

М.П. Тепленький, С.Н. Лунева, Е.Л. Матвеева, А.Г. Гасанова

ВОЗМОЖНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ ПЕРТЕСА

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова»
МЗ РФ, г. Курган, РФ

Поиск новых методов диагностики и лечения детей с болезнью Пертеса (БП) является актуальной задачей современной лабораторной диагностики, так как в последние годы эта патология стала встречаться гораздо чаще. Проявления начала деградации соединительной ткани (ДСТ) находят отражение в изменении биохимических показателей сыворотки крови, что делает актуальным определение продуктов деградации внеклеточного матрикса как костной, так и хрящевой ткани в сыворотке крови и моче детей с разными стадиями патологии. Выявление тестов, наиболее измененных на ранних стадиях, дает основания для принятия решения лечащему врачу. Цель – определение биохимических показателей ДСТ в сыворотке крови и суточной моче на ранних стадиях БП, проведение сравнительного анализа изменений в сопоставлении с нормальными значениями и с данными показателями на поздних стадиях развития патологии. Материалы и методы исследования: в образцах сыворотки крови и мочи 39 больных (16 – на ранних и 23 – на поздних стадиях болезни) асептическим некрозом головки бедренной кости определяли показатели электролитов и продуктов ДСТ. Результаты: показатели электролитов сыворотки крови больных имели отличия от нормы только на поздних стадиях болезни, однако интегрирование этих значений в системный индекс выявило его статистически значимое повышение уже на ранних стадиях развития патологии. Кроме того, в сыворотке крови больных с ранними стадиями болезни наиболее значительно отличались от нормы показатели уоновых и сиаловых кислот, которые были статистически значимо изменены и в суточной моче больных с ранними стадиями болезни. Заключение: наиболее информативными для диагностики ранних стадий БП являются показатели системного индекса электролитов, уоновых и сиаловых кислот сыворотки крови. Повышение экскреции сиаловых кислот и снижение уоновых кислот также являются ранними признаками ДСТ, характерными для начала БП.

Ключевые слова: асептический некроз головки бедренной кости, системный индекс электролитов, уоновые кислоты, сиаловые кислоты.

Цит.: М.П. Тепленький, С.Н. Лунева, Е.Л. Матвеева, А.Г. Гасанова. Возможности лабораторной диагностики болезни Пертеса. *Педиатрия*. 2019; 98 (1): 103–107.

М.П. Teplenkiy, S.N. Luneva, E.L. Matveeva, A.G. Gasanova

POSSIBILITIES OF LABORATORY DIAGNOSIS OF PERTHES DISEASE

Russian Research Center «Restorative traumatology and orthopedics» named after academician G.A. Ilizarov»,
Kurgan, Russia

The search for new methods of diagnosis and treatment of children with Perthes disease (PD) is an urgent task of modern laboratory diagnostics, since in recent years this pathology has become more common. Manifestations of the onset of connective tissue degradation (CTD) are reflected in changes in the biochemical parameters of blood serum, which makes it important to determine the degradation products of the extracellular matrix of both bone and cartilage tissue in the blood serum and urine of children with different stages of the pathology. Materials and methods: in serum and urine samples of 39 patients (16 in the early and 23 in the late stages of the disease), the indices of electrolytes and CTD products were determined by aseptic necrosis of the femoral head.

Контактная информация:

Гасанова Анна Георгиевна – младший научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова МЗ РФ
Адрес: Россия, 640014, г. Курган,
ул. М. Ульяновой, 6
Тел.: (3522) 45-05-38, E-mail: gasanova08@mail.ru
Статья поступила 3.04.18,
принята к печати 6.06.18.

Contact Information:

Gasanova Anna Georgiyevna – junior researcher, Laboratory of Biochemistry, Russian Research Center «Restorative traumatology and orthopedics» named after academician G.A. Ilizarov
Address: Russia, 640014, Kurgan, M. Ulyanova str., 6
Tel.: (3522) 45-05-38, E-mail: gasanova08@mail.ru
Received on Apr. 3, 2018,
submitted for publication on Jun. 6, 2018.

