, алкална фосфатаза – използвана беше 5 ml венозна кръв, взета в стерилни вакутейнери за серум, отделен чрез центрофугиране. Пробите бяха изследвани в деня на вземането с биохимичен анализатор Cobas C 311, Roche Diagnostics.

Паратхормон, витамин D, остеокалцин – използвана беше 5 ml венозна кръв, взета в

стерилни вакутейнери за серум, отделен чрез центрофугиране. Пробите бяха изследвани в деня на вземането с електро-хемилюминисцентен имуноанализ на имунологичен анализатор Cobas E 411, Roche Diagnostics. Използвани бяха съответно Elecsys PTH с чувствителност 1.20-5.00 pg/ml или 0.127-530 pmol/ и Elecsys Vitamin D total Roche Diagnostics kits с чувствителност 3.00-100 ng/ml или 7.50-250 nmol/l, Elecsys N-MID Osteocalcin Roche Diagnostics kit с чувствителност 0.500-300 ng/ml.

Нивата на витамин D са интерпретирани според критериите на Българското дружество по ендокринология:

- Тежък дефицит на витамин D – под 25 nmol/l;
- Недостатъчност на витамин D – 25-50 nmol/l;
- Нормално ниво на витамин D – над 50-120 nmol/l.

Некарбоксилиран остеокалцин: Използвана беше венозна кръв 3 ml в стерилни вакутейнери за хематология. Пробите за изследване след центрофугиране и отделяне на плазмата бяха замразени и съхранявани при -80°C . Концентрациите бяха измерени с Human Undercarboxylated Osteocalcin (ucOC) ELISA Kit (Abbexa, UK), с тестови граници 6.25-400 pg/ml и чувствителност – 3.75 pg/ml.

Витамин К2 статус: Оценен беше индиректно чрез процентното съотношение ucOC/OC. Стойности на ucOC/OC $\geq 20\%$ са индикатор за хранителен дефицит на витамин К2.

Статистически методи: данните бяха въведени и обработени със статистическите програмни продукти SPSS v23.0 и Microsoft Office Excel 2003.

Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови величини. Непрекъснатите променливи са изразени като средна стойност на величината ($\bar{X}$) $\pm$ стандартно отклонение (SD). Данните са тествани за нормалност на разпределението чрез тестовите на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Уилк (Shapiro-Wilk). Статистическата обработка е съобразена с вида на данните (номинални, ординални, интервални) и разпределението на величините. За статистически достоверни при различните анализи са приети стойности на $p < 0.05$. Използвани са методи на дескриптивен, сравнителен и корелационен анализ. При сравняването на групите най-често е използвана средната стойност на величините ($\bar{X}$) $\pm$ стандартното отклонение (SD) като показател за вариабилността на изслед-

вания фактор или стойностите на медианите в зависимост от типа на разпределение. При нормално разпределение на данните, значимостта на разликите между групите е установена с еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA) и постхок тест на Туки (Tukey), Т-тест (t-test) за независими извадки. При данни, отклоняващи се от нормалното разпределение, за сравнение са използвани непараметричните тестове на Крушкел-Уолис (Kruskal-Wallis) за повече от две извадки и на Ман-Уитни (Mann-Whitney) за две независими извадки. В зависимост от разпределението на данните бяха използвани корелационният анализ на Пирсън (Pearson) и ранговата корелация на Спирмън ро (Spearman's rho). Степента на корелациите е оценена според корелационния коефициент (r) при 5-степенна скала като: слаба ($r < 0.3$), умерена ($0.3 < r < 0.5$), значителна ($0.5 < r < 0.7$), висока ($0.7 < r < 0.9$) и много висока ($0.9 < r < 1$).

РЕЗУЛТАТИ

След проведеното чрез ДХА измерване на КМП в лумбалния отдел на гръбначния стълб участничките с постменопаузална ОП и Т-скор равен или по-нисък от -2.5 SD бяха включени в работната група ($n = 26$). Участничките без ОП и Т-скор по-висок от -2.5 SD в контролната група ($n = 22$). Средната възраст, концентрациите на калций, фосфати, АФ, ОС, ucOC, ucOC/OC, витамин D, ПТХ, ИТМ и КМП са представени в табл. 1.

