

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЭНЗИМОВ АДЕНИЛОВОГО ПУЛА ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В ЛИМФОЦИТАХ И ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

А. Б. Зборовский, Н. Б. Абрамов

НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН

После проведенного курса лечения в лизатах эритроцитов больных системной склеродермией (ССД) отмечалось значительное снижение активности аденозиндезаминазы, а лимфоцитов — повышение активности аденозиндезаминазы и адениндезаминазы, а также снижение активности АМФ-дезаминазы. Исследования активности энзимов способствовали уточнению степени активности процесса и объективизации контроля эффективности терапии больных ССД.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза, адениндезаминаза, АМФ-дезаминаза, системная склеродермия.

CLINICAL AND DIAGNOSTICAL SIGNIFICANCE OF ENZYME ACTIVITY EVALUATION OF THE PURINE METABOLISM ADENYLIC POOL IN LYMPHOCYTES AND RED BLOOD CELLS OF PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLERODERMA

A. B. Zborovski, N. B. Abramov

Significant decrease of adenine deaminase activity in erythrocytes and increase of adenosine deaminase and adenine deaminase activities together with decrease of AMP-deaminase activity in lymphocytes of patients with systemic scleroderma was discovered after the treatment course. Differences between all degrees of pathological process activity were demonstrated to be significant. Evaluation of activity of the enzymes under investigation promoted more precise diagnostics of the degree of process activity and the control therapy efficiency in patients with systemic scleroderma.

Key words: adenosine deaminase, AMP deaminase, adenine deaminase, systemic scleroderma.

Системная склеродермия (ССД) является классическим представителем системных заболеваний соединительной ткани и характеризуется выраженными фиброзно-склеротическими изменениями кожи, стромы внутренних органов, избыточным коллагенообразованием и микроциркуляторными расстройствами. ССД имеет не столь широкую распространенность как многие другие ревматические заболеваниями, но характеризуется неуклонным прогрессирующим течением без четко выраженных фаз клинической ремиссии, множественными висцеральными поражениями, частой и ранней инвалидизацией и высокой летальностью, что и предопределяет актуальность борьбы с этим заболеванием.

На фоне малоизмененных клинико-иммунобиохимических показателей ССД свойственно хроническое течение, и поэтому своевременная диагностика активности процесса в клинической практике нередко является достаточно сложной задачей. Учитывая, что ССД характеризуется выраженными метаболическими, иммунологическими нарушениями, в своей работе мы провели исследования активности некоторых энзимов адениловой ветви пуринового метаболизма (ПМ): аденозиндезаминазы (АДА), аденозинмонофосфат (АМФ), АМФ-дезаминазы (АМФДА) и адениндезаминазы (АД) в лизатах лимфоцитов и эритроцитов крови больных ССД, исходя из биологической роли ПМ, заключающейся в регуляции иммунных и пластических процессов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Повышение качества диагностики активности патологического процесса при ССД, объективизации контроля эффективности проводимой терапии с использованием показателей активности АДА, АМФДА и АД в лизатах лимфоцитов и эритроцитов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением в условиях стационара находились 54 больных ССД, из которых 48 (88,9 %) женщин и 6 (11,1 %) мужчин. Средний возраст больных составил $(43,1 \pm 1,1)$ лет, средняя продолжительность заболевания — $(8,1 \pm 0,6)$ лет. Диагностика ССД и определение степени активности процесса проводились на основании критериев Американской ревматической ассоциации (АРА) и отечественной классификации болезни [3, 4]

Определялась I степень активности процесса у 18 (33,3 %) больных, II степень активности — у 29 (53,7 %) и III степень — у 7 (13 %) больных. Хроническое течение заболевания определялось у 22 (40,7 %), подострое — у 27 (50 %) и острое течение — у 5 (9,3 %) больных. I стадия болезни определялась у 18 (33,3 %), II стадия — у 36 (66,7 %) больных.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей.