Results: the electrolyte indices of the blood serum of the patients differed from the norm only at the late stages of the disease, however, the integration of these values into the system index revealed its statistically significant increase already at the early stages of the pathology development. In addition, in the serum of patients with early stages of the disease, the indices of uronic and sialic acids, which were statistically significantly changed, also differed most significantly from the daily urine of patients with early stages of the disease. **Conclusion:** the most informative for the diagnosis of early stages of PD are the indicators of electrolytes systemic index, serum uronic and sialic acids. Increased excretion of sialic acids and a decrease in uronic acids are also early signs of CTD, specific for the PD onset.

Keywords: aseptic necrosis of the femoral head, systemic electrolyte index, uronic acids, sialic acids.

Quote: M.P. Teplenkiy, S.N. Luneva, E.L. Matveeva, A.G. Gasanova. Possibilities of laboratory diagnosis of Perthes disease. *Pediatrics*. 2019; 98 (1): 103–107.

Болезнь Пертеса (БП) – это ювенильная форма идиопатического асептического некроза головки бедра, поражающая детей в возрасте от 2 до 14 лет. Многие аспекты данной патологии, включающие этиологию, патофизиологию, оптимальные лечебные мероприятия, остаются неизвестными или непонятными до настоящего времени [1]. Превалирует мнение о полиэтиологическом характере заболевания, в развитии которого определенную роль играют генетические и экологические факторы [2, 3]. Независимо от причины в основе БП лежит локальное нарушение кровообращения, вызывающее ишемический некроз, который способствует развитию патологических и структурных нарушений головки бедра [4].

Характер лечебных мероприятий при БП регламентируется стадией заболевания. На ранних этапах (стадия асептического некроза (I), стадия фрагментации (II)) лечение направлено на предупреждение деформации головки и базируется на принципе «containment», предполагающем обеспечение условий для погружения головки во впадину [5]. Указанный принцип реализуется посредством консервативных или хирургических манипуляций, которые варьируют от применения отводящих шин до тройной остеотомии таза [6]. Эффективность «containment treatment» снижается при переходе заболевания в стадию восстановления (III). На данном этапе целью лечебных мероприятий становятся коррекция и компенсация сформировавшихся деформаций суставных компонентов [7]. Следует отметить, что каждая стадия не имеет четких временных границ [8, 9]. По данным рентгенографии не всегда можно отличить позднюю стадию фрагментации (II b) от ранней стадии восстановления (III a). Поэтому важное значение имеет поиск дополнительных диагностических критериев, характерных для ранних и поздних стадий БП. Согласно данным литературы, остеохондропатия тазобедренного сустава сопровождается повышением уровня ЦИК в сыворотке крови, гипертриглицеридемией, гиперхолестеринемией [10]. Течение патологических процессов в соединительной ткани находит отражение в изменениях биохимических показателей биологических жидкостей организма [11]. Поэтому представляется целесообразным определение

электролитов и составляющих внеклеточного матрикса как костной, так и хрящевой ткани в сыворотке крови и суточной моче детей с разными стадиями БП.

Цель – анализ биохимических показателей деградации соединительной ткани (ДСТ) в сыворотке крови и суточной моче на ранних и поздних стадиях БП.

Материалы и методы исследования

Проанализированы результаты лабораторного исследования сыворотки крови и мочи 39 пациентов с БП. Критерием включения в исследование являлось наличие у пациентов БП на ранних и поздних стадиях заболевания в возрасте от 6 до 10 лет. Критерии исключения: возраст больных старше 10 лет и пациенты с патологическими состояниями, не связанными с основным заболеванием. Работа была одобрена комитетом по этике ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» и проводилась в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра (Сеул, 2008).

Обследованные пациенты были разделены на 2 группы с учетом стадии патологического процесса по классификации Waldenstrom и Joseph [5, 8]. В 1-ю группу включены 16 больных с I–II стадией (асептический некроз, фрагментация), средний возраст составил 7,4 лет, продолжительность заболевания – 1,5–4 мес. 2-ю группу составили 23 пациента в стадии восстановления (III a, b), средний возраст – 9,2 лет, продолжительность заболевания – 7–12 мес.