Нивата на калция, фосфатите, АФ и ОС в работната и контролната групи са в референтните граници на използваните комплекти. Съотношението ucOC/OC показва стойности над приетите за норма 20% при всички изследвани жени, като най-ниската стойност в групата с ОП е 30.04%, а в контролната група 36.31%. Резултатите показват лош витамин К2 статус и при двете групи. Средните нива на витамин D показват недостатъчност и в двете групи. ПТХ в групата с ОП е в повишени стойности/норма до 65 pg/ml. Сравнението между групите не показва статистически значими различия ($p > 0.05$). Пациентките с ОП са с нормално телесно тегло в сравнение с контролите, които са с наднормено телесно тегло и разликите в ИТМ на двете групи са статистически значими ($p < 0.001$). Очаквана статистически значима разлика се наблюдава и в средната КМП ($p < 0.001$).

Концентрациите на ОС, ucOC и ucOC/OC на жените от работната и контролната група, разпределени по декади, са показани на табл. 2.

Таблица 1. Концентрации на калций, фосфати, АФ, ОС, ucOC , ucOC/OC , АФ, витамин D, ПТХ, ИТМ и КМП в работната и контролната група

	Остеопороза	Контроли	Ниво на значимост
Възраст	65.62±9.2	63.55±8.7	p=0.670
Ca – mmol/l	2.47±0.11	2.51±0.12	p=0.220
Pi – mmol/l	1.19±0.19	1.17±0.14	p=0.701
АФ – U/l	86.77±48.78	95.5±50.48	p=0.383
ОС – ng/ml	23.41±10.08	23.09±6.94	p=0.605
ucOC – ng/ml	17.33±3.38	17.69±3.92	p=0.700
ucOC/OC – %	77.36±22.27	83.63±29.27	p=0.709
Витамин D – nmol/l	48.09±19.41	48.34±23.1	p=0.943
ПТХ – pg/ml	67.89±39.56	64.99±25.12	p=0.911
ИТМ – kg/m ²	24.56±3.88	29.84±5.45	p<0.001***
КМП – Т – скор	-2.98±0.52	-0.21±0.85	p<0.001***

Резултатите са представени като средна стойност ± SD. Статистически значима разлика p<0.001***.

Таблица 2. Концентрации на ОС, ucOC и процентно съотношение ucOC/OC на жените от работната и контролната група, разпределени по декади

Възраст	ОС		ucOC		ucOC/OC	
	ОП	Контроли	ОП	Контроли	ОП	Контроли
до 59 г	29.7±13.55	27.8±5.23	17.5±2.74	16.14±3.32	66.5±22.11	59.1±11.71
60-69 г.	20.58±3.03	20.85±7.01	15.15±2.87	16.7±2.69	73.95±10.6	88.61±30.62
70-79 г.	26.49±9.85	24.57±4.67	16.94±2.46	23.17±5.77	68.24±16.01	96.6±29.9
над 80 г.	16.92±0	21.92±0	16.82±0	15.46±0	99.4±0	70.5±0

Резултатите са представени като средна стойност ± SD. Концентрациите на остеокалцин (ОС) и некарбоксилиран остеокалцин (ucOC) са представени в ng/ml, а съотношението ucOC/OC в проценти.

Сравнението на показателите по декади в групата с ОП показва статистически значими различия в концентрациите на ОС (p = 0.01) и липса на статистически значими различия в концентрациите на ucOC (p = 0.906) и съотношението ucOC/OC (p = 0.376). Пост-хок тестовете показваха статистически значимо по-високи концентрации на ОС в групата жени до 59, в сравнение с жените на възраст 60-69 години (p = 0.006) и над 80 (p = 0.017). При контролите не се намериха статистически значими разлики в концентрациите на ОС (p = 0.172), ucOC (p = 0.085), при жените в различните възрастови групи.