Выделение лимфоцитов проводилось из венозной крови (с добавлением 3,8%-го раствора цитрата натрия)

с использованием химической посуды и лимфосепа (фирма «JCN Biomedicals») с плотностью раствора 1,077—1,079 г/мл [2]. Лизаты лимфоцитов и эритроцитов готовили путем трехкратного замораживания и оттаивания. Активность АДА, АМФДА и АД в лизатах клеток определяли по аммиаку в цветной реакции Бертра с использованием фенол-гипохлоритного реагента и выражали в нмоль/мин/мл, исходя из содержания в 1 мл лизатах лимфоцитов (до лизиса) 1×10^7 клеток, а для эритроцитов — 1×10^9 клеток [1].

У всех больных также определялись: общий анализ крови и мочи, белковые фракции крови, сиаловые кислоты, С-реактивный белок, ревматоидный фактор (РФ), иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), антинуклеарный фактор (АНФ).

В лечении больных использовались нестероидные противовоспалительные препараты (диклофенак, индометацин и др.), глюкокортикоиды, метотрексат, Д-пеницилламин, курантил, димексид в аппликациях. Дозировка препаратов и их виды во многом зависели от степени активности процесса и наличия висцеральных поражений.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного пакета Statistica 6.0. При сравнении двух групп в случаях нормального распределения признака использовался *t*-критерий Стьюдента, при непараметрических вариантах — критерии Вилкоксона и Манна-Уитни. Для каждой исследуемой группы больных определялись средняя арифметическая — *M*, ошибка средней арифметической — *m*, среднее квадратическое отклонение — *G*, медиана, нижние и верхние квартили (25-й и 75-й процентиля).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Статистический анализ не выявил зависимости активности АДА, АМФДА и АД в лизатах лимфоцитов и эритроцитов здоровых людей от пола и возраста, что позволило в дальнейшем эти факторы не учитывать при обработке результатов энзимных исследований у больных ССД.

При поступлении в стационар у больных ССД (всей группы), по сравнению со здоровыми, в лизатах лимфоцитов (табл. 1) определялось снижение активности АДА ($p < 0,001$), АД ($p < 0,001$) и повышение активности АМФДА ($p < 0,001$), в лизатах эритроцитов (табл. 2) — повышение активности АДА ($p < 0,001$), АД ($p = 0,042$) и тенденция к повышению активности АМФДА ($p = 0,06$).

Через 10—12 дней лечения, по сравнению с поступлением, в лизатах эритроцитов наметилось лишь тенденция к снижению активности АДА и АМФДА, а в лимфоцитах — повысились ранее сниженные активности АДА ($p < 0,001$), АД ($p = 0,008$) и снизилась активность АМФДА ($p < 0,001$).

По окончании курса лечения, по сравнению с начальным этапом, в лизатах эритроцитов (табл. 2) наблюдалось существенное снижение активности АДА ($p < 0,01$), а в лимфоцитах (табл. 1) повысились актив-

ности АДА, АД и снизилась активность АМФДА (все $p < 0,001$).

У больных с I степенью активности процесса при поступлении на лечение, по сравнению со здоровыми, в лизатах эритроцитов (табл. 2) выше активность АДА ($p < 0,001$), но ниже активность АМФДА ($p = 0,007$) и АД ($p < 0,001$), в лимфоцитах (табл. 1) ниже активности АДА, АД и выше АМФДА (все $p < 0,001$).

Если же ориентироваться не на среднестатистические величины активности энзимов, а на индивидуальные энзимные показатели, то за пределы условной нормы здоровых, вычисленной по формуле $M \pm 2G$, в лизатах эритроцитов только активность АДА у всех больных (100 %) была выше верхних границ нормы, а в лизатах лимфоцитов активность АДА в 94,4 % случаев была ниже границ нормы, активность АМФДА в 50 % случаев выше уровня нормы, а активности других энзимов не выходили за референтные пределы. В то же время у этих же больных среди общепринятых клинико-иммуно-биохимических показателей, отражающих активность иммунновоспалительного процесса, отклонения от уровня здоровых лиц для С-реактивного белка (СРБ), гамма-глобулинов, иммуноглобулинов G определялись в 44,4 % случаев, сиаловых кислот — в 38,9 %, альфа-2-глобулинов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), иммуноглобулинов M — в 33,3, фибриногена, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), иммуноглобулинов A — в 27,8 %, антител к н-ДНК и АМФ — в 22,2 % случаев. То есть показатели активности АДА в лизатах лимфоцитов и эритроцитов отличались более значительной информативностью в отражении минимальной активности склеродермического процесса, чем самые демонстративные в этом аспекте выше указанные клинико-иммуно-биохимические показатели.