В сыворотке крови и моче определяли маркеры резорбции органического матрикса костной ткани: количество сульфатной серы [12], гексуриновых кислот (ГУК) [13], гексоз [14], гексозаминов (ГА) [15], сиаловых кислот (СК) [16]; и вычисляли соотношения: гексозы/ГУК, гексозы/сульфат, сульфат/ГУК, ГУК/гексозамины. В сыворотке крови определяли концентрации электролитов: общего кальция и хлорид-ионов и неорганического фосфата. С целью повышения информативности показателей электролитного обмена рассчитывали системный индекс электролитов (СИЭ): $СИЭ = C_{Ca} \cdot C_{Cl} / C_{PO_4}$ [12]. В качестве значений нормы приняты показатели, полученные при исследовании сыворотки крови и мочи у 25 здоровых детей, возраст которых составил от 7 до 14 лет.

Биохимические показатели мочи детей с БП
(ммоль/л/сут S, ГУК/ГА и S/ГУК – $\times 10^{-1}$ ммоль/л/сут)

Показатели	Норма	I–II стадии БП	III стадия БП
Сульфаты	21,87±1,09	20,09±1	21,19±1,06
ГУК	2,95±0,15	1,9±0,09*	2,05±0,1
СК	0,63±0,03	1,06±0,05*	1,64±0,08*
Гексозы	0,64±0,03	0,5±0,002	0,75±0,04
ГА	1,02±0,05	1,23±0,06*	1,1±0,06
Гексозы/ГУК	0,21±0,01	0,26±0,01	0,36±0,02
ГУК/ГА	2,89±0,14	1,54±0,08	1,66±0,08
Сульфаты/ГУК	7,4±0,37	10,57±0,53*	10,33±0,52*

Здесь и в табл. 2: * $p \leq 0,05$ при сравнении показателей с нормой.

Таблица 2

Биохимические показатели сыворотки крови детей с БП
(ммоль/л/сут S, ГУК/ГА и S/ГУК – $\times 10^{-1}$ ммоль/л/сут)

Показатели	Норма	I–II стадии БП	III стадия БП
Сульфаты	0,58±0,03	2,47±0,12*	3,22±0,16
ГУК	2,91±0,15	4,42±0,22*#	2,56±0,13*
СК	4,45±0,02	3,06±0,15*	3,08±0,15*
Гексозы	6,2±0,31	7,76±0,39*#	5,05±0,25*
ГА	6,23±0,31	8,04±0,4	1,021±0,05*
Гексозы/ГУК	2±0,1	1,14±0,06*#	2,91±0,15*
ГУК/ГА	0,46±0,02	0,55±0,03	0,25±0,01
Сульфаты/ГУК	0,19±0,01	0,55±0,03*#	1,25±0,06

$p \leq 0,05$ при сравнении показателей детей с I–II и III стадиями БП.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики, применяемыми для малых выборок.

В группах исследования проводили проверку на нормальность распределения выборки, рассчитывали значения средней, стандартное отклонение среднего результата. Достоверность различий в сравниваемых группах оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона, пользуясь при этом лицензионными программами (Гайдышев И.П., 2004). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Неинвазивные методы лабораторной диагностики часто позволяют с высокой степенью надежности определять не только наличие, но и стадию патологического процесса. Особый интерес мы проявили к показателям экскреции продуктов ДСТ в суточной моче детей с ранними и поздними стадиями БП (табл. 1).

При исследовании суточной мочи больных как на ранних, так и на поздних стадиях заболевания выявлено статистически значимое увеличение экскреции гликопротеидов, что выражается в значительном повышении концентрации таких показателей, как СК и ГА (табл. 1). При недостоверном возрастании экскреции сульфатов и статистически значимом снижении концентрации ГУК отношение сульфаты/ГУК было достоверно ($p < 0,01$) повышено, что свидетельствовало об увеличении доли сульфатированных

гликозаминогликанов (ГАГ). Все изменения в моче пациентов с БП были однонаправленными на ранних и на поздних стадиях. Исходя из этого следует, что изменения показателей уровневых и сиаловых кислот, гексоз и сульфатов в моче являются признаком дегградации матрикса соединительной ткани, связанным с развитием патологического процесса.