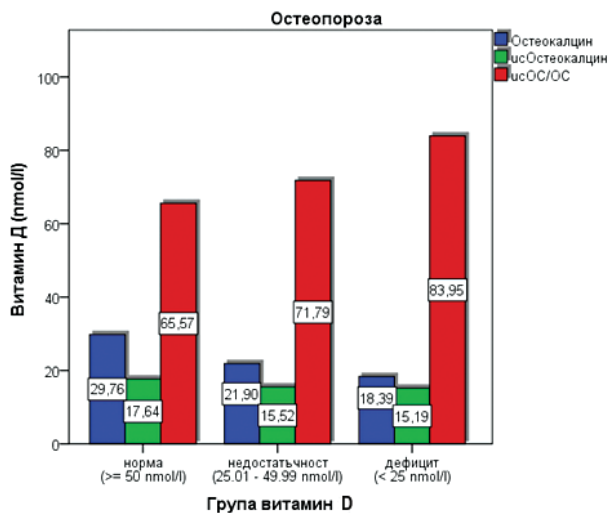
Нарастване на съотношението ucOC/OC с напредване на възрастта се забелязва и в работната, и в контролната група, но разликите са статистически значими само в контролната група. Жените на възраст до 59 г. имат значимо по-ниско съотношение ucOC/OC от жените на възраст 60-69 (p = 0.031) и 70-79 години (p = 0.048).

Сравнението в различните възрастови групи между жените от работната и контролната група не

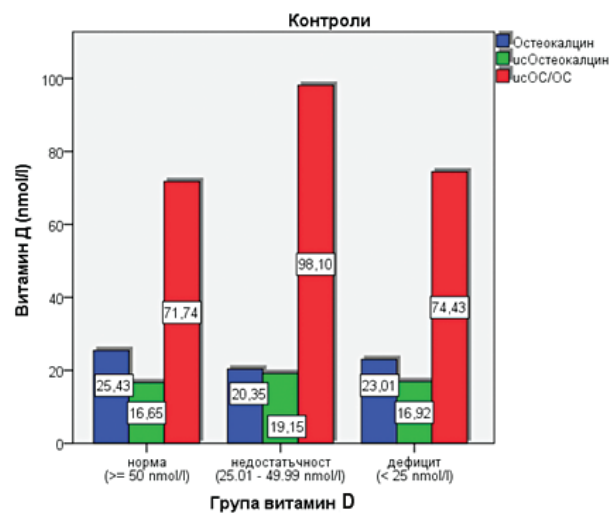
установи статистически значими различия в концентрациите на ОС, ucOC и ucOC/OC , (p > 0.05).

Средните концентрации на ОС, ucOC и съотношението ucOC/OC при различни нива на витамин D в групата с ОП са показани на фиг. 1. Концентрациите на ОС при различни нива на витамин D постепенно намаляват и разликата е статистически значима (p = 0.036). Пост-хок тестовете показаха статистически значимо по-високи концентрации на ОС при жените с нормални нива на витамин D спрямо жените с дефицит (p = 0.015). Средните концентрации на ucOC намаляват постепенно, а съотношението ucOC/OC нараства, но разликите не са статистически значими (p > 0.05).

Средните концентрации на ОС, ucOC и съотношението ucOC/OC при различни нива на витамин D в групата контроли са показани на фиг. 2. В контролната група не установихме статистически значими различия в концентрациите на ОС и ucOC (p > 0.05) при различни нива на витамин D. Статистически значими разлики се наблюдават в съотношението ucOC/OC (p = 0.047), а пост-хок тестовете показаха статистически значимо по-ниски нива в съотношението (p = 0.020) при жените с норма в сравнение с тези с недостатъчност на витамин D.



Фиг. 1. Средни стойности на серумния ОС, ucОС и ucОС/ОС при жените от работната група с различни нива на витамин D. Статистически значими различия в концентрациите на ОС се наблюдават при жените с норма и дефицит на витамин D, $p < 0.05$

