



# ВОЗМОЖНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СКОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Т.В. Русова, Н.В. Шайдурова, А.М. Зайдман  
Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии

**Цель исследования.** Рассмотрение возможностей выявления специфических признаков прогрессирования идиопатического сколиоза, связанных с изменением обмена гликозаминогликанов (ГАГ).

**Материал и методы.** В сыворотке крови 180 детей 11–14 лет с идиопатическим сколиозом I–IV ст. исследовали содержание сульфатированных ГАГ (СГАГ), активность лизосомальных гликозидаз (гиалуронидазы, N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, β-глюкуронидазы, α-галактозидазы) и катепсина D.

**Результаты.** На ранних стадиях деформации позвоночника лишь у 25 % обследованных выявлено снижение количества СГАГ в крови, при III–IV ст. идиопатического сколиоза — более чем у 70 %. Активность α-галактозидазы у всех детей с выраженной степенью деформации повышена в 3–10 раз по сравнению с нормальными значениями. Связь между изменением активности других изученных лизосомальных гликозидаз в крови и выраженностью идиопатического сколиоза не обнаружена.

**Заключение.** Полученные данные показывают, что уровни исследованных СГАГ и активность α-галактозидазы в определенной степени коррелируют со степенью деформации позвоночника. Таким образом, эти показатели могут рассматриваться в качестве биохимических маркеров прогрессирования идиопатического сколиоза, и дальнейшее исследование метаболизма ГАГ и галактозы может быть одним из перспективных направлений в изучении патогенеза идиопатического сколиоза.

**Ключевые слова:** идиопатический сколиоз, сыворотка крови, гликозаминогликаны, биохимические маркеры болезни.

## POTENTIAL BIOCHEMICAL MARKERS OF IDIOPATHIC SCOLIOSIS PROGRESSION

T.V. Rusova, N.V. Shaidurova, A.M. Zaidman

**Objective.** To clarify specific signs of idiopathic scoliosis progression that may be associated with change in glycosaminoglycan turnover.

**Material and Methods.** Blood serum samples from 180 adolescents aged 11–14 years with grade I–IV idiopathic scoliosis were tested for sulphated glycosaminoglycan levels, and for activity of lysosomal glycosidases (hyaluronidase, N-acetyl-β-D-glucosaminidase, β-glucuronidase, and α-galactosidase) and cathepsin D.

**Results.** Reduction in serum sulfated glycosaminoglycan levels, as compared to the levels of healthy subjects, was revealed in 25 % of adolescents with early stages of spinal deformity development, and in more than 70 % of those with idiopathic scoliosis of grade III–IV. Activity of α-galactosidase in adolescents with high grade of deformity 3–10 times exceeded that of in normal subjects. Any correlation between a change in the activity of other blood lysosomal glycosidases and a degree of scoliosis was not revealed.

**Conclusion.** The obtained data demonstrate that levels of examined sulphated glycosaminoglycans and α-galactosidase activity are in certain correlation with a grade of scoliotic deformity of the spine. Thus, these characteristics may be considered as a kind of biochemical markers of idiopathic scoliosis progression, and further study of glycosaminoglycan and galactose metabolism may be one of the prospective directions in studies of idiopathic scoliosis pathogenesis.

**Key Words:** idiopathic scoliosis, blood serum, glycosaminoglycans, biochemical markers of disease.

Hir. Pozvonoc. 2011;(1):62–67.

До настоящего времени нет четкого представления о патогенезе идиопатического сколиоза, основной признак которого — постепенно развивающаяся и прогрессирующая деформация позвоночника. Некоторые исследо-

ватели считают, что это заболевание является многофакторным, то есть возникает в силу целого комплекса причин — генетических, биомеханических, гормональных, влияния центральной нервной системы [9, 10, 14,

16, 20]. Другие склоняются к мнению о сугубо генетической природе заболевания [1, 15, 18]. Многочисленными исследованиями выявлены метаболические нарушения у больных идиопатическим сколиозом в различных

Т.В. Русова, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник отдела теоретических исследований в вертебральной патологии; Н.В. Шайдурова, канд. мед. наук, зав. клинко-биохимической лабораторией; А.М. Зайдман, д-р мед. наук, проф., рук. лабораторно-экспериментального отдела.

