

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Научно-исследовательский институт травматологии,
ортопедии и нейрохирургии**

**Гладкова Е.В., Карякина Е.В., Белова С.В.,
Царева Е.Е., Галашина Е.А., Зубавленко Р.А.,
Ромакина Н.А., Ульянов В.Ю.**

Методология изучения процессов субхондрального ремоделирования при ранних проявлениях остеоартроза коленных суставов

учебно-методическое пособие

Саратов
2022

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Научно-исследовательский институт травматологии,
ортопедии и нейрохирургии**

**Гладкова Е.В., Карякина Е.В., Белова С.В.,
Царева Е.Е., Галашина Е.А., Зубавленко Р.А.,
Ромакина Н.А., Ульянов В.Ю.**

**Методология изучения процессов
субхондрального ремоделирования
при ранних проявлениях
остеоартроза коленных суставов**

учебно-методическое пособие

Саратов
2022

УДК 616.728.3:611.018.4

ББК 28.4

М 54

В учебно-методическом пособии изложены обобщенные сведения о возможностях объективизации ремоделирования костной ткани в условиях ранних стадий остеоартроза, осуществляемой на основании количественной оценки концентрации биохимических маркеров в сыворотке крови пациентов и данных лучевых методов обследования. Использование комплексного подхода позволяет оценить структурные и метаболические изменения в субхондральной кости у пациентов с ранними малосимптомными проявлениями суставной патологии.

Методические рекомендации предназначены для специалистов врачей клинической лабораторной диагностики, врачей травматологов-ортопедов, специалистов лучевой диагностики, ревматологов, занимающихся диагностикой и лечением ранних проявлений остеоартроза коленных суставов.

Составители: к. б. н. Гладкова Е.В., д. м. н. Карякина Е.В.,
д. б. н. Белова С.В., к. м. н. Царева Е.Е.,
к. б. н. Галашина Е.А, Зубавленко Р.А.,
к. м. н. Ромакина Н.А., д. м. н. доцент Ульянов В.Ю.

Рецензенты: Солдатов Ю.П., д.м.н. профессор, руководитель
учебного отдела ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика
Г.А. Илизарова» Минздрава России

Масляков В.В., д.м.н. профессор, профессор кафедры
хирургических болезней филиала частного
учреждения образовательной организации высшего
образования «Медицинский университет «Реавиз» в
городе Саратов

*Учебно-методическое пособие утверждено на заседании
научной проблемной комиссии по травматологии, ортопедии и нейрохирургии
(протокол № 3 от 17.02.2022 г.)*

© НИИТОН СГМУ, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение	6
1.1 Общие положения и область применения.....	6
1.2 Методы лучевой объективизации состояния структурных особенностей костной ткани (стандартная рентгенография и двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия)	7
2. Изучение маркеров субхондрального ремоделирования в сыворотке крови пациентов с остеоартрозом.....	9
3. Подготовка пациента к проведению исследования	11
3.1 Порядок осуществления пробоподготовки	11
3.2 Порядок исследования образцов сыворотки крови	11
3.2.1 Определение концентрации в сыворотке крови остеокальцина	12
3.2.2 Определение активности костного изофермента щелочной фосфатазы.....	12
3.2.3 Определение концентрации в сыворотке крови фрагментов коллагена I типа.....	13
4. Учет и интерпретация полученных результатов	14
Список использованных источников	15
Приложение	17
Вопросы для самоконтроля	18
Рекомендованная литература.....	19

1. Введение

1.1 Общие положения и область применения

Остеоартроз (ОА) является наиболее распространенным и социально значимым полиэтиологическим заболеванием крупных суставов. В настоящее время в мире насчитывается не менее 500 миллионов человек с подтвержденным диагнозом ОА [1]. Столь неблагоприятная ситуация прогрессивно усугубляется вследствие увеличения в популяции доли пожилого населения и смещением сроков манифестации заболевания на все более молодой возраст. Несмотря на полиэтиологический характер ОА и существование различных его молекулярных эндотипов, данный вид суставной патологии характеризуется общими биологическими и биомеханическими исходами. В частности, для поздних стадий заболевания характерно поражение всех суставных компонентов: суставного хряща, субхондральной кости, синовиальной оболочки, компонентов капсульно-связочного аппарата и окружающих мышечных тканей, что приводит к стойкому болевому синдрому, развитию необратимых структурных изменений в суставных тканях со снижением функциональных возможностей сустава вплоть до утраты конечностью опороспособности [2].

Относительно быстрое развитие необратимых изменений в суставе обусловлено, как правило, скудной симптоматикой, сопровождающей ранние стадии заболевания и несовершенством диагностических и терапевтических подходов в дебюте заболевания [3]. Существующие на сегодняшний день критерии классификации и клинические рекомендации по медикаментозной коррекции ОА предназначены преимущественно для пациентов с уже установленным рентгенологически диагнозом и неуклонно прогрессирующим повреждением суставов, что существенно снижает эффективность существующих стратегий консервативного лечения [4].

