

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 15, №3

2016



УДК 611-018.4-053.2

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОСТАЗЫ КАК СПЕЦИФИЧЕСКОГО МАРКЕРА ФОРМИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ И ВЗАИМОСВЯЗЬ ЕГО С СЫВОРОТОЧНЫМ ЦИНКОМ У ДЕТЕЙ

© Штыкова О.Н., Легонькова Т.И., Войтенкова О.В., Степина Т.Г., Абрамова Е.С.

Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28

Резюме: костная ткань динамична, ее образование и резорбция продолжают всю жизнь. Остазы определяют скорость формирования кости, участвуют в созревании матрикса и его минерализации. Важную роль в процессе функционирования костного изофермента щелочной фосфатазы играет цинк (Zn), входя по одному атому в состав каждого активного ядра. Целью настоящей работы явилось изучение клинического значения костного изофермента щелочной фосфатазы (остаза) и выявление взаимосвязи ее с уровнем Zn в сыворотке крови. Под наблюдением находились 102 ребенка. Уровень сывороточного цинка определялся методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии. Определение остаза в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа с помощью тест системы SEB09 1 Hu. В ходе исследования было выявлено, что уровень Zn в сыворотке крови коррелирует с ростом ребенка ($r=0,47$), при $p<0,05$ и со специфическим маркером формирования костной ткани, изоферментом щелочной фосфатазы – остазой ($r=0,65$), при $p<0,05$. При этом средний показатель остаза у детей с цинкдефицитом был достоверно ниже ($2,64\pm 0,75$ мкг/л), чем у детей с достаточным уровнем Zn ($3,78\pm 1,29$ мкг/л), при $p<0,01$.

Ключевые слова: цинк, дефицит цинка, рост, костная масса, биоимпедансометрия, костный изофермент щелочной фосфатазы, остазы, ультразвуковая остеоденситометрия, дети

CLINICAL SIGNIFICANCE BONE ALKALINE PHOSPHATASE HOW SPECIFIC MARKERS OF BONE FORMATION AND CORRELATION OF IT WITH SERUM ZINC IN CHILDREN

Shtykova O.N., Legonkova T.I., Voytenkova O.V., Stepina T.G., Abramova E.S.

Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28

Summary: tissue is dynamic, its formation and resorption continues throughout life. Ostase determines the rate of bone formation, and participates in the maturation of the matrix and its mineralization. Zinc (Zn) that composes one atom in every active nucleus, plays an important role in the functioning of the bone-specific isoenzyme of alkaline phosphatase. The aim of this work was to study the clinical value of bone isoenzyme of alkaline phosphatase (ostaze) and to identify its relationship with the level of Zn in blood serum. The study included 102 children. Serum zinc was assessed by atomic absorption spectrophotometry. Determination of serum ostaze was conducted by enzyme immunoassay using SEB09 1 Hu test systems. The study revealed that Zn levels in serum correlates with the growth of the child ($r=0.47$), with $p<0.05$ and a specific marker of bone formation, alkaline phosphatase isoenzyme – ostaze ($r=0.65$) at $p<0.05$. The average ostaze rate in children with zinc deficiency was significantly lower (2.64 ± 0.75 mkg/l) than in children with a sufficient level of Zn (3.78 ± 1.29 mkg/l), at $p<0.01$.

Key words: zinc, zinc deficiency, growth, bone mass, bioimpedance, bone-specific isoenzyme of alkaline phosphatase, ostaze, ultrasonic osteodensitometry, children

Введение

Рост ребенка является одним из главных индикаторов его здоровья. Линейный рост – это биологический процесс, который имеет основное значение для физического развития растущего организма. Нормальные процессы роста кости требуют согласованной работы многих гормональных, метаболических и ростовых факторов организма ребенка [1, 5, 6].

Костная ткань динамична, ее образование и резорбция продолжают всю жизнь. Этот процесс называется «ремоделированием» и является результатом сложных взаимодействий между костными клетками двух типов: остеобластами, ответственными за образование костной ткани, и остеокластами, ответственными за ее резорбцию [5, 6]. Образование и резорбция костной ткани – независимые процессы, которые в норме тесно сопряжены. Эта взаимосвязь необходима для

поддержания биохимической устойчивости скелета, обеспечивающего сохранение организации костной структуры, ее развитие и прочность. У здоровых детей формирование костной ткани преобладает над резорбцией, что обуславливает развитие костной ткани и нормальный рост скелета.