тканях — соединительной, мышечной, костной, в клетках крови [6–8, 13, 14, 17, 19]. Являются ли эти нарушения вторичным ответом на развивающееся заболевание или существуют изначально? Вопрос остается открытым. Некоторые исследователи считают, что нарушения структуры и функции межпозвонковых дисков (МПД) и пластинки роста тел позвонков могут иметь преимущественное значение для прогрессирования деформации позвоночника, то есть измененная структура хрящевых тканей позвоночника может рассматриваться как возможный этиологический фактор в патогенезе идиопатического сколиоза [8, 11, 12, 14, 17]. Известно, что в этих тканях наиболее значимую роль играют молекулы протеогликанов (ПГ), сложных белково-углеводных соединений, и коллагена, которые вместе с водой составляют 95% их массы. В МПД у больных идиопатическим сколиозом многими исследованиями обнаружены изменения обмена ПГ [6–8, 15, 17, 19–21]. На этой основе возникла идея исследования в крови углеводной части ПГ — гликозаминогликанов (ГАГ) в качестве теста, сопровождающего прогрессирование идиопатического сколиоза.

Поиски возможных биохимических маркеров развития идиопатического сколиоза у больных в биологических жидкостях интенсивно проводили в 70–90-е гг. прошлого века. А.И. Казьмин, Р.В. Меркурьева [4] обнаружили у таких пациентов изменения уровня сывороточных ГАГ. В.В. Кандауров [5] не нашел подобных изменений, но заметил повышенную экскрецию ГАГ, особенно хондроитинсульфата (ХС) АС, и увеличение активности  $\alpha$ -галактозидазы в сыворотке крови у больных и их родственников. Обнаружено повышение активности лизосомальных ферментов (протеаз и гликозидаз) в тканях МПД и сыворотке крови у больных идиопатическим сколиозом [3, 13, 21]. Эти исследования были достаточно разрознены и выполнены у пациентов с крайней степенью выраженности деформации позвоночника.

В 90-х гг. XX в. сотрудниками Новосибирского НИИТО было предпринято широкомасштабное медико-генетическое обследование детей с деформациями позвоночника и их родственников (всего 1458 человек в возрасте от 10 до 70 лет). Представилась уникальная возможность сравнительного анализа ГАГ крови у людей с наличием деформации позвоночника разной степени выраженности и без таковой, связанных кровным родством. Исследовали в крови количество ГАГ и активность ферментов лизосом, принимающих участие в их метаболизме.

Цель исследования — выявление возможной корреляции между содержанием ГАГ в крови, активностью ферментов лизосом, участвующих в их деградации, и прогрессированием идиопатического сколиоза.

### Материал и методы

Из общего числа обследованных ( $n = 1458$ ) выделили группу детей ( $n = 90$ ) 11–14 (средний возраст 12) лет с клинически установленной (измерением угла Cobb) и рентгенологически подтвержденной деформацией позвоночника I–IV ст. по классификации В.Д. Чаплина. Детям с III–IV ст. деформации установлен диагноз «идиопатический сколиоз». Кроме того, проанализирована кровь детей аналогичного возраста ( $n = 90$ ), проходивших хирургическое лечение в клинике по поводу идиопатического сколиоза III–IV ст. Для анализа результатов всех обследованных разделили на группы в зависимости от степени деформации позвоночника: I ст. — 19 детей, II — 34, III–IV — 127. Контрольная группа сформирована из sibсов и подростков без выраженной скелетной деформации — 29 детей. В данное обследование дети и их родственники из регионов Сибири попадали однократно и повторно не обследовались.