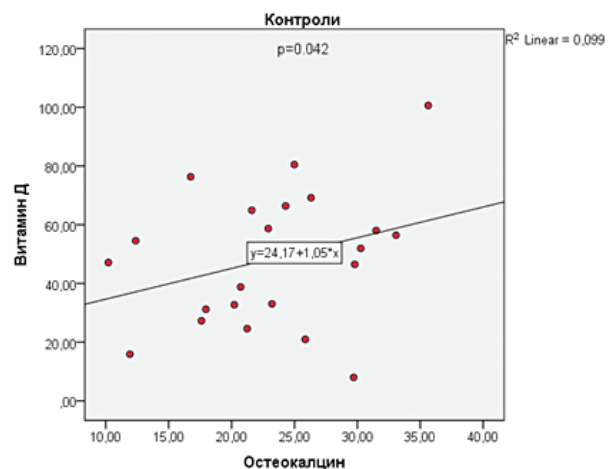
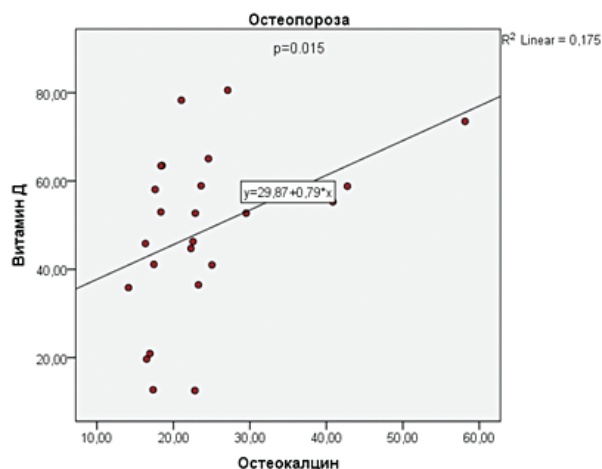


Фиг. 2. Средни стойности на серумния ОС, ucОС и ucОС/ОС при жените от контролната група с различни нива на витамин D. Статистически значими различия в съотношението ucОС/ОС се наблюдават при жените с норма и недостатъчност на витамин D, $p < 0.05$

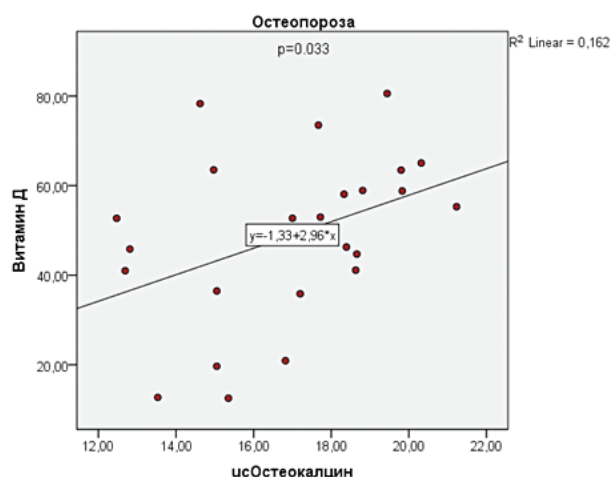
Установихме умерена по сила негативна корелационна зависимост между витамин D и ПТХ в групата с ОП ($r = -0.421$; $p = 0.004$) и значителна по сила в контролната група ($r = -0.618$; $p = 0.003$). Нивата на витамин D и ОС показват умерена по сила позитивна корелация и в групата с ОП ($r = 0.492$; $p = 0.015$) и в контролната група ($r = 0.418$; $p = 0.042$) (фиг. 3 и 4).

В групата с ОП нивата на витамин D показват умерено позитивна корелация и с концентрациите на ucОС ($r = 0.437$; $p = 0.033$) (фиг. 5).