Имеющийся термин «здоровая кость» характеризует нормальное для каждого конкретного возраста анатомическое строение, соотношение кортикальной и губчатой кости, полноценную минерализацию скелета и обеспечивает прочность кости в условиях возрастного развития и жизнедеятельности ребенка.

За последнее десятилетие значительно возросла частота заболеваний костной системы у людей, истоки которых, как доказано, лежат в детском возрасте. Все больше появляется данных о роли остеотропных минералов в жизнедеятельности человека [1, 3, 5]. Для развития и функционирования костно-мышечной системы (КМС) более изучена роль кальция (Ca) и фосфора (P), при этом в тени остаются не менее важный для минерализации костной ткани цинк (Zn). Адекватное физиологическим потребностям поступление этих минералов является одним из важнейших условий гармоничного развития с внутриутробного развития до зрелого возраста. Они являются необходимыми элементами минерального матрикса кости, регуляторами физического и нервно-психического развития, участвуют в работе мышечной системы.

К основным факторам, определяющим формирование и минерализацию костной ткани у детей, относятся генетические факторы, антенатальные факторы (здоровье матери и течение беременности, гормональный гомеостаз и гомеостаз ионизированного Ca), обеспеченность нутриентами, постнатальные факторы (характер вскармливания, обеспеченность минералами и витаминами), двигательная активность [5, 6].

Ключевыми нутриентами для формирования прочной кости ребенка являются Ca, который программирует развитие скелета, витамин D, фосфор, белок (аминокислоты), Zn, необходимый для образования костного изофермента щелочной фосфатазы и гидроксиапатита костей, а также витамин A, K, Cu, Mn, др. Специфическим маркером формирования костной ткани служит остазы, которая определяет скорость формирования кости, участвует в созревании матрикса и его минерализации. Считается, что концентрация костной щелочной фосфатазы в сыворотке крови отражает состояние метаболизма остеобластов [9, 11]. Молекула щелочной фосфатазы (ЩФ) представляет собой димер, то есть состоит из двух белковых субмолекул, каждая из которых имеет, как правило, по три активных ядра. Важную роль в процессе ее функционирования играет Zn. Входя по одному атому в состав каждого активного ядра молекулы ЩФ цинк, выступает в роли кофермента, или катализатора реакции дефосфорилирования.

Однако, исследований, посвященных анализу взаимодействия остазы в организме, крайне мало, в основном это зарубежные данные касающиеся взрослого населения [2, 8-10].

Целью исследования явилось изучение клинического значения изофермента щелочной фосфатазы (остаза) и выявление её взаимосвязи с уровнем Zn в сыворотке крови на основании анализа проспективного наблюдения за детьми с различным уровнем Zn при рождении.

Методика

Под наблюдением находились 102 ребенка школьного возраста (41 мальчик и 61 девочка), имевшие при рождении разный уровень сывороточного Zn. Календарный возраст детей на момент обследования устанавливали согласно принятому в антропологии принципу: к 13-летним относили детей в возрасте от 12 лет 6 мес. до 13 лет 5 мес. 29 дней (Бунак В.В., 1941). Данный возрастной период не совпал с пиком пубертата, который приходится у девочек на 11 лет, у мальчиков – на 14 лет, когда возможна дисгармонизация, десинхронизация роста и накопления минералов, формирование пиковой костной массы. Обследуемые дети были разделены на две группы: первую группу составили 51 ребенок с нормальным уровнем цинка (более 13 мкмоль/л) (19 мальчиков и 32 девочки), вторую – 51 ребенок с дефицитом сывороточного цинка при рождении (менее 13 мкмоль/л) (22 мальчика и 29 девочек).

Дети школьного возраста наблюдались по стандартизованным протоколам. Протоколы включали данные анамнеза, антропометрического обследования, результаты клинических, лабораторных и инструментальных исследований. Проведена комплексная оценка состояния здоровья детей.