У всех обследованных в сыворотке крови определяли активность ферментов лизосом — N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаминидазы (N-АГА), гиалуронидазы (ГИА),  $\beta$ -глюкуронидазы ( $\beta$ -ГУ),

катепсина Д (КД) и  $\alpha$ -галактозидазы. ГАГ из сыворотки осаждали раствором цетилпиридинхлорида после предварительной обработки папаином. После растворения осадка в воде количество ГАГ определяли двумя тестами — по содержанию уроновых кислот (УК) стандартным методом с карбазолом (Bitter, Muir) и сульфатированных ГАГ (СГАГ) после окраски альциановым голубым (Bartold, Page). В качестве стандарта использовали ХС-АС.

В контрольной группе для каждого исследованного аналитического признака определили границы нормальных значений статистически, с учетом нормального распределения в пределах разброса  $2\sigma$ . Коэффициент корреляции Спирмена ( $r$ ) между изучаемыми признаками рассчитывали для каждой выделенной клинической группы с определенной степенью деформации.

### Результаты и их обсуждение

Сопоставляя группы обследованных, разделенных по степени выраженности деформации, обнаружили большой разброс результатов количественных значений исследованных биохимических параметров. В каждой клинической группе мы выделили три подгруппы наблюдаемых в зависимости от уровня значений исследованных параметров: 1-я — уровень параметра в пределах нормальных значений; 2-я — уровень параметра выше нормальных значений; 3-я — уровень параметра ниже нормальных значений. Количество обследованных, имеющих тот или иной уровень признака в подгруппе, представлено в процентах от общего количества человек в данной группе. Относительным числом детей, имеющих данную величину признака, мы выразили частоту проявления признака данного уровня в означенной группе лиц (рис. 1, 2).

В табл. приведены границы нормальных значений признаков для подростков 11–14 лет. Как видно на рис. 1а, сниженное количество СГАГ в крови встречается чаще с увеличением степени деформации позво-