Исследование сыворотки крови показало, что у детей с БП наблюдается изменение концентрации всех изученных биохимических показателей дегградации органического матрикса соединительной ткани по сравнению со здоровыми детьми (табл. 2).

Проведенное нами изучение содержания ГУК, гексоз и ГА на I–II стадии заболевания выявило статистически значимые отличия значений этих показателей от аналогичных в сыворотке крови детей контрольной группы и группы детей с поздними стадиями БП. При этом развитие патологии изменяло эти показатели реверсивно. Все они возрастали на ранних стадиях и снижались ниже значений нормы на поздних. В соответствии с этим расчет отношений гексозы/ГУК и ГУК/ГА показал также разнонаправленные изменения на ранних и поздних стадиях БП. На всех сроках заболевания было отмечено снижение содержания СК на 30% от нормального.

При изучении содержания продуктов дегградации органического матрикса костной ткани в

сыворотке крови больных детей было обнаружено статистически значимое увеличение степени сульфатирования ГАГ. На это указывает возрастание отношения сульфаты/ГУК более чем в 21 раз на ранних и в 5 раз на поздних стадиях БП. Определенно установлено, что процессы сульфатирования при ранних и поздних стадиях болезни имеют разнонаправленный характер. На ранних стадиях увеличение минеральной серы компенсируется статистически значимым, более чем в 1,5 раза, повышением ГУК. На более поздних стадиях значительное повышение минеральной серы уже не может быть уравновешено посредством увеличения синтеза ГАГ.

На рисунке показаны результаты исследования ряда показателей электролитов у детей с БП, а также у здоровых детей того же возраста. Из полученных данных следует, что в группе больных с начальными стадиями патологии не отмечено показателей концентрации электролитов, статистически значимо отличающихся от контроля. Только значения СИЭ позволили говорить о нарушении скелетного гомеостаза (соотношения между объемами костной резорбции и костеобразования).

Полученные нами результаты подтверждаются данными других авторов, которые показывают значительное увеличение степени сульфатирования ГАГ в сыворотке крови больных с дегенеративными заболеваниями суставов [17, 18]. Кроме того, мы обнаружили снижение концентрации СК и нормальное содержание гексоз при данной суставной патологии. Очевидно, процессы патологической перестройки органического матрикса к периоду поздних стадий болезни уже завершены, явления воспаления соединительной ткани отсутствуют и наступает фаза активной деминерализации очага поражения. Эти соображения иллюстрирует табл. 2, где показано статистически значимое изменение всех исследованных показателей минерального обмена.

Обсуждение

Изучение показателей сыворотки крови и суточной мочи детей с БП позволило нам сделать вывод о преимущественном поражении органического матрикса костной ткани головки бедренной кости. Однако биохимическими методами, помимо увеличения концентрации маркеров деградации органического матрикса, можно обнаружить значительные отклонения в степени сульфатирования органического матрикса и тенденцию к изменению отношения отдельных электролитов и повышению выведения кальция и фосфата из организма.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что уже на ранних стадиях БП определяются нарушения в процессах скелетного гомеостаза. Объективная оценка

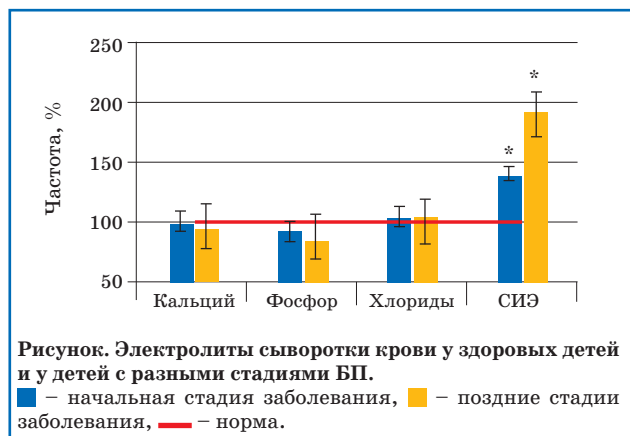


Рисунок. Электролиты сыворотки крови у здоровых детей и у детей с разными стадиями БП. ■ – начальная стадия заболевания, ■ – поздние стадии заболевания, — норма.