Использовались следующие методы исследования: клинические, лабораторные, биохимические (определение уровня цинка и остазы в сыворотке крови), функциональные (определение состава массы тела методом импедансометрии, ультразвуковая остеоденситометрия). Уровень

сывороточного цинка определялся методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии на атомном спектрофотометре «Shimadzu AA-7000» (Япония).

Определение остазы в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа с помощью тест системы SEB09 1 Nu. на базе Научно-исследовательского центра Смоленского государственного медицинского университета. Минеральная плотность кости оценивалась методом количественной ультрасонометрии на ультразвуковом денситометре «Omni mini» («Sunlight Medical Ltd», Израиль).

Все проводимые исследования были выполнены при наличии информированного согласия и получили одобрение этического комитета.

Статистическую обработку данных проводили с применением стандартного пакета программ STATISTICA 6 (StatSoft, США), Microsoft Excel 2007, с расчетом средней величины исследуемых показателей (M), ошибки средней (m), стандартного отклонения (σ), медианы (Me), моды (Mo). Для статистической оценки уровня достоверности (p) различий значений параметров в группах в работе использовали t-критерий Стьюдента и критерий Chi-square (χ^2). Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05. Определение тесноты корреляционной взаимосвязи между результатами исследований проводили путём расчёта линейного коэффициента корреляции Пирсона (r), критерия Манна-Уитни (U).

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе данных исследования выявлено, что у 94% детей с дефицитом Zn при рождении цинкдефицит сохраняется и в школьном возрасте. Выявлена корреляционная взаимосвязь между уровнем Zn в сыворотке крови матери и ребенка как в период новорожденности, так и в школьном возрасте ($r=0,38$), при $p<0,05$.

При анализе общих групп детей обнаружено, что у детей с нормальным уровнем Zn в сыворотке крови при рождении достоверно чаще отмечалось гармоничное физическое развитие и более высокий рост, чем у детей с цинкдефицитом. Так, при рождении дети с достаточным уровнем цинка имели длину тела больше, чем дети с дефицитом цинка – $52,23\pm 0,49$ см и $49,46\pm 0,54$ см ($p<0,05$) соответственно. В возрасте 1 год у детей с цинкдефицитом средний рост составил $74,10\pm 0,49$ см, у детей с достаточным уровнем цинка – $75,96\pm 0,42$ ($p<0,05$). У детей с дефицитом Zn в 7-летнем возрасте средний рост составлял $122,6\pm 1,30$ см, тогда как у детей с нормальным уровнем Zn в сыворотке крови этот показатель был выше ($126,5\pm 1,77$ см) при $p<0,05$. В возрасте 11 лет показатели соответствовали $149,57\pm 1,99$ и $154,12\pm 2,81$ см при $p<0,05$. Данная тенденция сохранилась и в 13 лет: у детей с цинкдефицитом – $160,3\pm 1,13$ см, у детей с нормальным уровнем Zn – $166,4\pm 1,61$ см, при $p<0,01$ (табл. 1). Статистически значимых половых различий между мальчиками и девочками выявлено не было ($p>0,1$).

Таблица 1. Показатели длины тела у детей с разным уровнем цинкобеспеченности

Возраст	Длина тела (см)						p
	Основная группа (n=51) Zn>13 мкмоль/л			Контрольная группа (n=51) Zn<13 мкмоль/л			
	M±m	σ	Me	M±m	σ	Me	
При рождении	$52,23\pm 0,49$	3,09	53	$49,46\pm 0,54$	4,02	50	$p<0,05$
1 год	$75,96\pm 0,42$	2,50	75	$74,10\pm 0,49$	2,93	73	$p<0,05$
7 лет	$126,5\pm 1,77$	7,09	125,75	$122,6\pm 1,30$	5,69	122	$p<0,05$
11 лет	$154,12\pm 2,81$	7,95	154	$149,57\pm 1,99$	7,69	150	$p<0,05$
12 лет	$158,92\pm 2,67$	6,53	159,5	$151,48\pm 2,66$	7,09	151,8	$p<0,05$
13 лет	$166,4\pm 1,61$	6,62	168	$160,3\pm 1,13$	6,48	160	$p<0,01$

При анализе композиционного состава массы тела методом импедансометрии с характеристикой костной, жировой и мышечной массы установлено, что костная масса у детей с дефицитом Zn ($5,75\pm 0,95$ кг) была достоверно ниже, чем у детей с достаточным уровнем Zn ($6,38\pm 1,18$ кг), при $p<0,05$ (рис.1).

