

БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ВТОРИННОГО ОСТЕОПОРОЗУ У ХВОРИХ НА ЮВЕНІЛЬНИЙ РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ

Павлишин Г.А., Ковальчук Т.А.

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Резюме. Встановлено, що гіпокальціємія та низька активність лужної фосфатази у хворих на ювенільний ревматоїдний артрит спостерігаються через 5 років з моменту дебюту захворювання. Підвищення рівня іонізованого кальцію супроводжується зростанням Ig M, IL-8 та зниженням загальної лужної фосфатази. Виявлені обернені лінійні зв'язки між рівнем лужної фосфатази та показниками CD3+, CD4+, CD16+ лімфоцитів, Ig E, IL-4. У дітей із комбінованою хронічною патологією шлунково-кишкового тракту та ювенільним ревматоїдним артритом відзначається тенденція до зниження показника загальної лужної фосфатази.

Ключові слова: ювенільний ревматоїдний артрит, іонізований кальцій, загальна лужна фосфатаза, діти.

Вступ. Остеопороз – поширене ускладнення ювенільного ревматоїдного артриту (ЮРА), що характеризується навколосуглобовим (локальним) та генералізованим зниженням щільності мінерального компоненту кістки. Локальний остеопороз кісток уражених суглобів, що виявляється рентгенологічно, є одним із діагностичних критеріїв ЮРА та показником оцінки тяжкості захворювання [1]. У ряді досліджень доведено, що формування навколосуглобового остеопорозу відбувається протягом першого року захворювання, тоді як надалі системні порушення ремоделювання кісткової тканини переважають над локальними [2, 3].

Прийнято вважати, що порушення синтезу імунних медіаторів (цитокінів та факторів росту) відіграє провідну роль у розвитку вторинного остеопорозу при ЮРА [4, 5]. Основну роль у розвитку остеопенічних порушень відіграє дисбаланс про- й протизапальних цитокінів [6], а зниження рухової активності хворих, тривала терапія глюкокортикоїдами сприяє їх прогресуванню [7, 8]. Виявлена пряма залежність між частотою виникнення остеопорозу та тривалістю захворювання [1].

Діагностика стану кісткової тканини має два основні напрямки: вивчення біохімічних маркерів, що відображають процеси кісткового ремоделювання, та визначення кісткової маси й механічних характеристик кістки. Сьогодні існує значна кількість досліджень із визначення кісткової маси при вторинному остеопорозі, тоді як у вивчен-

ні біохімічних маркерів залишається багато відкритих питань.

Метою роботи було встановити рівні кальцію та загальної лужної фосфатази у хворих на ЮРА, простежити взаємозв'язок даних параметрів із виявленими імунологічними порушеннями.

Матеріали та методи. На базі Тернопільської обласної дитячої клінічної лікарні було обстежено 53 дитини, з них 30 дівчаток і 23 хлопчики віком від 2 до 17 років. Діагноз ЮРА встановлювався із врахуванням Східно-Європейських діагностичних критеріїв (1979 р.) та Східно-Європейської робочої класифікації (1980 р.).

При надходженні в стаціонар ретельно вивчався анамнез хворих, виконувалися загальноприйняті клінічні та лабораторно-інструментальні методи дослідження. Проводилося визначення рівнів іонізованого кальцію, натрію, калію крові іон-селективним методом на апараті Easy Lyte Calcium Na/K/Ca/pH Analyzer, а також фосфору за методикою відновлення фосформолібденової кислоти. Активність загальної лужної фосфатази, як одного з маркерів кісткоутворення, визначалася за допомогою реакції з фенілфосфатом. Імунологічне дослідження включало виявлення ревматоїдного фактору (метод Л. Сперанського), С-реактивного протеїну (реакція аглютинації), кластерів диференціювання CD4, CD8, CD3 лімфоцитів у периферичній крові (метод проточної цитофлюориметрії). Серологічне дослідження полягало у визначенні Ig A, Ig M, Ig G, Ig E (принцип двосайтового імуноферментно-

го аналізу, метод специфічних антиглобулінових кон'югатів), а також TNF- α , IL-4, IL-8 у сироватці крові (метод твердофазного імуноферментного аналізу з використанням калібрувальних кривих). Практично всім дітям проводилася рентгенографія найбільш уражених суглобів.