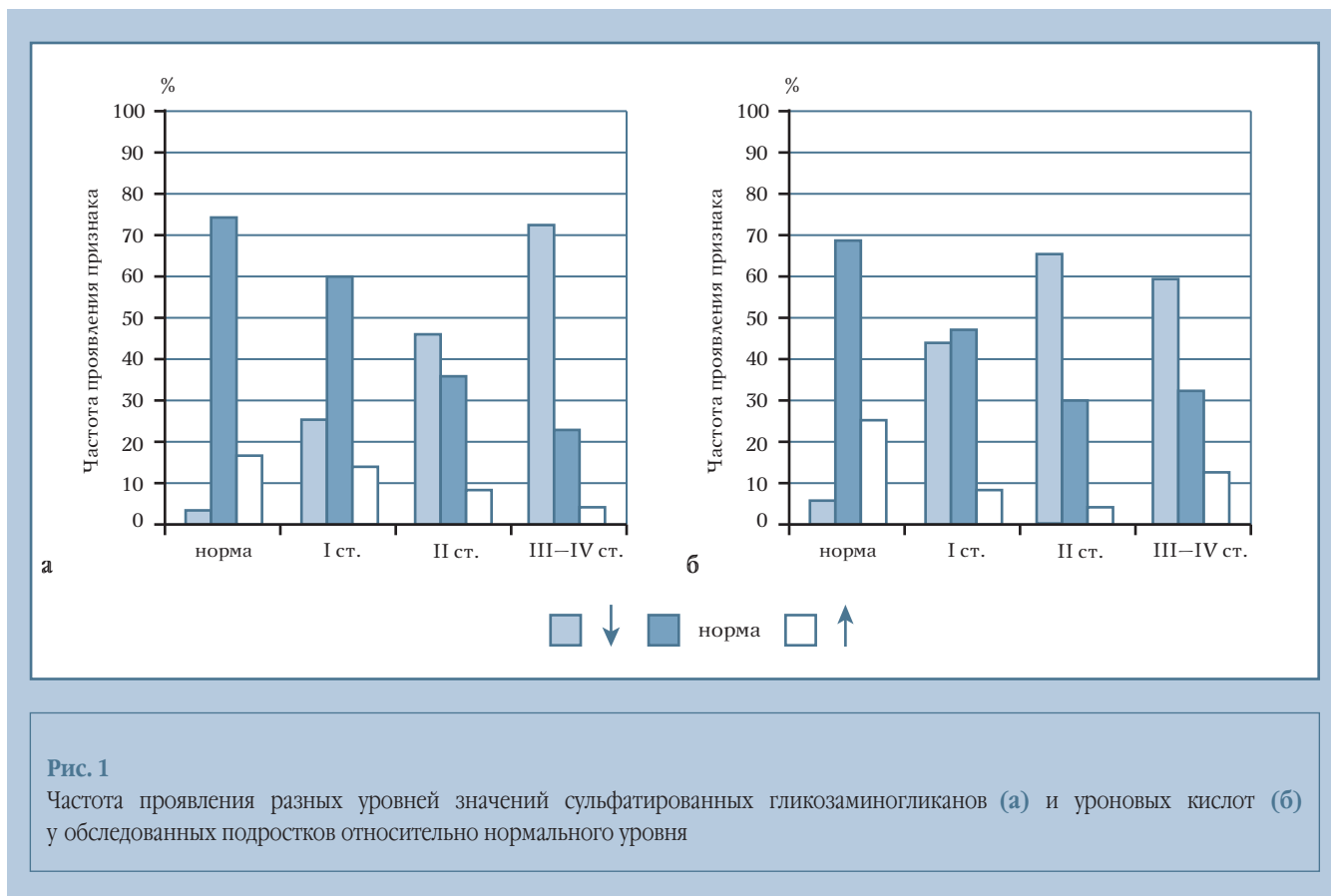


Рис. 1

Частота проявления разных уровней значений сульфатированных гликозаминогликанов (а) и уроновых кислот (б) у обследованных подростков относительно нормального уровня

ночника. Меняется содержание в крови УК в группах с разной степенью выраженности деформации (рис. 1б): в группе подростков с тяжелой деформацией чаще встречается сниженное количество УК. Низкий уровень СГАГ и УК близок к тому, что наблюдается у лиц пожилого возраста, не имеющих деформации позвоночника (в нашем исследовании — это бабушки и дедушки обследованных детей).

Активность лизосомальных ферментов (ГИА,  $\beta$ -ГУ, КД) повышена (рис. 2а, б, в) в 1,5–2,3 раза у части больных с III–IV ст. деформации (46% в группе из 127 человек). Но активность N-АГА (рис. 2г), напротив, снижена в 1,3–1,8 раза у 45% обследованных. Особенно значительно меняется активность  $\alpha$ -галактозидазы: у 95% больных идиопатическим сколиозом III–IV ст. превышает нормальный уровень в среднем в 4,5 раза.