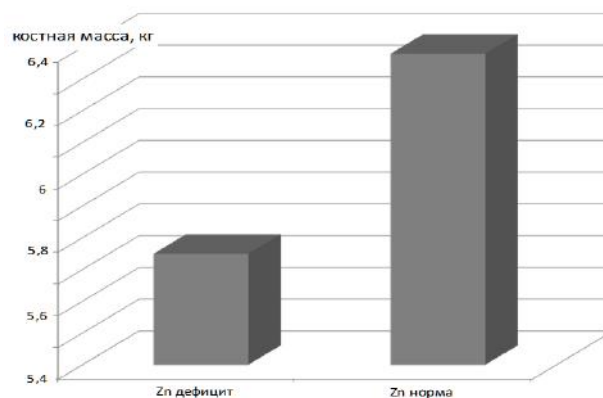


Рис. 1 Костная масса у детей в зависимости от уровня Zn в сыворотке крови

Статистически значимых половых различий в показателях костной массы не выявлено ($p > 0,1$). Корреляционный анализ показал, что костная масса ребенка коррелирует с длиной тела ($r = 0,81$) и уровнем Zn в сыворотке крови ($r = 0,44$), при $p < 0,05$. Также отмечено, что уровень Zn в сыворотке крови коррелирует с ростом ребенка ($r = 0,47$; при $p < 0,05$) и со специфическим маркером формирования костной ткани (изоферментом щелочной фосфатазы) – остазой ($r = 0,65$), при $p < 0,05$. При этом средний показатель остазы у детей с циндефицитом был достоверно ниже ($2,64 \pm 0,75$ мкг/л), чем у детей с достаточным уровнем Zn ($3,78 \pm 1,29$ мкг/л), при $p < 0,01$ (табл. 2). При этом статистически значимых различий уровня остазы между девочками и мальчиками выявлено не было ($p > 0,1$).

Таблица 2. Показатели концентрации остазы у детей 13 лет с различным уровнем сывороточного цинка (мкг/л)

	Zn > 13 мкмоль/л			Zn < 13 мкмоль/л			p
	Д	М	Д+М	Д	М	Д+М	
М	3,51	4,28	3,78	2,60	2,71	2,64	p < 0,01
Min	2,17	2,07	3,78	1,45	1,66	1,45	
Max	5,85	6,38	6,38	3,71	4,35	4,35	
σ	1,19	1,42	1,29	7,55	7,77	0,75	
P д/м	p > 0,05			p > 0,05			

Учитывая отсутствие в литературе нормативных данных остазы в сыворотке крови у детей, было проведено определение уровня остазы у здоровых детей в возрасте 12 и 13 лет с нормальным уровнем сывороточного цинка, как при рождении, так и на момент исследования (табл. 3).

Таблица 3. Перцентильное распределение уровня остазы в сыворотке крови у детей (мкг/л)

Возраст	Перцентили					
	3	10	25	75	90	95
12 лет	1,23	1,53	1,88	5,39	6,84	7,06
13 лет	1,06	1,48	1,76	4,34	6,68	7,62
12-13 лет	1,23	1,51	1,82	5,19	6,76	7,06

Достоверных различий показателей остазы между возрастными группами детей 12-ти и 13 лет ($p = 0,55$), а также половых различий в данных группах выявлено не было ($p = 0,50$ и $0,53$ соответственно). Возрастная норма уровня остазы в сыворотке крови у детей 12-13 лет составляет 1,82-5,19 мкг/л.

При сравнении показателей ультразвуковой остеоденситометрии обследованных детей с различным уровнем сывороточного цинка установлено, что при дефиците цинка отмечаются более низкие показатели прочности кости, чем у детей с достаточным содержанием данного микроэлемента.