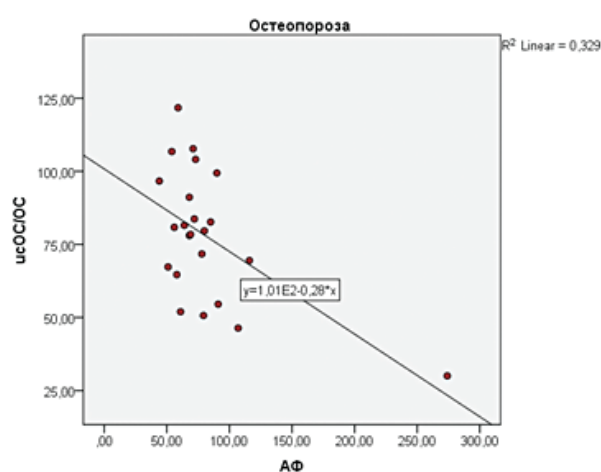
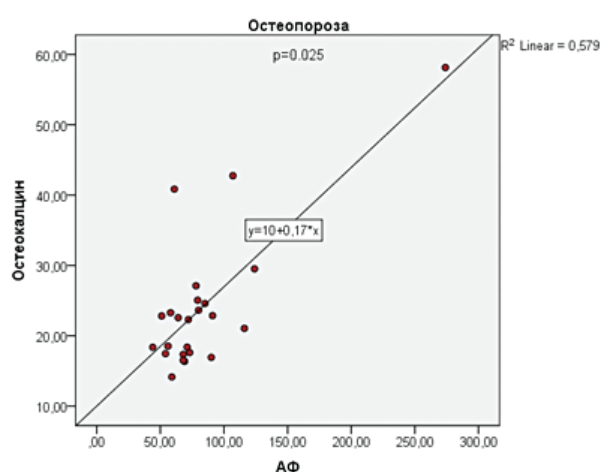
В групата с ОП серумните концентрации на ОС показват умерени по сила негативни корелационни зависимости с намаляване на концентрацията при нарастване на възрастта ($r = -0.440$; $p = 0.025$) и ИТМ ($r = -0.496$; $p = 0.010$). Установихме и умерени по сила позитивна корелационна зависимост между ОС и АФ ($r = 0.457$; $p = 0.025$) (фиг. 6), негативна корелационна зависимост между ucОС/ОС и АФ ($r = -0.416$; $p = 0.043$) (фиг. 7) и значителна по сила позитивна корелация с ИТМ ($r = 0.557$; $p = 0.011$).



Фиг. 3 и 4. Позитивна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин D и ОС в работната и контролната групи



Фиг. 5. Умерена позитивна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин D и ucOC в работната група



Фиг. 6 и 7. Умерена позитивна корелационна зависимост между ОС и АФ и умерена негативна корелационна зависимост между ucOC/OC и АФ в групата жени с ОП

Съотношението ucOC/OC показва висока негативна корелация с ОС както в групата с ОП ($r = -0.772$; $p < 0.001$), така и в контролната група ($r = -0.839$; $p < 0.001$).

В работната група не се установиха значими корелационни зависимости между витамин D и ИТМ, КМП, калция, фосфора, АФ, ucOC/OC ($p > 0.05$). В контролната група също не се установиха значими корелационни зависимости между витамин D и ИТМ, КМП, калция, фосфора, АФ, ucOC, ucOC/OC ($p > 0.05$).

ОБСЪЖДАНЕ

Поддържането на калциево-фосфатната хомеостаза се базира на сложна, строго регулирана система, включваща много йони и хормони. Витамин D и ПТХ са двата основни регулатора на минералния метаболизъм и образуват строго контролиран цикъл на обратна връзка, като ПТХ е основен сти-

мулатор на синтеза на витамин D в бъбреците, а витамин D упражнява отрицателна обратна връзка върху секрецията на ПТХ [12]. Намерените от нас серумни концентрации на калций и фосфати бяха в референтни стойности и в двете изследвани групи, при повишени концентрации на ПТХ само в групата с ОП. Концентрациите на калция в групата с ОП са по-ниски, а на фосфатите по-високи в сравнение с контролната група, без разликите да достигнат статистическа значимост. Известно е, че нивата на ПТХ често се повишават в напреднала възраст, което може да бъде обяснено с възрастово обусловеното постепенно намаляване на нивата на серумния калций, а нарастването на ПТХ при възрастните хора се определя като вторичен хиперпаратиреоидизъм. Изглежда, поддържането на нормални плазмени нива на калций при жените с ОП е свързано с хронично повишена секреция на ПТХ с неблагоприятни ефекти върху костната резорбция.