Отримані дані були статистично опрацьовані за допомогою програм "Microsoft Excel" та "Statistica-6.0". Обчислювалися середні арифметичні величини (M) із середніми квадратичними відхиленнями (m). Перевірка гіпотез про достовірність різниці двох середніх (p) виконувалася за допомогою t-критерію Ст'юдента. Проводився кореляційний аналіз (r) з обчисленням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена. Результати вважали достовірними при рівні їх статистичної значимості $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Серед обстежених дітей домінували дівчата – 56,6%, тоді як частка осіб чоловічої статі склала 43,4%. Середній вік дітей на момент обстеження становив $(13,1 \pm 0,6)$, дебюту ЮРА – $(10,5 \pm 0,6)$, тривалість захворювання – $(2,67 \pm 0,5)$ років. У процесі кореляційного аналізу (табл. 1) взаємозв'язків між статтю, віком на момент маніфестації захворювання та його тривалістю виявлено не було.

Окрему увагу було звернено на наявність супутньої хронічної патології шлунково-кишкового тракту у хворих на ЮРА, що в цілому становила 76,9%. На долю дискінезії жовчовивідних шляхів випало 27,3, її поєднання із хронічним гастродуоденітом – 49,9% випадків. Хоча захворювання гепатобіліарної та гастродуоденальної зон супроводжуються зростанням рівня лужної фосфатази, під час дослідження було виявлено зворотній ефект. На нашу думку, падіння рівня загальної лужної фосфатази в цих дітей пов'язане зі зниженням компенсаторних механізмів кісткоутворення (як прояв ЮРА) на тлі порушеного всмоктування окремих вітамінів (С та B_{12}) і мікроелементів (цинку та магнію), токсичного впливу протизапальної терапії на гепатобіліарну та гастродуоденальну зони (як прояв хронічної патології шлунково-кишкового тракту) [9].

Серед форм ЮРА переважала полісуглобова – 42,1, олігосуглобова й моносуглобова склали 36,2 та 16,1%. Системна форма у вигляді субалергосепсису Віслера-Фанконі реєструвалася в 3 дітей. Серопозитивний варіант ЮРА спостерігався в 12,3% пацієнтів, незалежно від статі. У 88,8% дітей відзначалася активність процесу (мінімальна – 66,2, середня – 15,1, висока – 7,5%). У 61,1% хворих перебіг ЮРА супроводжувався по-

Таблиця 1. Кореляційний аналіз основних клініко-лабораторних параметрів ювенільного ревматоїдного артриту та рівнів іонізованого кальцію, фосфору, загальної лужної фосфатази сироватки

| Клініко-лабораторний параметр ЮРА | Кальцій | Фосфор | Загальна лужна фосфатаза |
|--|---------|--------|--------------------------|
| Стать | 0,09* | 0,25* | 0,19* |
| Вік на момент обстеження | -0,14* | -0,14* | -0,07* |
| Вік на момент дебюту ЮРА | 0,11* | 0,11* | 0,04* |
| Тривалість хвороби | -0,17* | -0,27* | -0,16* |
| Супутня хронічна патологія шлунково-кишкового тракту | -0,15* | -0,04* | -0,42* |
| Варіант суглобової форми | -0,06* | -0,09* | 0,01 |
| Серологічний варіант | -0,07* | -0,24* | -0,01 |
| Активність | 0,20* | 0,25* | 0,17* |
| Рентгенологічна стадія | 0,01 | 0,11* | -0,04* |
| Функціональні порушення | 0,23* | 0,30* | 0,05* |
| Рівень лейкоцитів | 0,05* | 0,07* | 0,18* |
| ШОЕ | 0,17* | 0,39* | 0,01 |
| С-реактивний протеїн | 0,10* | 0,29* | -0,03 |
| Серомуккоїди | -0,09* | 0,19* | 0,06* |
| Сиалові кислоти | 0,04* | 0,12* | -0,36* |
| Сироватковий натрій | -0,02 | -0,10* | 0,05* |
| Сироватковий калій | 0,52* | 0,46* | 0,05* |
| Сироватковий кальцій | - | 0,39* | -0,41* |
| Сироватковий фосфор | 0,39* | - | 0,40* |
| Загальна лужна фосфатаза | -0,41* | 0,40* | - |