Действие неблагоприятных биомеханических, биохимических и генетических факторов вызывает на раннем этапе заболевания патологические изменения в двух механически и биологически взаимосвязанных компонентах суставов – суставном хряще и субхондральной кости, формируя ключевой паттерн прогрессирования ОА [5]. На данном этапе высокоинформативным инструментом объективизации процессов ремоделирования костной ткани и воспалительно-дегенеративной модификации суставного хряща могут стать биохимические маркеры, не только обладающие диагностической чувствительностью и специфичностью, но и являющиеся предикторами прогрессирования заболевания [6]. Именно глубокие исследования биохимических маркеров позволят углубить и расширить представления о патогенезе ранних стадий ОА.

Вместе с тем, следует отметить, что для большинства исследований, посвященных изучению биомаркеров при ОА характерно изолированное исследование их уровней, что не позволяет в полной мере осуществить системный аналитический подход к оценке информативности полученных результатов [7]. Не все исследования проведены с учетом возможного системного влияния медикаментозной терапии, гендерной и возрастной принадлежности

испытуемых на динамику изменений биохимических маркеров. Не вызывает сомнений необходимость изучения отдельных маркеров суставного хряща и субхондральной кости, отражающих текущий метаболический статус соединительнотканых компонентов суставов в комплексе с оценкой структурных особенностей тканей при помощи методов лучевой визуализации и определение возможных корреляций между ними.

Таким образом, одним из приоритетных направлений исследований является разработка патогенетически обоснованных комплексных диагностических и терапевтических стратегий, предназначенных для пациентов с начальными стадиями ОА, что позволит существенно отсрочить хирургическое вмешательство по поводу эндопротезирования пораженного сустава.

1.2 Методы лучевой объективизации состояния структурных особенностей костной ткани (стандартная рентгенография и двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия)

Одним из ведущих методов визуализации структурных особенностей субхондральной кости как первичного патогенетически значимого звена возникновения и прогрессирования ОА крупных суставов является рентгенография. Данный метод в настоящее время рассматривается в качестве «золотого стандарта» диагностики и контроля лечения ОА крупных суставов. В качестве оценочной шкалы используется классификация, разработанная J.H. Kellgren и J.S. Lawrence в 1957 году [8], и утвержденная ВОЗ в 1961 г. В дальнейшем классификация была пересмотрена и дополнена M. Leuquesne в 1982 г. [9]. Данная система основана на рентгенологических признаках оценки, и включает в себя 5 степеней:

0 стадия – изменений нет;

1 стадия – сомнительные рентгенологические признаки;

2 стадия – единичные остеофиты и небольшое сужение суставной щели;

3 стадия – выраженные остеофиты; умеренное сужение суставной щели; субхондральный склероз; деформация поверхностей;

4 стадия – грубые остеофиты; субхондральный склероз; выраженное сужение суставной щели; выраженная деформация поверхностей.

Для определения стадий гонартроза (ГА) в клинической практике используется также классификация, модифицированная Н.С. Косинской (1961) [10], которая включает в себя рентгенологические признаки в сочетании с оценкой функциональной недостаточности сустава. Данная система подразумевает следующие стадии ОА:

I стадия – незначительное ограничение движений, небольшое, неотчетливое, неравномерное сужение суставной щели, легкое заострение краев суставных поверхностей (начальные остеофиты);

II стадия – ограничение подвижности в суставе, грубый хруст при движениях, умеренная амиотрофия, выраженное сужение суставной щели в 2-3 раза по сравнению с нормой, значительные остеофиты, субхондральный остеосклероз и кистовидные просветления в эпифизах;

III стадия – деформация сустава, ограничение подвижности, полное отсутствие суставной щели, деформация и уплотнение суставных поверхностей эпифизов, обширные остеофиты, суставные «мышцы», субхондральные кисты;

Диагностика ГА осуществляется с учетом рентгенограмм, выполненных в двух стандартных проекциях: прямой (передне-задней) (рис. 1 А) и боковой (рис. 1 Б).