Витамин D стимулира абсорбцията на калций в червата и участва в костния растеж и костното ремоделиране от остеобласти и остеокласти [13]. Витамин D е повече от обикновен мастноразтворим витамин – той е истински хормон с голямо значение за костно-мускулната система и за много други тъкани и биологични процеси в човешкия организъм [14]. Дефицит под 50 nmol/l ускорява костния обмен, костната загуба и все още се приема за рисков фактор в развитието на ОП и фрактури [15]. Още не е напълно изяснено дали оптималните нива на витамин D повишават КМП и намаляват фрактурния риск, както и дали упражняват допълнителни мускулно-скелетни ефекти, тъй като някои метаанализи на рандомизирани клинични проучвания поставят под въпрос тези предложени по-рано ефекти, а данните, получени в различни географски региони, са противоречиви [16]. Ние намерихме нива на витамин D, показващи недостатъчност без статистически значима разлика, и в групата с ОП и при контролите (табл. 1) и потвърдихме съобщаваната от други автори негативна корелационна зависимост между стойностите на витамин D и ПТХ [17, 18, 19].

Костта при възрастните се ремоделира непрекъснато, за да възстанови настъпили микро-увреждания, да запази механичната си здравина и издръжливост и за поддържане на калциевата хомеостаза. Биохимичните маркери за костен търновър предоставят динамична информация по отношение на скелетния статус, който е независим от КМП и се препоръчва да съпътства и допълва нейните измервания. В България изследването БКМ още не е навлязло рутинно в клиничната практика и до момента липсва опит от използването му при жени с постменопаузална ОП, а публикуваните данни за нивата им до момента са оскъдни. Ние изследвахме серумните концентрации на алкална фосфатаза, един от най-старите, но достъпни за изследване маркери за костно образуване и остеокалцин, който се приема за маркер за остеобластната функция и качество на костта.

Остеокалцинът играе важна роля в метаболитната регулация, костната минерализация и хомеостазата на калциевите йони и се счита за специфичен маркер за остеобластната функция, тъй като е доказано, че неговите нива корелират със скоростта на образуване на кост [20]. Остеобласт-специфичната експресия на ОС се контролира на транскрипционно ниво от витамин D чрез съответни витамин D-зависими промотори на остеокалциновите гени [21]. Съдържанието на ОС

в костния матрикс се увеличава до 45-годишна възраст, след това достига плато и относително стабилно ниво за следващите 10 години, а след достигане на 55-годишна възраст се наблюдава намаление на ОС. Като се има предвид, че ОС отразява активността на остеобластите, значителният спад в нивото му показва намалено костно образуване [22]. Нашето проучване показва, че концентрациите на ОС при жените на възраст до 59 г. са статистически значимо по-високи спрямо концентрациите на ОС при жените на възраст между 60-69 и над 80 год. само в групата с ОП, но не и в контролната група (табл. 2). В групата с ОП установихме и положителна корелация между нивата на ОС и АФ (фиг. 6). Остеобластите произвеждат и секретират големи количества колаген, който образува фибриларна мрежа, заедно с другите неколагенни белтъци. Тези белтъци играят роля в последващото отлагане на минерали под формата на хидроксиапатитни кристали. Основните етапи на остеобластогенезата са пролиферация, узряване на матрикса и минерализация и се характеризират с последователно изразени отличителни остеобластни маркери. Ранната диференциация на остеобластите се определя от експресията на високи нива на АФ, а късната диференциация се характеризира с експресията на остеокалцин и остеоопонтин [23]. По-високите концентрации на ОС при жените с ОП до 59-годишна възраст, както и положителната корелация между двата маркера, отразяват повишената остеобластна активност, увеличението на костен търновър, който се асоциира с ускорената загуба на трабекуларна кост в перименопаузалния период. Установените от нас негативни корелации с намаляване на серумните нива на ОС с нарастване на възрастта в групата с ОП, но не и в контролната група са белег за намаляване на остеобластната функция с намаляване на костното образуване и влошаване качеството на костта при жените с ОП.