Примітка. * – достовірність кореляційного зв'язку, $p < 0,05$.

рушенням функції суглобів. Взаємозв'язків між формою, серологічним варіантом, активністю захворювання, рівнем функціональних порушень та параметрами кальцій-фосфорного гомеостазу не виявлено.

Рентгенологічно 0 стадія ЮРА мала місце в 29,8, I – 33,4, II – 13,9, III – 22,9, IV – 0% дітей. Хоча наявність перисуглобового остеопорозу є діагностичним критерієм захворювання, виявити його зв'язок із рівнем кальцію, фосфору та лужної фосфатази не вдалося.

Встановлено прямий лінійний зв'язок між рівнем фосфору та ШОЕ, лужною фосфатазою. Зниження показників загальної лужної фосфатази супроводжувалося зростанням сіалових кислот та кальцію в сироватці крові.

У таблиці 2 представлені рівні іонізованого кальцію, фосфору та лужної фосфатази в обстежених дітей. Різниця між даними параметрами у хворих на ЮРА та контрольній групі не виявлено. Тому для кращої оцінки стану кальцій-фосфорного гомеостазу проводився порівняльний аналіз в залежності від тривалості захворювання. Так, встановлено, що гіпокальціємія в поєднанні зі зниженням рівня лужної фосфа-

тази реєструється уже через 5 років з моменту маніфестації захворювання. Рівень фосфору в сироватці крові від тривалості патологічного процесу не залежав.

Незважаючи на те, що Т-лімфоцити в нормі не відіграють суттєвої ролі в регуляції кісткового обміну [10], патологічна активація останніх в умовах дисбалансу про- та протизапальних цитокінів здатна індукувати порушення обміну кісткової тканини. Із цієї причини проводився кореляційний аналіз для виявлення взаємозв'язків між клітинною й гуморальною ланками імунітету та біохімічними маркерами остеопорозу (табл. 3).

Виявлено, що зниження рівнів Ig M та ІЛ-8 супроводжується гіпокальціємією. Зростання рівня фосфору, маючи пряму лінійну залежність із рівнем іонізованого кальцію (табл. 1), характеризувалося зниженням показників CD3+, TNF- α , ІЛ-4 та зростанням CD22+ клітин. Рівень загальної лужної фосфатази мав обернений лінійний зв'язок із CD3+, CD4+, CD16+ клітинами, Ig E та протизапальним ІЛ-4. Отримані дані підтверджують зростання активності лужної фосфатази на тлі зниження активності ЮРА.

Таблиця 2. Рівні іонізованого кальцію, фосфору та загальної лужної фосфатази в сироватці крові дітей, хворих на ювенільний ревматоїдний артрит

| Тривалість захворювання | Кальцій іонізований, ммоль/л | Фосфор, ммоль/л | Загальна лужна фосфатаза, ммоль/(с.л) |
|-------------------------|------------------------------|-----------------|---------------------------------------|
| Контрольна група | 1,21 \pm 0,14 | 1,32 \pm 0,34 | 3664,28 \pm 428,49 |
| Основна група | | | |
| На момент обстеження | 1,06 \pm 0,02 | 1,14 \pm 0,06 | 3364,05 \pm 285,81 |
| 1-й рік захворювання | 1,09 \pm 0,02 | 1,31 \pm 0,05 | 3762,21 \pm 261,89 |
| 2-4-й рік захворювання | 1,08 \pm 0,02 | 1,09 \pm 0,05 | 3358,07 \pm 412,49 |
| 5-ть років і більше | 1,03 \pm 0,02* | 1,03 \pm 0,07 | 2971,86 \pm 183,05* |