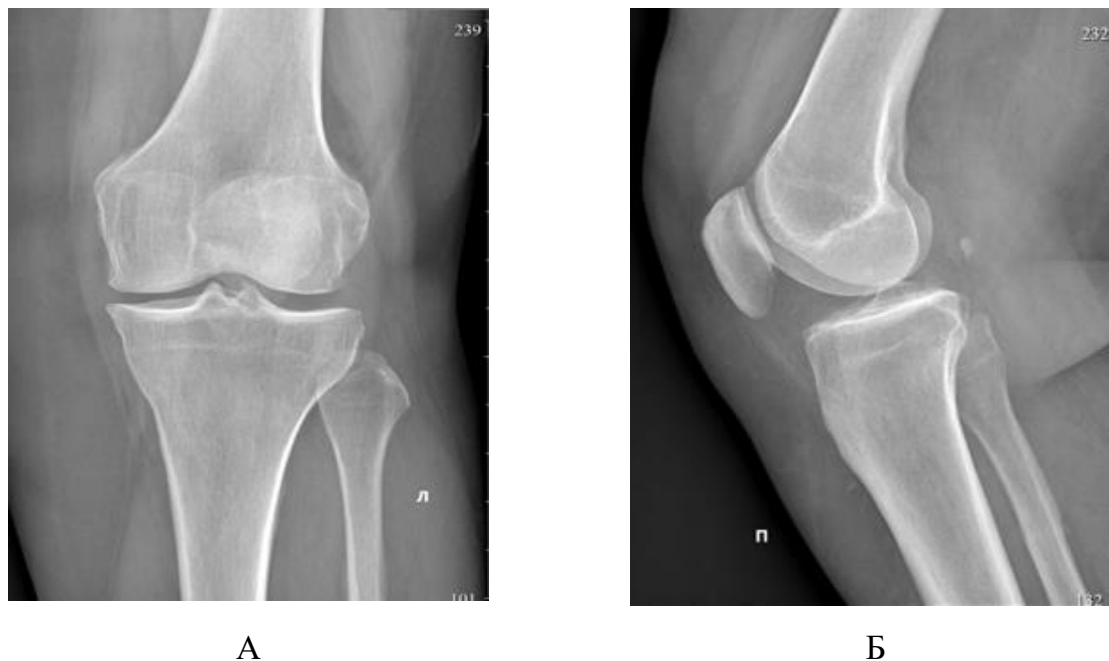


Рисунок 1 – рентгенограмма коленного сустава с ранними проявлениями первичного ГА: А – прямая проекция, Б – боковая проекция

Для ранних стадий ОА, как правило, характерно отсутствие рентгенологических признаков или они являются сомнительными, что является существенным ограничением для использования метода в диагностике ранних проявлений суставной патологии.

Существенным недостатком использования стандартной рентгенографии на ранних стадиях заболевания является низкая чувствительность метода и зависимость точности рентгенологического заключения от опыта и особенностей субъективного восприятия врачом-рентгенологом [11], что может приводить к снижению результативности диагностической работы. Ручная экспертная оценка изображений требует выполнения цифровой рентгенографии высокого разрешения с возможностью сегментации отдельных областей, что представляет собой трудоемкую и технически сложную задачу. Основываясь на данной аргументации, в настоящее время особое внимание исследователей направлено на создание систем автоматического извлечения и анализа изображений [12]. Однако, для решения задач подобного уровня сложности необходимо создание международной системы преобразования исходных изображений в единые форматы, доступные для анализа системой сверхточных нейронных сетей, и

принятие единых юридических стандартов в области применения продуктов искусственного интеллекта [13].

Одним из методов определения «качества костной ткани» является двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (dual energy X-ray absorptiometry / DXA), позволяющая оценить минеральную плотность костной ткани (МПКТ). Измерения МПКТ осуществляют в стандартных зонах – на уровне L1-L4 в переднезадней проекции и проксимальные отделы обоих бедер – шейка, большой вертел и бедро в целом с помощью рентгеновского костного денситометра GE LUNAR PRODIDGY (General Electric, США) (рис. 2). Полученные индивидуальные результаты представляют в виде стандартного отклонения (SD) от нормальных значений. Как правило, при ранних стадиях ОА, не ассоциированных с остеопенией или остеопорозом изменения, МПКТ не превышают ± 1 SD, что также не позволяет с достаточной степенью валидности охарактеризовать особенности процессов субхондрального ремоделирования.