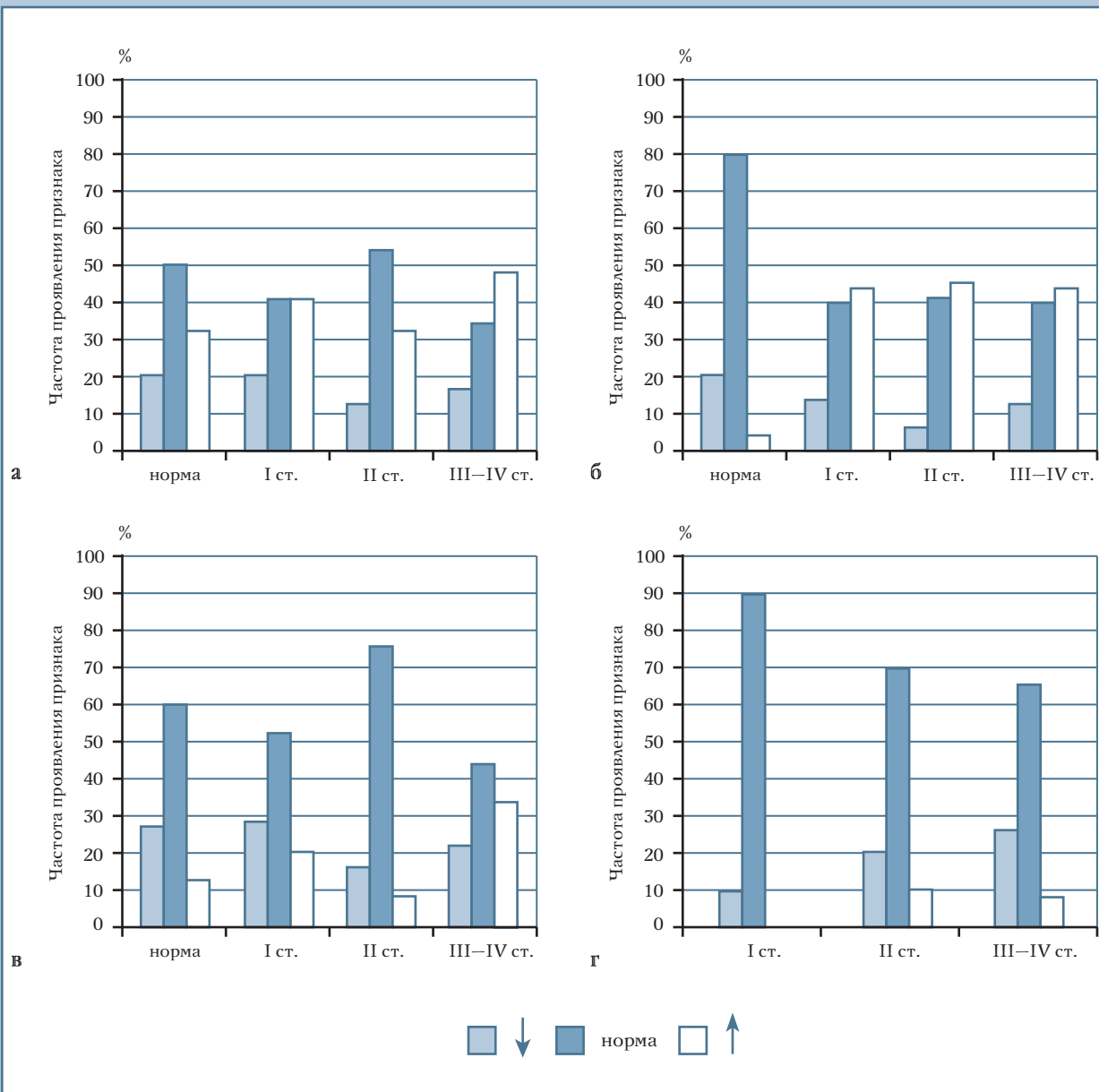
Расчеты коррелятивных связей между всеми рассмотренными биохимическими параметрами показали,

что у подростков контрольной группы в крови существует положительная корреляция между количеством СГАГ и УК ( $r = 0,82$ ). На самых ранних стадиях (I ст.) появления деформации существует положительная корреляция между уровнем СГАГ, УК и активностью ГИА ( $r = 0,63$ ), а также ГИА и N-АГА ( $r = 0,42$ ). У подростков с более выраженной деформацией (II ст.) появляется корреляция между активностью N-АГА и  $\beta$ -ГУ ( $r = 0,56$ ). У подростков с крайней выраженностью деформации позвоночника никаких коррелятивных связей между определяемыми тестами не найдено.

Анализ полученных данных показывает, что метаболические процессы у больных, объединенных в группу идиопатического сколиоза, протекают по-разному, о чем свидетельствует большой разброс содержания ГАГ и активность гликозидаз в крови. Частота появления в группе лиц с низким содержанием ГАГ в крови коррелирует с прогрессированием

деформации позвоночника. Но этот показатель не является абсолютным. В нашем исследовании только около 70% больных с III–IV ст. деформации имели низкое содержание СГАГ. Обращает на себя внимание тот факт, что подобное низкое содержание ГАГ в крови, отмеченное нами у пожилых родственников, является возрастным признаком. Согласно исследованиям А.Н. Зимницкого [2], с возрастом в крови снижается содержание несulfатированных и СГАГ. По мнению автора, подобное снижение хорошо коррелирует со снижением синтеза и концентрации ГАГ в тканях. На основании этого можно предположить, что у части больных идиопатическим сколиозом могут иметь место полиорганные изменения обмена ПГ/ГАГ.