остеогенеза может быть получена при комплексном использовании клинических, рентгенологических и интегрированных биохимических показателей. Используемые в работе лабораторные тесты могут быть применены как дополнительные средства для уточнения диагноза БП и для проведения контроля за эффективностью лечения этих больных. Остеоденситометрия выявляет потерю костной массы на уровне 2% и не обнаруживает изменения органического матрикса костной ткани, осуществляя диагностику и мониторинг минеральной насыщенности костной ткани в процессе лечения поздних стадий БП. Биохимическое исследование основных компонентов деградации матрикса костной ткани в сыворотке крови позволит более глубоко понять патологические изменения в очаге процесса, возникающих при разных стадиях БП; а, кроме того, на ранних сроках диагностировать развитие патологии, следствием которой могут быть изменения механических свойств кости и ее разрушение.

Выводы

1. Уже на ранних стадиях БП происходит экскреция продуктов ДСТ. В суточной моче больных определяются статистически значимо повышенные уровни СК и ГА, снижение концентрации урановых кислот и возрастание отношения сульфатов/ГУК.

2. В сыворотке крови детей с ранними стадиями БП значительно возрастают концентрации урановых кислот, сульфатов и отношения сульфаты/ГУК; уменьшается содержание СК и коэффициент гексозы/ГУК.

3. Изученные нами лабораторные показатели в совокупности с клиническими и рентгенологическими данными позволяют более эффективно осуществлять раннюю диагностику БП.

Финансирование и конфликт интересов: работа проведена на базе и при поддержке ФГБУ Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ, конфликт интересов не заявлен.

Teplenkiy M.P. 0000-0002-1973-5192
Gasanova A.G. 0000-0001-7734-2808

1. Kim HKW. Pathophysiology and New Strategies for the Treatment of Legg–Calve–Perthes Disease. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2012; 94: 659–669.
2. Perry DC, Hall AJ. The Epidemiology and Etiology of Perthes Disease. *Orthop. Clin. N. Am.* 2011; 42: 279–283.
3. Крутикова Н.Ю., Виноградова А.Г. Болезнь Легга–Кальве–Пертеса. *Вопросы современной педиатрии.* 2015; 14 (5): 548–552.
4. Kim HKW. Legg–Calve–Perthes Disease: Etiology, Pathogenesis, and Biology. *J. Pediatr. Orthop.* 2011; 31 (2): 141–146.
5. Joseph B, Price CT. Principles of Containment Treatment Aimed at Preventing Femoral Head Deformation in Perthes Disease. *Orthop. Clin. N. Am.* 2011; 42: 317–327.
6. Тепленький М.П., Парфенов Э.М. Хирургическое лечение детей с тяжелыми формами болезни Пертеса. *Гений ортопедии.* 2013; 1: 32–35.
7. Shah H. Perthes Disease. Evaluation and Management. *Orthop. Clin. N. Am.* 2014; 45: 87–97.
8. Kim HKW, Herring JA. Pathophysiology, Classifications, and Natural History of Perthes Disease. *Orthop. Clin. N. Am.* 2011; 42: 285–295.
9. Joseph B. Natural History of Early Onset and Late-Onset Legg–Calve–Perthes Disease. *J. Pediatr. Orthop.* 2011; 31 (2): 152–155.
10. Белецкий А.В., Ахтямов И.Ф., Богосьян А.Б. Асептический некроз головки бедренной кости у детей. *Казань: б/и,* 2010: 254.
11. Лунева С.Н., Матвеева Е.Л., Тропин В.И., Тепленький М.П., Гасанова А.Г., Спиркина Е.С. Биохимические маркеры поражения соединительной ткани у детей с дисплазией тазобедренного сустава. *Гений ортопедии.* 2014; 4: 34–38.
12. Десятниченко К.С. Биохимические исследования зрелой костной ткани и дистракционного регенерата кости (информационное письмо). Курган, 1992.
13. Bitter, Muir HM. A modified uronik acid carbazole reaction. *Analyt. Biochem.* 1962; 4: 330.
14. Holt C. The method for the determination of serum glycoproteins. *Klin. Wschr.* 1954; 35: 66.
15. Elson JA, Morgan WT. Colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. *Biochem. J.* 1933: 1824–1831.
16. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J. Biol. Chem.* 1959; 234: 1971–1975.
17. Белова Ю.С. Биологическая роль олигомерного матричного белка хряща в обменных процессах соединительной ткани. *Успехи физиологических наук.* 2015; 46 (4): 90–96.
18. Тюрин А.В., Давлетшин Р.А. К вопросам патогенеза остеоартрита и дисплазии соединительной ткани. *Медицинский вестник Башкортостана.* 2013; 8 (4): 80–83.