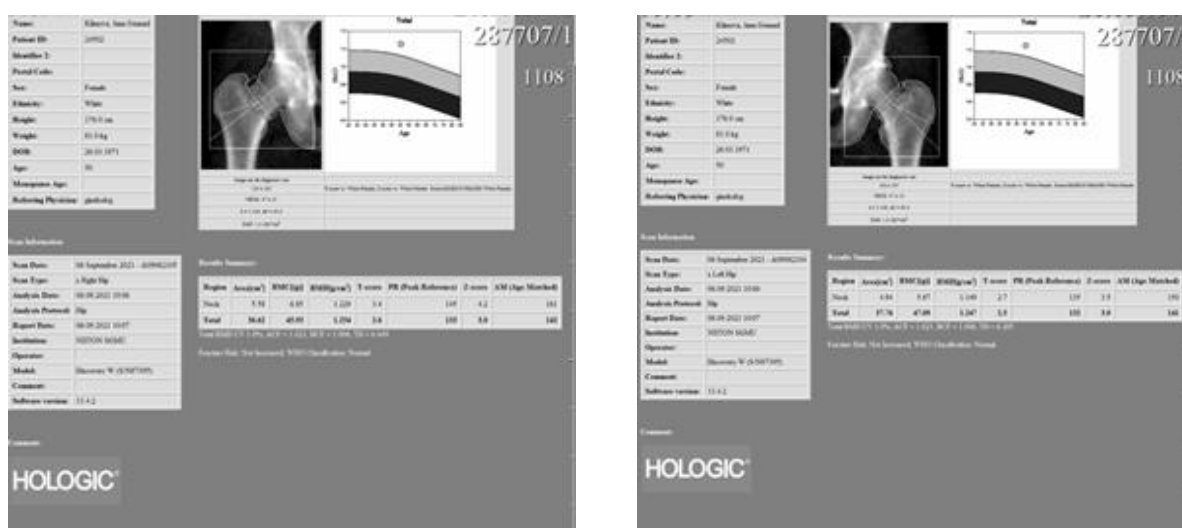


Рисунок 2 – результаты стандартной двухэнергетической абсорбциометрии при ранних проявлениях первичного ГА

2. Изучение маркеров субхондрального ремоделирования в сыворотке крови пациентов с остеоартрозом

Известно, что костная ткань является полноценным участником процессов формирования патологических механизмов прогрессирования воспалительно-дегенеративных изменений суставных компонентов при ОА. Оценить степень вовлеченности субхондральной кости в патогенез заболевания возможно на основании выявления особенностей метаболического статуса костной ткани. На сегодняшний день в мировой практике достаточно широко используется система маркеров ОА, включающая в себя чувствительные и специфичные тесты оценки костного метаболизма, которые, согласно мнению ряда авторов, являются более ранними предикторами прогрессирования заболевания, чем продукты деградации экстрацеллюлярного матрикса суставного хряща [14].

Данные литературы, а также результаты собственных исследований позволяют сделать вывод о том, что для косвенной оценки особенностей субхондрального ремоделирования при начальных проявлениях ОА могут быть использованы следующие маркеры:

1. Остеокальцин (N-Mid Osteocalcin) – фрагмент К-зависимого неколлагенового протеина костной ткани, участвующего в связывании кальция и гидроксиапатита. Данный маркер является интегральным показателем функциональной активности остеобластов, и отражает скорость образования костной ткани. Известно, что данный фрагмент молекулы остеокальцина составляет около трети всего иммунореактивного остеокальцина, содержащегося в сыворотке крови, и являющегося маркером поздней фазы дифференцировки клеточных циклов остеобластов и остеобластоподобных клеток, которые участвуют в патогенезе ОА. Формирование пула аномальных остеобластов является одной из причин изменений в ремоделировании кости, способствует деградации суставного хряща и возникновению субхондрального склероза при ОА [15]. Остеобласты имеют более высокие уровни экспрессии щелочной фосфатазы (alkaline phosphatase / ALP) и остеокальцина (osteocalcin / OCN) во время прогрессирования ОА по сравнению с нормальными остеобластами. При оценке полученных результатов следует учитывать тот факт, что большая часть синтезированного клетками костной ткани остеокальцина входит в состав матрикса костной ткани, который затем минерализуется с образованием новой кости, а оставшаяся часть попадает в кровоток. При резорбции костной ткани под воздействием остеокластов остеокальцин высвобождается из костного матрикса и попадает в кровь, где циркулирует в виде неиммунных фрагментов [16, 17].
2. Костный изофермент щелочной фосфатазы (bone alkaline phosphatase / ВАР), участвующий в транспортировке фосфора в каталитической реакции отщепления фосфорной кислоты от ее органических соединений. ВАР является маркером активности костеобразования, показателем метаболического статуса и активности остеобластов. Кроме того, активность данного фермента в сыворотке крови коррелирует с выраженностью хронического воспаления, поддерживающего определенный уровень воспалительной модификации хондроцитов [18]. Существует мнение, что активность ВАР находится в положительной взаимосвязи с системными маркерами воспаления – уровнем С-реактивного белка и количеством лейкоцитов [19].
3. С-концевые телопептиды, образующиеся при деградации коллагена I типа Serum CrossLaps – маркер костной резорбции. Данный метод специфичен для циркулирующего в сыворотке крови С-телопептида цепи В1 коллагена I типа. Повышение концентрации данного маркера в сыворотке крови ассоциировано с интенсификацией деструкции костной ткани с дезорганизацией коллагена I типа.

