



ВОЗМОЖНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СКОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Т.В. Русова, Н.В. Шайдунова, 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. Шайдунова, 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 α -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. Чаклина. 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- β -D-глюкозаминидазы (N-АГА), гиалуронидазы (ГИА), β -глюкуронидазы (β -ГУ),

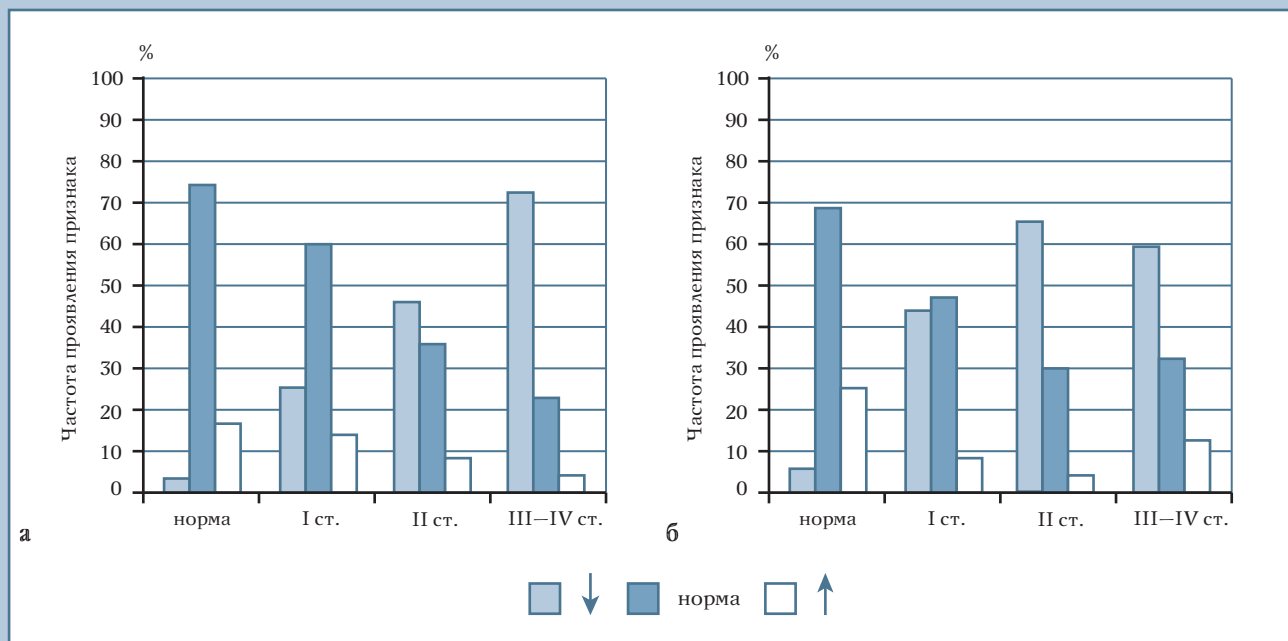
катепсина Д (КД) и α -галактозидазы. ГАГ из сыворотки осаждали раствором цетилпиридинхлорида после предварительной обработки папаином. После растворения осадка в воде количество ГАГ определяли двумя тестами — по содержанию уроновых кислот (УК) стандартным методом с карбазолом (Bitter, Muir) и сульфатированных 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 2σ . 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 ознанченной 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, β -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 α -галактозидазы: у 95% больных идиопатическим сколиозом III–IV ст. превышает нормальный уровень в среднем в 4,5 раза.