Въпреки очевидната взаимовръзка между витамин D и ОС и големият интерес на изследователите, много малко резултати от рандомизирани клинични проучвания при хора я доказват, особено при жени с постменопаузална ОП. Guney et al. съобщават за значителна положителна корелация между нивата на витамин D и ОС при здрави жени в менопауза [24]. Alissa et al. изследват връзката между серумния ОС и статуса на витамин D при жени в менопауза и съобщават значителна отрицателна корелация между ОС и хранителния прием на витамин D във всички

изследвани подгрупи [25]. При жените с ОП ние намерихме статистически значимо по-високи концентрации на ОС в подгрупата с нормални нива на витамин D в сравнение с подгрупата с дефицит (фиг. 1). Установените от нас позитивни корелации с повишаване на нивата на ОС при повишение на витамин D и в работната, и в контролната група потвърждават взаимовръзката между тях (фиг. 3 и 4).

Витамините D и K2 имат синергичен ефект върху костите и сърдечно-съдовата система. И двата витамина са мастноразтворими и играят централна роля в метаболизма на калция. Витамин D стимулира генната експресия и синтеза на незрялата и функционално неактивна форма – ucOC, а витамин K2 е необходим за трансформирането на ucOC в зрял функционално активен карбоксилиран ОС. Адекватните нива на витамин D са необходими за адекватен синтез на ОС. В групата с ОП ние установихме умерено позитивна корелация между витамин D и ucOC (фиг. 5) – сценарий, при който повишеното костно обновяване и производството на ОС не са съчетани с адекватно карбоксилиране поради недостатъчност на витамин K2 или други фактори.

Витамин K2 е многофункционален витамин, който фокусира голямо внимание заради ефикасността си за подобряване на костния обмен. Той подпомага образуването на кост чрез стимулиране на остеобластната диференциация и повишава нивата на някои маркери за образуване на кост, като АФ и инсулиноподобният растежен фактор-1 [26] и регулира минерализацията на извънклетъчния матрикс чрез γ -глутамил карбоксилирането на ОС [27]. Освен това витамин K2 намалява костната резорбция чрез своите антикатаболни ефекти, а именно намаляване на диференциацията на остеокластите и инхибиране на остеобластната апоптоза [26]. Тези ефекти се смятат за потвърдени в животински модели и клетъчни култури, но предстои да бъдат потвърдени в рандомизирани клинични проучвания и при хора [23]. Резултати от различни клинични проучвания показват, че при съвременния начин на хранене консумацията на витамин K намалява постепенно и дори добре балансираната диета не може да осигури витамин K в количества, достатъчни за задоволяване нуждите на организма [28]. В научната литература данните за оценка на нивата на витамин K2 при жени в менопауза и такива с ОП са недостатъчни. Известно е, че нуждите от витамин K2 нарастват с напредването на възрастта, като механизмът не е точно установен, но веро-

ятно е свързан с намаления брой остеобласти и с намалената активност на γ -глутамил карбоксилазата. Това предполага съществуващ дефицит при възрастните. Намалената активност на γ -глутамил карбоксилазата води до непълно карбоксилиране на ОС. Некарбоксилираният ОС не може да се отложи в костния матрикс и попада в кръвообращението. Повишените концентрации на ucOC са индиректен показател за витамин K2 дефицит и има публикувани оскъдни данни, че са свързани с лош костен статус и повишен риск от фрактури. Съдържанието на ucOC в костта повлиява неблагоприятно здравината на костта с по-голям ефект върху качеството на костта, отколкото върху КМП [29].

Интерпретацията на публикуваните данни за концентрациите на ucOC е затруднена от липсата на достатъчно проучвания при пациентки с ОП. Има данни, че жени в менопауза със серумно ниво на ucOC ≥ 4.0 ng/ml показват по-ниски серумни концентрации на витамин K2, по-високи маркери за костна резорбция и повишена честота на вертебрални фрактури. За да се улесни дискусията относно насоките за дефицит на витамин K2, стойностите на ucOC, измерени чрез различни системи за анализ, ще трябва да бъдат стандартизирани, тъй като има значителни вариации [30]. За японска популация пациентки с ОП се приема cut-off value под 4.5 ng/ml [31]. Резултати от различни проучвания показват концентрации на ОС и ucOC в широки граници, но това вероятно се дължи на използваните различни методики за определянето им [32, 34]. Ние намерихме по-високи концентрации на ucOC и в двете изследвани групи, без сигнификантна разлика между тях, което може да бъде асоциирано с нисък хранителен прием и лош статус на витамин K2, но в страната ни все още липсват дефинирани референтни граници за показателя за различни групи лица (табл. 1).