3. Подготовка пациента к проведению исследования

3.1 Порядок осуществления пробоподготовки

Для проведения исследования используют образцы сыворотки крови. Взятие образцов венозной крови осуществляют у всех участников обследования в утреннее время после 8 часов голодания и ночного сна продолжительностью не менее 6-8 часов. За 24 часа до процедуры взятия крови запрещают интенсивную физическую активность, а за 2 часа – курение, что может повлиять на уровни исследуемых биомаркеров. Кровь получают в вакуумные пробирки активатором образования сгустка с SiO₂ (диоксид кремния) и разделительным гелем (цитрат фосфат декстроза аденин), избегая гемолиза. Пробирки центрифугируют в течение 15 минут при скорости вращения 1,5 тысяч оборотов в минуту. Отделить сыворотку от клеточных элементов необходимо в течение 3 часов. Полученные образцы аликвоты переносят в индивидуальные пробирки типа Эппендорф и хранят при температуре -80 °С в течение не более 6 месяцев, либо при температуре 4-6 °С не более 3 дней. Повторные циклы замораживания-размораживания не допускаются. Все образцы тестируются одновременно. Непосредственно перед проведением исследования образцы размораживают при комнатной температуре (18-24 °С на воздухе); а наборы реактивов используют после того, как их температура достигнет комнатной.

Биомаркеры костного метаболизма оценивают с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с инструкциями производителя.

3.2 Порядок исследования образцов сыворотки крови

Для проведения исследования используют оборудование и расходные материалы, указанные в Приложении 1, или их аналоги.

Основные задачи биохимического мониторинга маркеров костного метаболизма:

1. определение уровней маркеров костеобразования и костной резорбции в сыворотке крови у пациентов с ранними проявлениями ОА.
2. определение уровней маркеров в сыворотке крови у здоровых лиц того же возраста и пола и проживающих в той же местности, что и пациенты с ОА.
3. выявление статистически значимых отклонений исследуемых показателей от референсных значений, свидетельствующих о нарушении субхондрального ремоделирования.

3.2.1 Определение концентрации в сыворотке крови остеокальцина

Принцип метода: тест-система основана на использовании двух высокоспецифических моноклональных антител к человеческому остеокальцину. Часть антител распознают и связывают средний аминокислотный фрагмент полипептида, а другие, конъюгированные с пероксидазой антитела, распознают его N-терминальную область. При помощи данного метода осуществляется детекция как интактного остеокальцина, так и N-концевого фрагмента полипептида.

Протокол проведения исследования:

1. В ячейки планшета помещают по 20 мкл стандартов, контролей и исследуемых образцов в дублях, а затем в каждую из них добавляют по 150 мкл предварительно приготовленного раствора антител, после чего осуществляют инкубацию в течение 120 ± 5 мин при комнатной температуре ($18-22$ °C) без шейкирования.

2. По окончании инкубации осуществляют 5 циклов промывки лунок микропланшета 300 мкл отмывающего буфера, разбавленного предварительно дистиллированной водой в соотношении 1:50, полностью осушая лунки после окончания промывки.

3. Инкубация с хромогенным субстратом: вносят по 100 мкл раствора субстрата (SUB TMB) в каждую ячейку и инкубируют 15 ± 2 мин в темноте при комнатной температуре ($18-22$ °C) без встряхивания, заклеив стрипы пленкой.

4. Цветную реакцию останавливают добавлением в каждую из ячеек по 100 мкл стоп-раствора (H_2SO_4).

5. Измерение оптической плотности полученного раствора осуществляют не позднее чем через 2 часа после остановки реакции на микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм с референс-длиной волны 650 нм.

6. Расчёт итоговой концентрации остеокальцина, нг/мл в образцах проводится методом четырехпараметрической регрессии.

3.2.2 Определение активности костного изофермента щелочной фосфатазы

Принцип метода: исследование Metra VAP основан на «сэндвич» иммуноферментном анализе в микропланшетном формате, с использованием моноклональных анти-VAP антител, иммобилизованных в лунках микропланшета, для захвата VAP образцов. Субстрат pNPP используется для количественной оценки активности связанного фермента VAP.

Протокол проведения исследования:

1. Во все лунки вносят по 125 мкл рабочего буфера.
2. В соответствующие лунки вносят по 20 мкл стандартов, контролей и образцов, осуществляя качательные движения для полного перемешивания образцов и буфера.
3. Инкубируют в течение 3 часов \pm 10 минут при 12-28 °С.
4. Промывают 4 раза стандартным промывочным буфером.
5. Вносят в каждую из лунок по 150 мкл раствора субстрата, приготовленного непосредственно перед применением.
6. Инкубируют в течение 30 \pm 5 минут при 10-28 °С в темноте, закрыв планшет пленкой.
7. Реакцию останавливают внесением 100 мкл стоп-раствора во все лунки.
8. Считывают оптическую плотность итогового раствора на микропланшетном фотометре при длине волны 405 нм.
9. Рассчитывают результаты с помощью квадратичной аппроксимации.

3.2.3. Определение концентрации в сыворотке крови фрагментов коллагена I типа

Принцип метода: тест-система Serum CrossLaps™ ELISA основана на использовании двух высоко специфических моноклональных антител, где остаток аспарагиновой кислоты β -изомеризован. Чтобы получить специфический сигнал в системе SerumCrossLaps™ ELISA, две цепи ЕКАНД- β -GGR должны быть перекрестно связаны. Стандарты, контроли и образцы вносятся в соответствующие ячейки, покрытые стрептавидином, после чего используется смесь биотинилированных антител и антител, конъюгированных с пероксидазой. Затем образовавшийся комплекс между антигеном (CrossLaps™) и антителами сорбируется на поверхности, покрытой стрептавидином, через биотинилированные антитела. Последующая инкубация проводится при комнатной температуре, затем ячейки промываются. На следующем этапе после добавления субстрата и остановки реакции серной кислотой измеряются оптические плотности в ячейках.