Средняя скорость ультразвука в лучевой и большеберцовой кости у детей с уровнем цинка более 13 мкмоль/л составила $3881 \pm 42,8$ и $3795 \pm 21,2$ м/с соответственно, интегральный показатель z-score = 0,71 и 0,59 (табл. 4).

Таблица 4. Показатели скорости ультразвуковой волны в зависимости от уровня цинка в сыворотке крови у детей

Уровень цинка	Min SOS, м/с	Max SOS, м/с	Среднее Значение SOS, м/с	Медиана SOS, м/с	Среднее значение z-score	Медиана z-score
в лучевой кости						
Более 13 мкмоль/л	3705	4073	3881±42,8*	3869*	0,71*	0,65*
Менее 13 мкмоль/л	3360	3925	3778±23,5*	3808*	-0,2*	0,1*
в большеберцовой кости						
Более 13 мкмоль/л	3715	3883	3795±21,2*	3784*	0,59*	0,5*
Менее 13 мкмоль/л	3400	3996	3667±26,3*	3669*	-0,69*	-0,7*

Примечание: * – достоверность различий $p < 0,05$

Тогда как у детей с уровнем цинка менее 13 мкмоль/л показатели прочности лучевой и большеберцовой кости были достоверно ниже 3778±23,5 и 3667±26,3 м/с соответственно, интегральный показатель z-score=0,2 и -0,69 при $p < 0,05$. Выявлена положительная корреляционная взаимосвязь между уровнем цинка в сыворотке крови у детей и показателями скорости ультразвуковой волны в лучевой кости (коэффициент корреляции Пирсона $r=0,37$).

Влияние цинка на формирование костной ткани у детей, взаимосвязь с показателями костного изофермента щелочной фосфатазы и костной плотности, клинически проявляется при дефиците данного микроэлемента на состоянии костно-мышечной системы у детей. В ходе исследования было выявлено, что у детей с сывороточным цинком менее 13 мкмоль/л патология опорно-двигательного аппарата в старшем школьном возрасте отмечалась достоверно чаще (79%) по сравнению с их сверстниками с достаточным уровнем цинка (52%), $p < 0,05$. При оценке структуры патологии костно-мышечной системы, у детей с дефицитом цинка было установлено, что она представлена нарушением осанки (39%), сколиозом (19%), плоскостопием (31%), плоско-вальгусной или варусной установкой стоп (42%), вальгусом коленных суставов (22%), при этом у цинкдефицитных детей чаще отмечались более тяжелые формы данных заболеваний.

Эссенциальное значение цинка определяется присутствием его в составе более 300 металлоферментов, участвующих в важнейших метаболических процессах, включая синтез и распад белков, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот. Цинк влияет на работу центральной нервной системы, генетического аппарата клетки, иммунитет, эндокринную систему, необходим для образования изофермента костная щелочная фосфатаза, гидроксипатита костей скелета, является незаменимым для линейного роста детей [7].

Согласно данным отечественных авторов, дефицит потребления Zn с питанием у детей составляет около 50% [1, 4]. Каждый 3-5 ребенок, рожденный от женщины с цинкдефицитом, так же имеет дефицит Zn [4].

Влияние цинка (Zn) на процесс функционирования костного изофермента щелочной фосфатазы (остазы) обусловлено тем, что в состав каждого активного ядра щелочной фосфатазы входит по одному атому Zn, который выступает в роли кофермента, или катализатора реакции дефосфорилирования. По данным научной литературы, остаза определяет скорость формирования кости, участвует в созревании матрикса и его минерализации, что подтверждается такими методами исследования как гистоморфометрия и кинетика радиоактивного Ca в организме [9,11]. Находящийся в активном центре остазы Zn, играет важную роль в процессе восстановления и функционирования костной ткани и процессе роста у детей.

Заключение

Таким образом, в ходе исследования было выявлено, что у детей с дефицитом Zn при рождении, при отсутствии его коррекции, недостаток данного эссенциального микроэлемента сохраняется и в старшем школьном возрасте.