Примітка. * – вірогідність різниці ($p < 0,05$) порівняно з показниками норми.

Таблиця 3. Кореляційний аналіз окремих імунологічних показників та біохімічних маркерів вторинного остеопорозу

| Імунологічний показник | Кальцій | Фосфор | Загальна лужна фосфатаза |
|------------------------|---------|--------|--------------------------|
| CD3+ | -0,23* | -0,38* | -0,44* |
| CD4+ | -0,13* | -0,10* | -0,37* |
| CD8+ | -0,25* | 0,06* | -0,21* |
| CD16+ | -0,08* | 0,08* | -0,40* |
| CD22+ | 0,03 | 0,40* | -0,17* |
| CD4+/CD8+ | 0,20* | -0,09* | -0,08* |
| Ig A | -0,10* | 0,00 | -0,10* |
| Ig M | 0,38* | 0,25* | 0,10* |
| Ig G | -0,13* | -0,23* | 0,20* |
| Ig E | -0,25* | 0,22* | -0,51* |
| TNF- α | 0,08* | -0,56* | -0,23* |
| ІЛ-4 | -0,07* | -0,42* | -0,35* |
| ІЛ-8 | 0,64* | -0,01 | 0,09* |

Примітка. * – достовірність кореляційного зв'язку, $p < 0,05$.

Висновки.

У дітей із комбінованою хронічною патологією шлунково-кишкового тракту та ЮРА відзначається не зростання, а зниження показників загальної лужної фосфатази ($r=-0,42$, $p<0,05$). Очевидно, це пов'язано зі зниженням компенсаторних механізмів кісткоутворення, як прояв активності ЮРА, на тлі порушеного всмоктування окремих вітамінів та мікроелементів, токсичного впливу протизапальної терапії на гепатобіліарну та гастродуоденальну зони, як прояв хронічної патології шлунково-кишкового тракту.

Зростання рівня іонізованого кальцію має пряму лінійну залежність із рівнем фосфору в сироватці крові ($r=0,39$, $p<0,05$), Ig M ($r=0,38$, $p<0,05$) та IL-8 ($r=0,64$, $p<0,05$), як імунологічними маркерами активності ЮРА, й супроводжується зниженням рівня загальної лужної фосфатази ($r=-0,41$, $p<0,05$). Гіпокальціємія та низька активність лужної фосфатази у хворих на ЮРА дітей спостерігаються вже через 5 років з моменту дебюту захворювання ($p<0,05$).

Показники фосфору сироватки крові зростають на тлі збільшення ШОЕ ($r=0,39$, $p<0,05$), загальної лужної фосфатази ($r=0,40$, $p<0,05$), CD22+ лімфоцитів ($r=0,40$, $p<0,05$) та зниження CD3+ ($r=-0,38$, $p<0,05$), TNF- α ($r=-0,56$, $p<0,05$), IL-4 ($r=0,42$, $p<0,05$).

Зростання рівня загальної лужної фосфатази відбувається на тлі зниження активності ЮРА, про що свідчать рівні CD3+ ($r=-0,44$, $p<0,05$), CD4+ ($r=-0,37$, $p<0,05$), CD16+ клітин ($r=-0,40$, $p<0,05$), Ig E ($r=-0,51$, $p<0,05$) та IL-4 ($r=-0,35$, $p<0,05$).

