



О.Ю. ГАЛАЕВА, В.Ф. МАРТЕМЬЯНОВ, С.А. БЕДИНА,
М.Ю. СТАЖАРОВ, Е.Э. МОЗГОВАЯ, А.Б. ЗБОРОВСКИЙ

УДК 616.72-002-003.8-007.17-071-092:577.123.383

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии РАМН,
г. Волгоград

Энзимы пуринового метаболизма в клетках крови больных остеоартрозом в процессе эволюции болезни

Стажаров Михаил Юрьевич

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник клинко-биохимической лаборатории

400138, г. Волгоград, ул. им. Землячки, д. 76, тел. (8442) 78-90-98, e-mail: mstazharov@yandex.ru

В лизатах лимфоцитов и эритроцитов больных остеоартрозом в разные периоды болезни определяли активность аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА), адениндезаминазы (АД) и 5'-нуклеотидазы (5'-НТ). С увеличением длительности заболевания определяется четкая тенденция к снижению активности всех энзимов в лимфоцитах и эритроцитах, за исключением небольшого повышения активности 5'-НТ и АДА в эритроцитах.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза, АМФ-дезаминаза, адениндезаминаза, 5'-нуклеотидаза, остеоартроз.

O.Y. GALAEVA, V.F. MARTEMYANOV, S.A. BEDINA, M.Y. STAZHAROV, E.E. MOZGOVAYA, A.B. ZBOROVSKIY

Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd

Enzymes of purine metabolism in blood cells of patients with osteoarthritis in the evolution of the disease

The activity of adenosindesaminase (ADA), AMP-desaminase (AMPDA), adenindesaminase (AD) and 5'-nucleotidase (5'-NT) was studied in the lymphocytes and erythrocytes lysates in osteoarthritis (OA) patients in different periods of the disease. The activity of all the enzymes in lymphocytes and erythrocytes tends to reduce depending on the duration of the disease, the activity of 5'-NT, ADA in erythrocytes is increased.

Keywords: adenosindesaminase, AMP-desaminase, adenindesaminase, 5'-nucleotidase, osteoarthritis.

В клинической практике исследования активности ферментов в целях диагностики заболеваний, оценки тяжести заболевания, эффективности проводимой терапии выяснения патогенетических механизмов имеют многолетнюю историю. Достаточно хорошо известно, что при хронизации заболевания могут возникать различные процессы, направленные либо на адаптацию к новым сложившимся условиям в результате перманентного течения болезни с коррекцией нарушенных метаболических звеньев, либо усугубляющие патологическое состояние больного с дискоординацией иммунобиохимических процессов. Логично предположить, что в процессе эволюции такого хронического заболевания как остеоартроз активность ферментов, как наиболее чувствительных индикаторов и участников воспалительных и дистрофических процессов, также может меняться. В связи с этим, актуальным является изучение активности ферментов пуринового метаболизма: аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА), адениндезаминазы (АД) и 5'-нуклеотидазы (5'-НТ) в лизатах эритроцитов и лимфоцитов больных ОА в процессе эволюции болезни на протяжении от 1 года до 14 лет.

Материал и методы

Под наблюдением находились 115 больных первичным остеоартрозом (ОА). Верификация диагноза проводилась на основании диагностических критериев Американской коллегии ревматологов и предложенной ими классификации [1]. В исследование не включались больные ОА с сопутствующими заболеваниями внутренних органов с тяжелыми нарушениями их функций, беременные, злоупотребляющие алкоголем, старше 80 лет.

Исходя из длительности заболевания, больные были распределены на 4 группы. 1 группу составили 57 больных с длительностью болезни до 2 лет (от 3 до 23 месяцев), из которых 41 (71,9%) женщина и 16 (28,1%) мужчин. Средний возраст больных ($M \pm m$) – $46,3 \pm 0,5$ лет. Явления синовита выявлены у 35 (61,4%) больных, полиостеоартроз – у 35 (61,4%), I стадия поражения суставов – у 45 (78,9%), II стадия – у 12 (21,1%) больных.

Во 2 группу с длительностью болезни 2-5 лет ($3,95 \pm 0,2$ лет) вошел 21 больной, из которых 7 (33,3%) мужчин и 14 (66,7%) женщин. Средний возраст больных – $54,5 \pm 0,4$ года. Явления

синовита выявлены у 11 (52,4%) больных, полиостеоартроз – у 14 (66,7%), I стадия – у 15 (71,4%), II стадия – у 6 (28,6%) больных.