Также доказана взаимосвязь содержания Zn в сыворотке крови с ростом ребенка и уровнем специфического маркера формирования костной ткани, изофермента щелочной фосфатазы (остазы) и показателями костной плотности, в связи с чем, в медицинской практике необходимо более широко использовать определения уровня остазы и сывороточного Zn для ранней диагностики патологии костной системы.

Полученные данные еще раз подтверждают уникальность для организма ребенка цинка, отнесенного к числу четырех микронутриентов (йод, железо, цинк, магний), которые Всемирной организацией здравоохранения признаны, по социальным и медицинским масштабам наиболее

значимыми и существенными. Причем значимость эта столь велика, что ликвидация их дефицита относится к числу неотложных задач ВОЗ. Так как минерализация скелета ребенка имеет значение для линейного роста и качества кости на протяжении всей жизни человека. Ключевыми нутриентами, влияющими на минерализацию и рост костей являются белок, Са, витамин Д, Р, Zn, а специфическим маркером формирования костной ткани служит изофермент щелочной фосфатазы (остаза).

Литература

1. Крутикова Н.Ю. Возрастные особенности костной прочности у новорожденных, детей раннего и дошкольного возраста (факторы риска, диагностика, профилактика, коррекция нарушений): Автореф. дис... докт. мед. наук. – М., 2012. – 53 с.
2. Конорев В.А. Маркеры костного метаболизма в мониторинге больных раком предстательной железы на фоне максимальной андрогенной блокады: Автореф. дис... канд. мед. наук. – М., 2008. – 23 с.
3. Курмачева Н.А., Зотова Ю.А., Топорова Е.Е. Потребление кальция подростками (на примере Саратовской области) // Лечение и профилактика. – 2013. – Т.5, №1. – С. 31-35.
4. Легонькова Т.И., Степина Т.Г., Войтенкова О.В., и др. Анализ фактического питания детей младшего школьного возраста г. Смоленска // Пищевая непереносимость у детей. Современные аспекты диагностики, лечения, профилактики и диетотерапии. Сборник статей / Под ред. В.П. Новиковой, Т.В. Косенковой. – СПб – 2016. – С. 172-180.
5. Щеплягина Л.А., Круглова И.В., Моисеева Т.Ю. Истоки остеопороза взрослых лежат в детском возрасте // Лечение и профилактика. – 2013. – Т.5, №1. – С. 5-12.
6. Щеплягина Л.А., Нетребенко О.К. Значение питания для формирования костей скелета у детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2012. – Т.91, №1. – С. 107-114.
7. Щеплягина, Л.А., Нетребенко О.К. Питание беременной женщины и программирование заболеваний ребенка на разных этапах онтогенеза (теоретические и практические вопросы) // Лечение и профилактика. – 2012. - №1(2). – С.6-15.
8. Raisz L., Smith J.A., Trahiotism M. et al. Short-term risedronate treatment in postmenopausal women: Effects on biochemical markers of bone turnover // Osteoporosis International. – 2000. – N11. – P. 615-620
9. Romagnoli E., Minisola G., Carnevale V. et al. Assessment of serum total and bone alkaline phosphatase measurement in clinical practice // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. – 1998. – V.36, N3. – P. 163-168.
10. Stagi S., Di Tommaso M., Manoni C. et al. Bone Mineral Status in Children and Adolescents with Klinefelter Syndrome // Hindawi Publishing Corporation // International Journal of Endocrinology. – 2016. – 9 p. <http://www.hindawi.com/journals/ije/2016/3032759>
11. Whyte M.P. Alkaline phosphatase and the measurement of bone formation // Clinical Disorders of Bone and Mineral Metabolism / Editors – J.T. Potts and B. Frame. – 1983. – P. 120-125.

Информация об авторах

Штыкова Ольга Николаевна – аспирант кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Doctoros@mail.ru

Легонькова Татьяна Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Legonkova@yandex.ru

Войтенкова Ольга Валентиновна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Woi-olga@yandex.ru

Степина Тамара Григорьевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Stepinatamara@yandex.ru

Абрамова Елена Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Abramovaes83@mail.ru