Протокол проведения исследования:

1. Инкубация. В соответствующие ячейки вносят по 50 мкл стандартных растворов, контролей и исследуемых образцов, а затем добавляют по 150 мкл раствора антител.
2. Ячейки заклеивают пленкой и инкубируют в течение 120 \pm 5 мин при комнатной температуре (18-22 °С) на термостатируемом орбитальном шейкере при 300 об/мин.
3. Лунки планшета промывают 5 раз с помощью многоканального дозатора предварительно разведенным с дистиллированной водой буфером для промывок.

4. Во все лунки вносят по 100 мкл раствора субстрата и инкубируют 15 ± 2 мин в темноте при комнатной температуре ($18-22 \text{ }^\circ\text{C}$) и встряхивании (300 об/мин), заклеив стрипы пленкой.

5. Цветную реакцию останавливают добавлением во все ячейки по 100 мкл стоп-раствора (H_2SO_4).

6. Измеряют оптическую плотность конечного раствора во всех ячейках не позднее, чем через два часа на фотометре микропланшетного формата при длине волны 450 нм и длине волны сравнения 650 нм.

Для расчета результатов используют квадратичную аппроксимацию. В качестве альтернативного метода рассчитывают средние значения для дублей оптических плотностей, на основании чего строится стандартная кривая. Интерполяцией определяют концентрации контролей и образцов пациентов.

4. Учет и интерпретация полученных результатов

Индивидуальные данные, полученные по каждому из маркеров у обследуемых пациентов, сравнивают с референсными значениями, содержащимися в базе данных лаборатории и с данными литературных источников.

Выявляют статистически значимые отклонения изученных маркеров от нормальных величин, принимая за критический уровень значимости $p < 0,05$.

При обнаружении отклонений исследуемых маркеров от среднестатистической нормы констатируют нарушения субхондрального ремоделирования, являющегося одним из ранних признаков ОА крупных суставов [20-21].

Список использованных источников

1. Шавловская О.А. Хондроитина сульфат в терапии пациентов с хронической болью при остеоартрите в свете актуальных клинических рекомендаций // Терапевтический архив. 2021. – Т. 93, № 12. – С. 1551-1555.
2. Мартусевич Н.А., Алешкевич А.И., Бондарь Т.В. и др. Применение маркеров хрящевого ремоделирования для определения уровня деградации гиалинового хряща и оценки эффективности лечения пациентов с 0-1 рентгенологическими стадиями гонартроза // Военная медицина. – 2021. – № 4 (61). – С. 27-33.
3. Luytena F.P., Bierma-Zeinstra S., Dell'Accio F., et al. Toward classification criteria for early osteoarthritis of the knee // Seminars in arthritis and rheumatism. – 2018. – Vol. 47, No 4. – P. 457-463.
4. Chan S., Dittakan K., Garcia-Constantino M. Image texture analysis for medical image mining: a comparative study direct to osteoarthritis classification using knee x-ray image // International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology. – 2020. – Vol. 10, No 6. – P. 2189-2199.
5. Mobasheri A., van Spil W.E., Budd E. Molecular taxonomy of osteoarthritis for patient stratification, disease management and drug development: biochemical markers associated with emerging clinical phenotypes and molecular endotypes // Current opinion in rheumatology. – 2019. – Vol. 31, No 1. – P. 80-89.
6. Hunter D.J., Deveza L.A., Collins J.E., et al. Multivariable modeling of biomarker data from the phase 1 Foundation for the NIH Osteoarthritis Biomarkers Consortium // Arthritis Care & Research. – 2021. – No 10. – 25557.
7. Pishgar1 F., Guermazi A., Roemer F.W., et al. Conventional MRI-based subchondral trabecular biomarkers as predictors of knee osteoarthritis progression: data from the Osteoarthritis Initiative // European Radiology. – 2021. – No 31. – P. 3564-3573.
8. Kellgren J.H., Lawrence J.S. Radiological assessment of osteo-arthrosis // Ann. Rheum. Dis. – 1957. – No 16. – P. 494-502.
9. Lequesne M. Clinical features diagnostic criteria, functional assessments and radiological classifications of osteoarthritis (excluding the spine). In Huskisson EC, Katona G, Eds. New Trends in Osteoarthritis. Rheumatology. Annual Review. – Basel: Karger. 1982: 1-10.
10. Косинская Н.С. Дегенеративно-дистрофические поражения костно-суставного аппарата. – М.: Медицина, 1961. – 168 с.
11. Chen P., Gao L., Shi X., et al. Fully automatic knee osteoarthritis severity grading using deep neural networks with a novel ordinal loss // Comput. Med. Imaging Graphics. – 2019. – Vol. 75. – P. 84-92.
12. Antony A.J. Automatic quantification of radiographic knee osteoarthritis severity and associated diagnostic features using deep convolutional neural networks. PhD thesis, Dublin City University. – 2018.
13. Saini D., Chouhan D.K., Prakash M., et al. A comparative analysis of automatic classification and grading methods for knee osteoarthritis focusing on X-ray images // Biocybernetics and Biomedical Engineering. – 2021. – Vol. 41, No 2. – P. 419-444.