В 3 группу с длительностью болезни 6-10 лет ($8,1 \pm 0,3$) вошли 23 больных, из которых 7 (30,4%) мужчин и 16 (69,6%) женщин. Средний возраст больных – $56,8 \pm 0,5$ лет. Явления синовита – у 12 (52,2%) больных, полиостеоартроз – у 17 (73,9%), II стадия – у 20 (87%), III стадия – у 3 (13%) больных.

4 группу с длительностью болезни свыше 10 лет (от 11 до 14 лет, $12,0 \pm 0,3$ года) составили 14 больных, из которых 5 (35,7%) мужчин и 9 (64,3%) женщин. Средний возраст больных – $58,2 \pm 0,6$ лет. Явления синовита выявлены у 7 (50%) больных, полиостеоартроз – у 12 (85,7%), II стадия – у 6 (42,9%), III стадия – у 8 (57,1%) больных. Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей.

Выделение лимфоцитов и эритроцитов из венозной крови проводилось по методике Воуит (1980) [2]. Определение активности АДА, АМФДА, АД проводилось спектрофотометрически по количеству аммиака (азота), высвобождающегося в ходе катализируемых реакций, а активность 5'-НТ – по количеству образования в ходе реакции неорганического фосфора [3]. Активность энзимов в лизатах лимфоцитов выражали в нмоль/мин/мл, исходя из содержания в 1 мл 1×10^7 клеток (до лизиса), а для эритроцитов – в 1 мл 1×10^9 клеток.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ «STATISTICA 6.0». При сравнении независимых групп использовались параметрические (критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий Манна-Уитни) методы, зависимых групп – критерии Стьюдента и Вилкоксона. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования энзимной активности у здоровых людей не выявили существенной зависимости активности ферментов от пола и возраста ни в лимфоцитах, ни в эритроцитах, что позволило в дальнейших исследованиях у больных эти факторы не учитывать.

Изменения активности энзимов в процессе эволюции болезни представлены на рисунке 1, где отражена динамика активности каждого фермента в процентах повышения или снижения активности по отношению к уровню здоровых. Как видно из приведенных данных, через 11-14 лет болезни активность всех энзимов снизилась в лимфоцитах, в эритроцитах снизилась активность АМФДА и 5'-НТ, но активность АДА и 5'-НТ были несколько выше, чем на первоначальном этапе.

Казалось бы, что по мере увеличения длительности заболевания активность ферментов должна еще более изменяться, отклоняясь от уровня здоровых, так как в патологический процесс вовлекается все больше суставов, увеличиваются стадии их поражения. Однако проведенные исследования показали, что в первые 2-5 лет болезни повышалась активность лишь некоторых ферментов (АДА и 5'-НТ в эритроцитах, АМФДА и АДв лимфоцитах), в последующие же годы активность большинства ферментов имела тенденцию к снижению. Возможные причины этого феномена лежат в клинических особенностях заболевания – влиянии синовита, количества и стадии пораженных суставов. Исследования показали, что у больных с синовитом, по сравнению с больными без синовита, в лимфоцитах выше активность АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в эритроцитах выше активность всех ферментов ($p < 0,001$). Но в сравниваемых нами группах количество больных с синовитом было примерно сопоставимым и вряд ли