Повышенная активность лизосомальных ферментов отмечена менее чем у половины обследованных подростков. По нашему мнению, активация этих ферментов не является этиологическим признаком данной пато-

**Рис. 2**

Частота проявления разных уровней активности ферментов у обследованных подростков относительно нормальных значений: а – гиалуронидаза; б – катепсин Д; в – β-глобулиноиды; г – N-ацетил-β-D-глюкозидаза

логии, а лишь отражает особенности метаболических процессов у части больных идиопатическим сколиозом, связанные с нарушением структуры и обменом ПГ/ГАГ в частности.

У больных идиопатическим сколиозом найдены существенные изменения метаболизма ПГ в МПД [6–8, 13, 16,

17, 19–21]. Эти изменения касаются как количественного, так и качественного состава ПГ и ГАГ. Наши предыдущие исследования [6, 7] протеогликанов в МПД и пластинке роста позвоночника у больных идиопатическим сколиозом показали, что еще существует нарушение сульфатирования этих

цепей (снижение количества сульфатных групп в цепях ГАГ). В литературе описан случай семейного проявления недостаточности функции фермента хондроитин-6-О-сульфотрансферазы [21], ответственного за перенос сульфатных групп на цепи ХС. У всех членов этой семьи наблюдали выра-

Таблица

Границы нормальных значений биохимических тестов в сыворотке крови детей 11–14 лет

Биохимический тест	Значение
Активность ферментов	
Гиалуронидаза	110–150 мкМ N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы/мл/ч
N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза	0,40–0,85 нМ паранитрофенола/мл/ч
β-глюкуронидаза	0,22–0,36 нМ паранитрофенола/мл/ч
α-галактозидаза	60,3–90,6 (75,6) нМ 4-метилумбеллиферона/мл/ч
Катепсин Д	0,09–0,25 мкМ тирозина/мл/ч
Количество гликозаминогликанов (ГАГ)	
Уроновые кислоты	15,6–36,2 мкг хондроитинсульфата/мл
Сульфатированные ГАГ	42,5–0,2 мкг хондроитинсульфата/мл

женную патологию позвоночника. У части обследованных в нашей работе обнаружено подобное свойство ГАГ крови, которое мы условно определили как «степень сульфатирования ГАГ» по соотношению СГАГ и УК в одном и том же образце, то есть количество сульфатных групп на условную углеводную цепь. Это соотношение у людей без патологии позвоночника не зависит от количества ГАГ и возраста, оно достаточно стабильно и обычно больше 1,000 ( $2,670 \pm 0,630$ ). У большинства обследованных это соотношение также больше 1,000, даже в группе с III–IV ст. заболевания и среди тех, у кого снижено количество СГАГ и УК в крови. Но у небольшой части больных ( $n = 18$ ) и у отдельных детей с начальными проявлениями деформации это соотношение снижено ( $0,590 \pm 0,112$ ). Среди больных с нормальным уровнем ГАГ в крови мы не обнаружили низкий уровень сульфатирования. Вероятно, у определенной части пациентов следует ожидать нарушения

активности ферментов, переносящих остатки сульфата к цепям ГАГ, причем это свойство, возможно, проявляется на уровне ГАГ крови даже у лиц с начальными проявлениями деформации позвоночника. Мы не проводили параллельных исследований сульфатирования ГАГ в МПД и крови у пациентов с идиопатическим сколиозом, поэтому не можем говорить о прямой корреляции этого признака в разных тканях. Эта особенность свойств ГАГ может быть предметом дальнейших исследований.

Таким образом, у больных идиопатическим сколиозом количество ГАГ крови либо сохраняется в пределах нормальных значений, либо снижается до уровня, характерного для пожилых людей. Кроме того, у части больных можно ожидать нарушения формирования СГАГ, то есть к числу многих факторов, сопровождающих развитие деформации позвоночника, можно отнести нарушение обменных процессов, приводящих к снижению количества СГАГ в крови, причем у части боль-

ных это снижение происходит за счет снижения сульфатирования ГАГ.