14. Кабалык М.А., Суняйкин А.Б. Клинико-молекулярные взаимосвязи дислипидемии и метаболического фенотипа остеоартрита // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2017. – Т. 25, № 3. – С. 391-398.
15. Igarashi M., Sakamoto K., Nagaoka I. Effect of glucosamine, a therapeutic agent for osteoarthritis, on osteoblastic cell differentiation // Int. J. Mol. Med. – 2011. – Vol. 28, No. 3. – P. 373-379.
16. Wang Y., Zhang T., Xu Y., et al. Suppressing phosphoinositide-specific phospholipases $\text{C}\gamma 1$ promotes mineralization of osteoarthritic subchondral bone osteoblasts via increasing autophagy, thereby ameliorating articular cartilage degeneration // Bone. – 2022. – Vol. 154. – 116262.
17. Ding M. Microarchitectural adaptations in aging and osteoarthrotic subchondral bone issues // Acta Orthop. – 2010. – Vol. 81, Supple. 340. – P. 1-53.
18. Park H.M., Lee J.H., Lee Y.J. Positive association of serum alkaline phosphatase level with severe knee osteoarthritis: a nationwide population-based study // Diagnostics. – 2020. – Vol. 10, No 12. – 1016.
19. Seo M.S., Shim J.Y., Lee Y.J. Relationship between serum alkaline phosphatase level, c-reactive protein and leukocyte counts in adults aged 60 years or older // Scand. J. Clin. Lab. Investig. – 2019. – Vol. 79, No 4. – P. 233-237.
20. Garnero P., Piperno M., Gineyts E., et al. Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage // Annals of the rheumatic diseases. – 2001. – Vol. 60, No 6. – P. 619-626.
21. Hu N., Zhang J., Wang J., et al. Biomarkers of joint metabolism and bone mineral density are associated with early knee osteoarthritis in premenopausal females // Clinical rheumatology. – 2021. – No 41. – P. 819-829.

Приложение

Оборудование, расходные материалы, питательные среды, реагенты и реактивы:

1. цифровой аппарат рентгеновский;
2. рентгеновский костный денситометр двухэнергетический;
3. фотометр микропланшетного формата с длинами волн 450 и 650 нм;
4. шейкер-термостат программируемый для микропланшетов;
5. микропланшетный вошер;
6. дозаторы одноканальные переменного объема;
7. дозатор 8-канальный переменного объема;
8. тест-система для определения остеокальцина человека методом твердофазного иммуноферментного анализа;
9. тест-система для определения активности костного изофермента щелочной фосфатазы человека методом твердофазного иммуноферментного анализа;
10. тест-система для определения С-концевых телопептидов коллагена I типа человека методом твердофазного иммуноферментного анализа;
11. холодильник фармацевтический.
12. морозильная камера -80 °С;
13. компьютер, принтер;
14. антисептическое мыло и кожный антисептик;
15. одноразовые перчатки;
16. КБСУ для медицинских отходов класса Б;
17. вода дистиллированная;
18. дезинфицирующее средство «Амиго».

Вопросы для самоконтроля

1. Перечислите и охарактеризуйте основные особенности ремоделирования скелетных соединительных тканей при остеоартрозе крупных суставов.
2. Какие инструментально-лабораторные методы оценки состояния костной ткани вам известны?
3. Назовите основные принципы оценки минеральной плотности костной ткани с применением метода двухэнергетической абсорбциометрии (DXA).
4. Перечислите признаки рентгенологических стадий остеоартроза коленных суставов, исходя из классификации Kellgren Lawrence Osteoarthritis Classification Criteria.
5. Назовите основные рентгенологические критерии гонартроза по классификации, модифицированной Н.С. Косинской (1961).
6. Какие биохимические маркеры метаболизма костной ткани вам известны?
7. Какова диагностическая значимость изменений концентрации в сыворотке крови остеокальцина и активности костного изофермента щелочной фосфатазы?
8. Какие метаболические процессы в костной ткани характеризует увеличение содержания в сыворотке крови пациентов телопептидов коллагена I типа?
9. В чем заключается принцип твердофазного иммуноферментного анализа?
10. Перечислите основные этапы выполнения твердофазного иммуноферментного анализа.