причину снижения активности ферментов в процессе эволюции болезни можно обосновать фактором синовита. Определенное влияние на активность энзимов могла оказать стадия поражения суставов, и в сравниваемых группах более тяжелые стадии преобладали в 3-4-х группах. Наши исследования показали, что у больных с заболеванием I стадии, по сравнению с больными II стадии, в лимфоцитах выше только активность АДА ($p < 0,001$), а в эритроцитах нет статистически значимых различий; по сравнению с больными с III стадией, в лимфоцитах выше активность АДА ($p < 0,001$), в эритроцитах выше активность 5'-НТ ($p = 0,002$) и АМФДА ($p = 0,005$). Это могло повлиять на снижение активности именно этих ферментов в процессе эволюции болезни, но не на другие ферменты. Значительно большее влияние на энзимную активность оказывает количество пораженных суставов, что обусловлено при полиартрозе большей площадью поражений суставных поверхностей. И, действительно, у таких больных, по сравнению с больными с моно-олигоартрозом, в лимфоцитах ниже активность АДА ($p = 0,002$), выше активность АМФДА, АДА (все $p < 0,001$) и 5'-НТ ($p = 0,046$), в эритроцитах выше активность АДА ($p < 0,001$), АД ($p = 0,004$) и 5'-НТ ($p = 0,003$). Учитывая преобладание полиостеоартроза в 3-4 группах, можно предположить, что у этих больных в лимфоцитах и эритроцитах более высокие активности АМФДА, АДА и 5'-НТ, чем у больных 1-2-й групп. Однако результаты наших исследований показали, что в 3-4 группах активность этих энзимов ниже, чем в 1-2-й группах больных и, следовательно, причины снижения активности энзимов в процессе эволюции болезни лежат вне факторов синовита, стадии и числа пораженных суставов (или в этом аспекте играют незначительную роль). Таким образом, причины снижения активности ферментов через 11-14 лет болезни не совсем понятны. ОА является хроническим заболеванием, и можно предположить, что даже при своевременной эффективной терапии, патологический процесс в хрящевых и околосуставных структурах полностью не купируется, а продолжает прогрессировать и в стадии клинической ремиссии, но с меньшей интенсивностью, нежели в стадии обострения. Это требует определенной напряженности ферментных систем, отдельные звенья которых не всегда справляются с длительной интенсивной работой, что истощает энзимный потенциал клеток с замедлением индукции и продукции отдельных энзимов. Кроме того, последствиями нарушений пуринового метаболизма в клетках могут быть различные вещества-метаболиты в повышенных концентрациях, способные ингибировать те или иные энзимные реакции. В результате воспалительных или дистрофических процессов в клеточной среде может снижаться ее pH, что также может снизить активность ферментов. Необходимо учитывать активацию при воспалении свободно-радикальных процессов, ингибирующих некоторые ферменты. Не исключено и появление антител к ферментам пуринового метаболизма [4]. Таким образом, возможных причин снижения активности ферментов достаточно много, и выделить ведущую из них сложно; для этого необходимы специальные целенаправленные исследования, включая мониторинг показателей активности ферментов у определенной группы пациентов на протяжении 10-15 лет болезни.

В клинической практике подобная эволюция активности ферментов в зависимости от длительности болезни имеет определенное диагностическое значение. Так, если в начале заболевания (до 2-х лет) при оценке тяжести болезни или остроты заболевания в комплексе с клиническими данными рекомендуется ориентироваться на повышение активности



АД в лимфоцитах и АДА, АД и АМФДА в эритроцитах, то уже через 2-5 и 6-10 лет – на повышение активности АД и снижение АДА в лимфоцитах и повышение АДА и 5'-НТ в эритроцитах. Через 11 лет болезни об обострении ОА может свидетельствовать только снижение активности АДА в лимфоцитах и АД в эритроцитах, а активность других ферментов не выходит за пределы нормы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Altman R., Alarson G., Appelrouth D. et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis // Arthritis Rheum. — 1991. — Vol. 34. — P. 505-514.
2. Медицинские лабораторные технологии. Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. — СПб.: Интермедика, 2002. — С. 204-208.
3. Девятаева Н.М. Клинико-диагностическое значение исследования активности 5'-нуклеотидазы, АМФ-дезаминазы, адениндезаминазы, аденозиндезаминазы в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови больных системной красной волчанкой: дис... канд. мед. наук. — Волгоград, 2005. — 226 с.
4. Александров А.В. Клинико-патогенетическое значение исследования аутоантител к ферментам антиоксидантной системы и пуринового метаболизма у больных ревматоидным артритом: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Волгоград, 2009. — 60 с.

Таблица 1.

Активность энзимов в лимфоцитах у больных ОА в зависимости от длительности болезни

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД	5'-НТ
Здоровые	90	М σ m медиана квартили	46,4 4,68 0,85 46,4 42,7-51,5	3,24 0,49 0,09 3,30 2,8-3,6	1,95 0,26 0,05 2,00 1,8-2,1	36,6 1,63 0,30 36,6 35,3-38,2
1 гр. Больные ОА с длительностью болезни до 2 лет	57	М σ m медиана квартили	47,5 1,53 0,20 47,1 46,8-48,6	3,26 0,18 0,02 3,30 3,1-3,4	2,27 ^{xxx} 0,26 0,03 2,34 2,12-2,49	37,3 1,70 0,23 37,0 36,6-38,0
2 гр. Больные ОА с длительностью 2-5 лет	21	М σ m медиана квартили	43,8 [*] 0,70 0,15 43,8 43,4-44,1	3,30 0,12 0,03 3,35 3,22-3,38	2,31 ^{xxx} 0,18 0,04 2,30 2,13-2,48	37,3 1,41 0,31 37,0 36,0-38,0
3 гр. Больные ОА с длительностью 6-10 лет	23	М σ m медиана квартили	41,8 ^{xxx} 0,76 0,16 41,8 41,3-42,4	3,30 0,22 0,04 3,41 3,11-3,47	2,18 ^{xx} 0,21 0,04 2,32 1,96-2,36	36,2 1,19 0,25 36,4 35,2-37,0
4 гр. Больные ОА с длительностью свыше 10 лет	14	М σ m медиана квартили	40,5 ^{xxx} 0,66 0,18 40,6 39,9-41,0	3,11 0,23 0,06 3,08 2,92-3,30	2,69 0,18 0,05 2,08 1,92-2,25	36,1 0,69 0,18 36,0 35,8-36,7
1гр.-2гр. 1гр.-3гр. 1гр.-4гр. 2гр.-3гр. 2гр.-4гр. 3гр.-4гр.			p<0,001 p<0,001 p<0,001 p<0,001 p<0,001 p<0,001	p>0,05 p>0,05 p<0,01 p>0,05 p<0,01 p<0,01	p>0,05 p>0,05 p<0,01 p<0,05 p<0,01 p>0,05	p>0,05 p<0,01 p<0,05 p<0,01 p<0,01 p>0,05