Опираясь на результаты активности фермента α-галактозидазы и данные В.В. Кандаурова [5], можно ожидать, что существуют определенные нарушения обмена углеводов на основе галактозы, которые могут иметь существенное значение для этиологии идиопатического сколиоза. Найденное нами значительное увеличение активности α-галактозидазы практически у всех больных на выраженных стадиях заболевания идиопатическим сколиозом указывает на возможность существования достаточно специфического признака, связанного с обменом углеводов, характерного для данного заболевания.

## Выводы

1. Определение количества ГАГ крови с достаточно высокой степенью вероятности можно использовать в качестве биохимического маркера для прогнозирования прогрессирования деформации позвоночника.
2. Значительные изменения активности фермента α-галактозидазы может быть специфическим признаком развития идиопатического сколиоза.
3. Изменения активности других изученных гликозидаз скорее носят вторичный характер и связаны как с основным, так и с сопутствующими заболеваниями.

*Выражаем благодарность за помощь в проведении исследования проф. М.А. Садовому, д-ру мед. наук Е.Н. Калашниковой, канд. мед. наук И.Л. Трегубовой, канд. мед. наук А.Л. Ханаеву.*

## Литература

1. **Зайдман А.М., Аксенович Т.И., Садовой М.А. и др.** Механизмы наследования идиопатического сколиоза // Хирургия позвоночника. 2005. № 1. С. 112–121.  
Zaydman A.M., Aksenovich T.I., Sadovoy M.A. i dr. Mehanizmy nasledovaniya idiopaticeskogo skolioza // Hirurgiya pozvonochnika. 2005. № 1. S. 112–121.
2. **Зимницкий А.Н.** Гликозаминогликаны в биохимических механизмах адаптации организма к некоторым физиологическим и патологическим состояниям. М., 2004.  
Zimnitskiy A.N. Glikozaminoglikany v biohimicheskikh mehanizmah adaptatsii organizma k nekotorym fiziologicheskim i patofiziologicheskim sostoyaniyam. M., 2004.
3. **Казьмин А.И., Герасимов А.М., Торопов А.Ю. и др.** Связь результатов эпифезэктомии дисков у больных диспластическим сколиозом и биохимическим строением тел позвонков // Ортопед, травматол. и протезир. 1990. № 3. С. 42–45.  
Kaz'min A.I., Gerasimov A.M., Toropov A.Yu. i dr. Svyaz' rezul'tatov epifezektomii diskov u bol'nykh displasticheskim skoliozom i biohimicheskim stroeniem tel