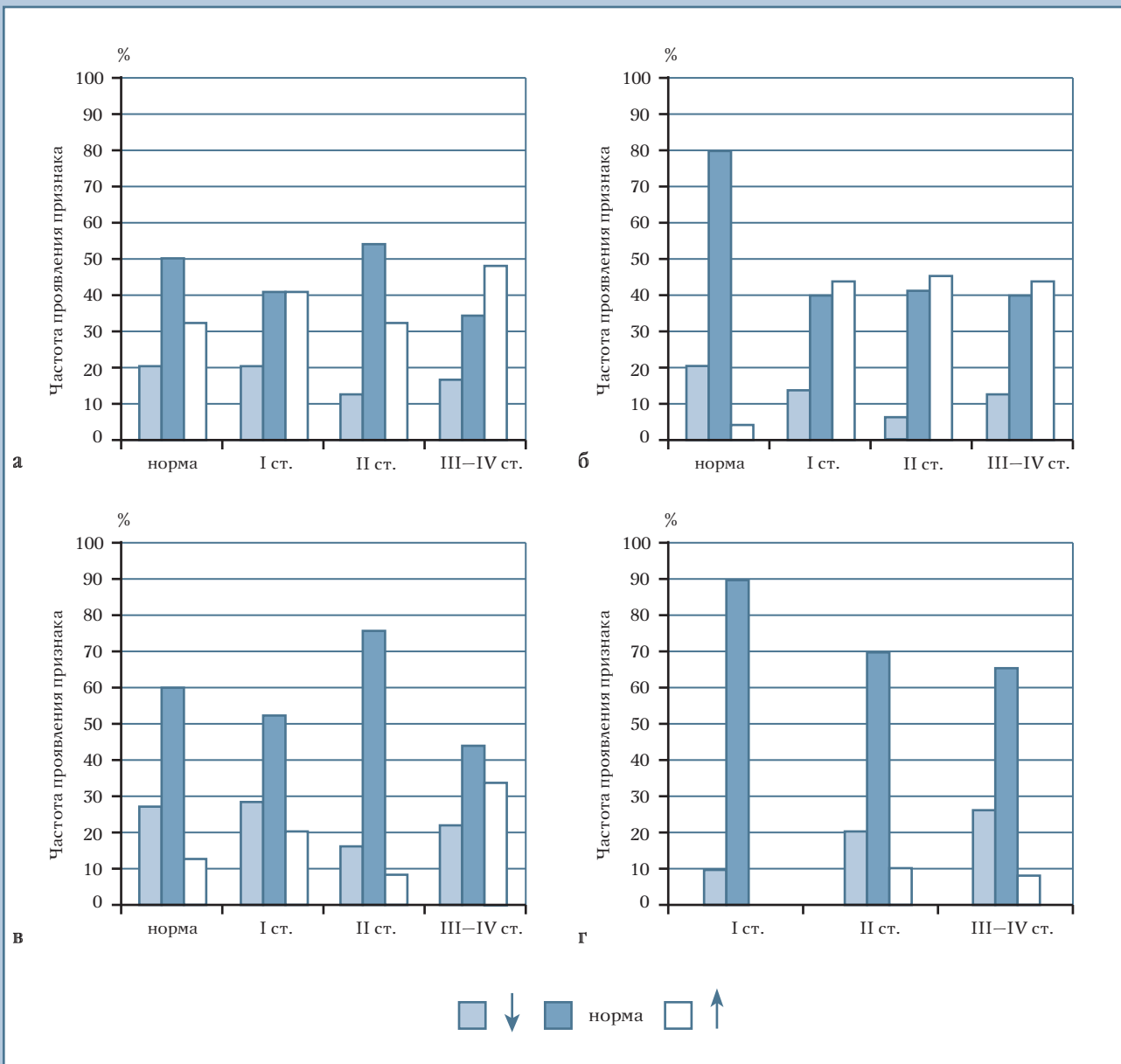
Расчеты коррелятивных связей между всеми рассмотренными биохимическими параметрами показали,

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 β -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-глобулинодаза; **г** – N-ацетил-β-D-глобулинодаза

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-Д-глюкозаминидазы/мл/ч
N-ацетил-β-Д-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. Ханяеву.

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 эпифизэктомии 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 epifizektomii diskov u bol'nykh displasticheskim skoliozom i biohimicheskim stroeniem tel pozvonkov

- 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'nyh 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 mezhpozvonochnyh diskov u bol'nyh 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 // Бюл. 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'nyh 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., Vasiladis 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