РЕФЕРАТЫ

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ТРАНСКРАНИАЛЬНАЯ ДОППЛЕРОГРАФИЯ ДАЕТ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О НЕЙРОСОСУДИСТЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ У ДЕТЕЙ С ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МАЛЯРИЕЙ

Задача исследования: оценить нейроваскулярные изменения у педиатрических пациентов с церебральной малярией. **Материалы и методы:** в исследование были включены африканские дети, которые ежедневно проводили ультразвуковую транскраниальную доплерографию (УЗТД) в течение 8 дней, до выписки или смерти. **Неврологические результаты** оценивали через 2 недели после включения. **Результаты:** всего были включены 160 детей с церебральной малярией и 155 пациентов группы сравнения. У пациентов с церебральной малярией изменения УЗДТ, характеризующиеся повышенным кровенаполнением, наблюдались у 42 (26%), сниженной скоростью кровотока у 46 (28%), микрососудистой обструкции у 35 (22%), спазмом сосудов головного мозга у 21 (13%) и изолированным повышенным кровенаполнением у 7 (4%). У большинства был единственный нейроваскулярный фенотип, наблюдаемый на протяжении всего исследования. Среди пациентов группы сравнения 76% имели нормальные результаты УЗТД ($p < 0,001$). Нарушение ауторегуляции имело место в 80% случаев (кратковременная гиперемическая реакция $1,01 \pm 0,03$), но состояние улучшалось к 4-му дню ($1,1 \pm 0,02$, $p = 0,014$). Общая смертность

составила 24% ($n = 39$). Неврологический дефицит был диагностирован у 21% выживших. Дети, отвечающие критериям вазоспазма, чаще всего выживали с осложнениями, а дети, отвечающие критериям низкого кровотока, чаще всего умирали. Ауторегуляция была лучше у детей с нормальным неврологическим исходом (1,09, 95% ДИ 1,06–1,12), чем у других (0,98, 95% ДИ 0,95–1) ($p \leq 0,001$). **Выводы:** у детей с церебральной малярией было выявлено несколько явных изменений в параметрах УЗТД, что позволило провести фенотипическую группировку. Группы имели четкие ассоциации с неврологическими исходами. Валидация патогенных механизмов, связанных с каждым фенотипом, может помочь в использовании УЗТД в качестве портативного, простого в использовании инструмента, который поможет направить дополнительную целевую терапию при церебральной малярии на причинные механизмы повреждения на индивидуальном уровне.

Nicole Fortier O'Brien, Tshimanga Mutatshi Taty, Melissa Moore-Clingenpeel, Joseph Bodi Mabiala, Jean Mbaka Pongo, Davin Ambitapio Musungufu, Mananu Uchama, Marcel Yotebieng. *The Journal of Pediatrics*, 2018; 203: 116–124.