Индиректната оценка на витамин K2 статуса чрез съотношението на ucOC/ОС улеснява интерпретацията на данните, получени от различни клинични проучвания. McKeown et al. изследват 837 мъже и жени от различни възрасти и намират лош витамин K статус при 44% от мъжете и 54% от жените [10]. Популационни проучвания на витамин K статуса, проведени сред хора от кавказката раса, показват лош витамин K статус в 25-33% от изследваните лица [35]. Нашите резултати показват много високо съотношение на ucOC/ОС в работната и контролната група, без статистически значими различия. Постепенното нарастване на

исОС/ОС в различните декади се наблюдава и в двете групи, но разликите са статистически значими само в контролната (табл. 2). Най-ниските стойности на исОС/ОС и в двете групи са над приетите за норма, което определя лош витамин К2 статус и влошаването му с напредването на възрастта при изследваните от нас жени. Подобни резултати съобщават и Theuwissen et al, които изследват витамин К2 статуса на 22 здрави белгийски жени на възраст 18-45 г. и намират високо съотношение исОС/ОС от 95% [33]. Публикувано от Shea et al. проучване на витамин К статуса в мултиетническа група от 438 възрастни (60-80 г., 59% жени) в САЩ, показва дефицит или недостатъчност при 97% от изследваните лица [36].

Дефицитът на витамин К2 може да повлияе неблагоприятно на качеството на костите повече отколкото на костната маса. В нашето проучване намерихме значителна по сила негативна корелационна зависимост между съотношението исОС/ОС, респективно витамин К2 и АФ при жените от работната група, но не и при контролите (фиг. 7). Съотношението исОС/ОС показва и висока негативна корелация с ОС и в двете изследвани групи. Високите нива на исОС/ОС, които се свързват с дефицит на витамин К2 понижават АФ и ОС с неблагоприятен ефект върху остеобластната функция и костното образуване. Това нарушава баланса между костно образуване и костна резорбция в полза на резорбцията и при жените с ОП влошава качеството на образуваната кост и може да повиши фрактурния риск, независимо от КМП.

Днес синергичният ефект на витамините D и К2 върху костите и кръвоносните съдове се смята за безспорен заради централната им роля в метаболизма на калция. Ние изследвахме български жени, които не са приемали добавки с калций, витамин D и К2 и не са лекувани за ОП. Получените от нас данни потвърждават, че лош витамин

D статус е по-скоро очакван при жени в менопауза и с ОП, а данните за възможен витамин К2 дефицит са много тревожни и подчертават важността на изследването им при тези рискови за фрактури групи. Може да се предположи, че по-напредналата възраст с по-високи нужди от витамин К2, недоимъчното и непълноценно хранене, увеличената консумация на алкохол и масовата употреба на антибиотици, унищожавачи чревната флора, са фактори, които обуславят възможния витамин К2 дефицит и в изследваните групи български жени. Недостатъци на проучването ни са: малкият брой изследвани участнички от двете групи и невъзможността да се оцени хранителният прием на витамин К2 поради липсата на валидиран и адаптиран за страната ни въпросник.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изследваните жени в менопауза ние не установихме корелации между нивата на витамин D и К2 с КМП в лумбалния отдел на гръбнака. Въпреки това в групата с постменопауза ОП установихме, че двата витамина повлияват костния метаболизъм чрез няколко взаимосвързани механизма. Дефицитът на витамин D, чрез повишените нива на ПТХ засилва костната резорбция, намалява образуването на костна тъкан и забавя костния търновър. Освен това високите нива на исОС/ОС, свързани с дефицит на витамин К2, понижават алкалната фосфатаза и остеокалцина, което повлиява отрицателно остеобластната функция и нарушава баланса между костно образуване и резорбция в полза на резорбцията.

Благодарности: Изследването е подкрепено от Министерство на образованието и науката по Националната програма „Млади учени и постдокторанти – 2“