- pozvonkov // Ortoped., travmatol. i protezir. 1990. № 3. S. 42–45.
4. **Казьмин А.И., Меркурьева Р.В.** О роли нарушений метаболизма гликозаминогликанов в патогенезе сколиоза // Ортопед, травматол. и протезир. 1971. № 11. С. 87–91.  
Kaz'min A.I., Merkur'eva R.V. O roli narusheniy metabolizma glikozaminoglikanov v patogeneze skolioza // Ortoped., travmatol. i protezir. 1971. № 11. S. 87–91.
  5. **Кандауров В.В.** Исследования гликозаминогликанов и ферментов их обмена у больных идиопатическим сколиозом // Повреждения и заболевания позвоночника. Л., 1986. С. 32–38.  
Kandaurov V.V. Issledovaniya glikozaminoglikanov i fermentov ih obmena u bol'nykh idiopaticheskim skoliozom // Povrezhdeniya i zabolevaniya pozvonochnika. L., 1986. S. 32–38.
  6. **Русова Т.В., Кулешова О.Н., Жуков Д.В.** Гликозаминогликаны тканей межпозвоночных дисков у больных идиопатическим сколиозом // Хирургия позвоночника. 2006. № 3. С. 84–87.  
Rusova T.V., Kuleshova O.N., Zhukov D.V. Glikozaminoglikany tkaney mezhpozvonochnykh diskov u bol'nykh idiopaticheskim skoliozom // Hirurgiya pozvonochnika. 2006. № 3. S. 84–87.
  7. **Русова Т.В., Рыкова В.И., Зайдман А.М. и др.** Гликозаминогликаны пластинки роста тела позвонков у больных идиопатическим сколиозом // Биол. эксперим. биол. мед. 2005. Т. 139. С. 738–740.  
Rusova T.V., Rykova V.I., Zaydman A.M. i dr. Glikozaminoglikany plastinki rosta tela pozvonkov u bol'nykh idiopaticheskim skoliozom // Byul. eksperim. biol. med. 2005. T. 139. S. 738–740.
  8. **Antoniou J., Arlet V., Goswami T., et al.** Elevated synthetic activity in the convex side of scoliotic intervertebral discs and endplates compared with normal tissues // Spine. 2001. Vol. 26. P. E198–E206.
  9. **Burwell R.G., Cole A.A., Cook T.A., et al.** Pathogenesis of idiopathic scoliosis. The Nottingham concept // Acta Orthop. Belg. 1992. Vol. 58. Suppl. 1. P. 33–58.
  10. **Burwell R.G., Freeman B.J., Dangerfield P.H., et al.** Etiologic theories of idiopathic scoliosis: enantiomorph disorder concept of bilateral symmetry, physeally-created growth conflicts and possible prevention // Stud. Health Technol. Inform. 2006. Vol. 123. P. 391–397.
  11. **Byrd J.A.** 3rd. Current theories on the etiology of idiopathic scoliosis // Clin. Orthop. Relat. Res. 1988. N 229. P. 114–119.
  12. **Grivas T.B., Vasiliadis E., Malakasis M., et al.** Intervertebral disc biomechanics in the pathogenesis of idiopathic scoliosis // Stud. Health Technol. Inform. 2006. Vol. 123. P. 80–83.
  13. **Lien Y.H., Fu J., Rucker R.B., et al.** Collagen, proteoglycan and hyaluronidase activity in cultures from normal and scoliotic chicken fibroblast // Biochim. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1034. P. 318–325.
  14. **Lowe T.G., Edgar M., Margulies J.Y., et al.** Etiology of idiopathic scoliosis: current trends in research // J. Bone Joint Surg. Am. 2000. Vol. 82. P. 1157–1168.
  15. **Marosy B., Justice C.M., Nzegwu N., et al.** Lack association between the aggrecan gene and familial idiopathic scoliosis // Spine. 2006. Vol. 31. P. 1420–1425.
  16. **Purkiss S.B., Driscoll B., Cole W.G., et al.** Idiopathic scoliosis in families of children with congenital scoliosis // Clin. Orthop. Relat. Res. 2002. N 401. P. 27–31.
  17. **Roberts S., Menage J., Eisenstein S.M.** The cartilage end-plate and intervertebral disc in scoliosis: calcification and other sequelae // J. Orthop. Res. 1993. Vol. 11. P. 747–757.
  18. **Shangguan L., Fan X., Li M.** Inheritance involved in the pathogenesis of idiopathic scoliosis // EXCLI J. 2008. Vol. 7. P. 104–114.
  19. **Thiele H., Sakano M., Kitagawa H., et al.** Loss of chondroitin 6-O-sulfotransferase-1 function results in severe human chondrodysplasia with progressive spinal involvement // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. Vol. 101. P. 10155–10160.
  20. **Willner S., Johnell O.** Study of biochemical and hormonal data in idiopathic scoliosis in girls // Arch. Orthop. Trauma Surg. 1981. Vol. 98. P. 251–255.
  21. **Zaleske D.J., Ehrlich M.G., Hall J.E.** Association of glycosaminoglycan depletion and degradative enzyme activity in scoliosis // Clin. Orthop. Relat. Res. 1980. Vol. 148. P. 177–181.

**Адрес для переписки:**

Русова Татьяна Васильевна  
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17,  
НИИТО,  
TRusova@niito.ru

Статья поступила в редакцию 06.10.2009