Примечание. Степень различий между здоровыми и 1-4 группами обозначены символами, где: * - p<0,05, ^{xx} - p<0,01, ^{xxx} - p<0,001.



Таблица 2.

Активность энзимов в эритроцитах у больных ОА в зависимости от длительности болезни

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД	5'-НТ
Здоровые	30	М σ m медиана квартили	35,9 2,75 0,50 36,0 33,3-38,2	22,5 2,92 0,53 22,4 19,8-25,1	12,9 1,20 0,22 13,2 11,8-13,8	39,6 3,94 0,72 38,5 36,4-43,2
1 гр. Больные ОА с длительностью болезни до 2 лет	57	М σ m медиана квартили	37,3 1,53 0,20 37,1 36,2-37,9	23,6 1,14 0,15 23,5 22,9-24,4	13,6 1,03 0,14 13,7 13,0-14,0	40,5 1,96 0,26 40,0 39,0-42,0
2 гр. Больные ОА с длительностью 2-5 лет	21	М σ m медиана квартили	38,5 1,23 0,27 38,7 37,5-39,5	22,5 1,21 0,26 22,4 21,5-23,6	13,6 1,45 0,32 13,7 12,5-14,8	44,4 2,09 0,46 45,0 43,0-46,0
3 гр. Больные ОА с длительностью 6-10 лет	23	М σ m медиана квартили	39,6 2,89 0,60 40,3 36,9-41,8	21,6 1,63 0,34 21,3 19,8-23,0	13,0 1,14 0,24 12,8 12,2-13,5	42,9 1,12 0,23 43,0 42,0-44,0
4 гр. Больные ОА с длительностью свыше 10 лет	14	М σ m медиана квартили	36,8 1,56 0,42 37,8 36,3-39,3	21,0 1,69 0,45 21,1 19,4-22,6	12,7 0,87 0,23 12,4 11,9-13,6	41,4 1,02 0,27 41,5 41,0-42,0
1гр.-2гр. 1гр.-3гр. 1гр.-4гр. 2гр.-3гр. 2гр.-4гр. 3гр.-4гр.			p<0,01 p<0,001 p>0,05 p>0,05 p>0,05 p<0,05	p<0,001 p<0,001 p<0,001 p<0,05 p<0,01 p<0,05	p>0,05 p<0,05 p<0,01 p>0,05 p<0,05 p>0,05	p<0,001 p<0,001 p>0,05 p<0,01 p<0,001 p<0,001

Примечание. Степень различий между здоровыми и 1-4 группами обозначены символами, где: * - p<0,05, ** - p<0,01, ***- p<0,001.

Рисунок 1.

Активность энзимов в лимфоцитах больных ОА в процессе эволюции болезни (в % от уровня здоровых)

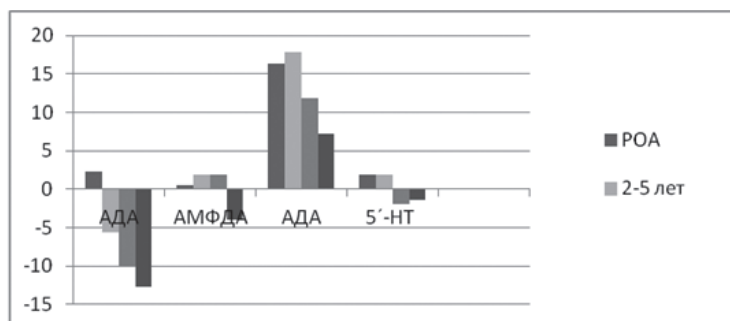


Рисунок 2.

Активность энзимов в эритроцитах больных ОА в процессе эволюции болезни (в % от уровня здоровых)