Рекомендованная литература

Основная литература

1. Лесняк, О.М. Остеоартроз крупных суставов нижних конечностей: Руководство для врачей первичного звена / О.М. Лесняк, А.А. Попов, Д.М. Максимов, П.С. Пухтинская – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 144 с. – ISBN 978-5-9704-3678-3. – Текст: электронный // ЭБС «Консультант студента»: [сайт]. – URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/9785970436783.html> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.
2. Травматология и ортопедия (Электронный ресурс): учебник / А.В. Гаркави, А.В. Лычагин, Г.М. Кавалерский [и др.]. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970466032.html> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.
3. Кишкун, А.А. Клиническая лабораторная диагностика: том 1: учебник: в 2 т. / А. А. Кишкун, Л.А. Беганская. – 2-е изд., переработ. и доп. – Москва: ГЭОТАР-едиа, 2021. – 784 с. – ISBN978-5-9704-6084-9. Текст: электронный // ЭБС «Консультант студента»: [сайт]. – URL: <https://wwwstudentlibrary.ru/book/ISBN9785970460849.html> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.
4. Кишкун, А.А. Клиническая лабораторная диагностика: том 2: учебник: в 2 т. / А. А. Кишкун, Л.А. Беганская. – 2-е изд., переработ. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 624 с. – ISBN 978-5-9704-6085-6. Текст: электронный // ЭБС «Консультант студента»: [сайт]. – URL: <https://wwwstudentlibrary.ru/book/ISBN9785970460856.html> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.
5. Новикова И.А. Введение в клиническую лабораторную диагностику: учебное пособие / И.А. Новикова. – Минск: Вышэйшая школа, 2018. – 368 с. – ISBN 978-985-06-2913-5. – Текст: электронный // ЭБС IPRBOOKS: [сайт]. – URL: <http://www.iprbookshop.ru/90748.html> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: для авторизир. пользователей.
6. Ревматология [электронный ресурс]. Под ред. А.А. Усановой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 408 с. Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970453032.html>. (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: для авторизир. пользователей.
7. Миронов С.П. Ортопедия / под ред. Миронова С.П. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 784 с. – ISBN 978-5-9704-4520-4. Текст: электронный // URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970445204.html> (дата обращения 01.03.2022). Режим доступа: по подписке.
8. Насонов Е.Л. Российские клинические рекомендации. Ревматология / Е.Л. Насонов – Москва: ГЭОТАР Медиа, 2017. – 464 с. – ISBN 978-5-9704-4261-6. –Текст: электронный // URL: https://rosmedlib.ru/book/ISBN_9785970442616.html (дата обращения 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.

Дополнительная литература

1. Биохимия с упражнениями и задачами [электронный ресурс]: учебник / под ред. А.И. Глухова, Е.С. Северина – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – Режим доступа: <https://rosmedlib.ru/book/ISBN9785970450086> (дата обращения 01.03.2022).
2. Ларина В.Н. Остеопороз факторы риска диагностика лечение профилактика: справочное руководство для врачей терапевтов и врачей общей практики / под ред. В.Н. Лариной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 144 с. ISBN 978-5-9704-5986-7. Текст: электронный // ЭБС «Консультант студента» [сайт] URL: <https://wwwstudentlibrary.ru/book/ISBN9785970459867.html> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.
3. Кишкун А.А. Биохимические исследования в клинической практике Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 512 с. – ISBN978-5-9704-6371-0 Текст: электронный // ЭБС «Консультант студента» [сайт]. URL: <https://wwwstudentlibrary.ru/book/ISBN9785970463710> (дата обращения: 01.03.2022) – Режим доступа: по подписке.
4. Каратеев Д.Е. Справочник врача-ревматолога / Д.Е. Каратеев, Е.Л. Лучихина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 368 с. – ISBN 978-5-9704-6130-3. Текст: электронный // ЭБС «Консультант студента» [сайт]. URL: <https://wwwstudentlibrary.ru/book/ISBN9785970461303> (дата обращения: 01.03.2022). – Режим доступа: по подписке.

Периодические издания

1. «Клиническая лабораторная диагностика» – научно-практический журнал, посвящен перспективным направлениям развития дисциплин лабораторной медицины, апробированных доказательной медициной эффективных средствах лабораторной аналитики и способах клинической лабораторной диагностики. Научная электронная библиотека e-library.ru. <https://elibrary.ru/contents.asp?titleid=7849>. – Режим доступа: для авторизир. пользователей.
2. «Научно-практическая ревматология» – научно-практический журнал, посвящен обсуждению результатов клинических, клинико-экспериментальных и фундаментальных работ, описанию клинических случаев, а также ознакомлению со вспомогательными материалами по всем актуальным проблемам ревматологии. Научная электронная библиотека e-library.ru. https://elibrary.ru/title_about_new.asp?id=8909. – Режим доступа: для авторизир. пользователей.

Источники ИОС

<https://www.sarniito.com/index.php?page=science>