Література

1. Лукьянова Е.М., Омельченко Л.И. Вторичный остеопороз у детей // Doctor. – 2004. – №1. – С. 10-13.
2. Марушко Т.В. Новые направления в лечении ревматоидного артрита у детей // 36. наук. пр. співроб. КМАПО ім. П. Л. Шупика. – 2005. – Вип. 14, кн. 2. – С. 276-280.
3. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю. Новые направления исследования воспаления при ревматических заболеваниях / Избранные лекции по клинической ревматологии; под ред. В.А. Насоновой и Н. В. Бунчука. – М.: Медицина, 2001. – С. 270.
4. Gyrnska A., Kowal-Bielecka O., Urban M., Pietrewicz E. Interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels in the serum and synovial fluid in relation to bone mineral density and turnover in children with juvenile idiopathic arthritis. // Centr. Eur. J. Immunol. – 2008. – 33(4). – P. 216-219.

5. Vivarelli M., De Benedetti F. Impact of chronic inflammation on bone during childhood. // Future Rheumatology. – 2006. – 1(4). – P. 455-464.
6. Марушко Т.В., Бережний В.В., Гавриленко Т.І. та ін. Роль про- і протизапальних цитокінів у розвитку запального процесу при ювенільному ревматоїдному артриті // Український ревматологічний журнал. – 2006. – №1 (23). – С. 33-36.
7. Казимирко В.К., Коваленко В.С., Мальцев В.И. Остеопороз: патогенез, клиника, профилактика и лечение / 3-е изд., стереотип. – К.: МОРИОН, 2007. – 160 с.
8. Матвеев А.В., Коняева Е.И. Взаимосвязь роста детей, больных ювенильным ревматоидным артритом, с выраженностью процессов костного ремоделирования и данными денситометрии // Таврический Медико-биологический вестник. – 2010. – Т.13, №1 (49). – С. 137-141.
9. <http://forum.xumuk.ru/index.php?showtopic=132>.
10. Fox D.A. The role of T cells in immunopathogenesis of rheumatoid arthritis: new perspectives. // Arthritis Rheum. – 1997. – 40. – P. 598-609.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВТОРИЧНОГО ОСТЕОПОРОЗА У БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Павлишин Г.А., Ковальчук Т.А.

Резюме. Установлено, что гипокальциемия и низкая активность щелочной фосфатазы у больных ювенильным ревматоидным артритом наблюдаются через 5 лет с момента дебюта заболевания. Повышение уровня ионизированного кальция сопровождается увеличением Ig M, IL-8 и снижением общей щелочной фосфатазы. Выявлены обратные линейные связи между уровнем щелочной фосфатазы и показателями CD3+, CD4+, CD16+ лимфоцитов, Ig E, IL-4. У детей с комбинированной хронической патологией желудочно-кишечного тракта и ювенильным ревматоидным артритом отмечается тенденция к снижению показателя общей щелочной фосфатазы.

Ключевые слова: ювенильный ревматоидный артрит, ионизированный кальций, общая щелочная фосфатаза, дети.

BIOCHEMICAL MARKERS OF SECONDARY OSTEOPOROSIS IN PATIENTS WITH JUVENILE RHEUMATOID ARTHRITIS

Pavlyshyn G.A., Kovalchuk T.A.

Abstract. Hypocalcemia and low activity of an alkaline phosphatase in patients with juvenile rheumatoid arthritis observed after 5 years from the beginning of the disease. Increased ionized calcium accompanied by increase Ig M, IL-8 and decrease a total alkaline phosphatase. Inverse linear relationship is revealed between the level of alkaline phosphatase and indicators of CD3+, CD4+, CD16+ lymphocytes, Ig E, IL-4. In children with combined chronic pathology of the gastrointestinal tract and juvenile rheumatoid arthritis present tendency to decrease a total alkaline phosphatase.

Key words: juvenile rheumatoid arthritis, calcium ionisatum, alkaline phosphatase, children.