Через 10—12 дней лечения, по сравнению с исходным фоном, в лизатах эритроцитов снизилась активность АДА ($p < 0,01$) и повысилась АД ($p < 0,05$), в лимфоцитах повысилась активность АДА ($p < 0,001$) и снизилась АМФДА ($p < 0,05$).

По окончании курса лечения, по сравнению с начальным этапом, в эритроцитах (табл. 2) снизилась активность АДА, повысились активности АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в лимфоцитах (табл. 1) значительно повысились активности АДА, АД и снизилась АМФДА (все $p < 0,001$).

Перед выпиской из стационара в эритроцитах нормализовались активности АМФДА и АД, но остались повышенной активности АДА ($p < 0,001$), в лимфоцитах также нормализовались активности АМФДА и АД, но осталась сниженной активность АДА ($p < 0,001$).

У больных ССД с II степенью активности процесса, по сравнению со здоровыми, в эритроцитах (табл. 2) выше активности АДА ($p = 0,003$), АМФДА ($p = 0,0033$) и АД ($p < 0,001$), в лимфоцитах (табл. 1) ниже активности АДА, АД и выше АМФДА (все $p < 0,001$), а по сравнению с больными ССД с I степенью, в эритроцитах ниже активность АДА ($p < 0,001$), выше активности АМФДА ($p < 0,001$) и АД ($p < 0,001$), в лимфоцитах ниже активности АДА, АД и выше АМФДА (все $p < 0,001$).

Таблица 1

Энзимные показатели в лизатах лимфоцитов здоровых и больных ССД в процессе лечения

Контингент	Кол-во больных	Стат. пок-ли	При поступлении			Перед выпиской		
			АДА	АМФДА	АД	АДА	АМФДА	АД
Здоровые	30	М	44,8	3,21	1,96			
		G	2,98	0,53	0,18			
		m	0,54	0,10	0,03			
		медиа на	46,2	3,30	2,00			
		кварт.	43,1 - 46,8	2,7 - 3,6	1,8 - 2,0			
Больные (вся группа)	54	М	26,1	5,15	1,69	38,2	3,61	1,86
		G	4,27	0,85	0,10	3,25	0,32	0,07
		m	0,58	0,12	0,01	0,44	0,04	0,01
		медиа на	25,2	5,05	1,68	38,1	3,60	1,86
		кварт.	23,0 - 28,6	4,6-5,8	1,62 - 1,76	35,6 - 40,6	3,4 - 3,9	1,8-1,92
I степень активности	18	М	30,7	4,22	1,8	41,4	3,29	1,91
		G	3,70	0,42	0,05	2,37	0,13	0,05
		m	0,87	0,1	0,01	0,56	0,03	0,01
		медиа на	29,2	4,30	1,81	42,3	3,30	1,93
		кварт.	28,3 - 31,7	4,0 - 4,6	1,75 - 1,84	38,6 - 43,2	3,2 - 3,4	1,86 - 1,95
II степень активности	29	М	24,5	5,41	1,66	36,9	3,69	1,84
		G	1,8	0,42	0,05	2,23	0,21	0,07
		m	0,33	0,08	0,01	0,41	0,04	0,01
		медиа на	24,4	5,5	1,65	36,9	3,6	1,84
		кварт.	23,2 - 25,2	5,0 - 5,8	1,62 - 1,7	34,8 - 38,5	3,6 - 3,8	1,78 - 1,9
III степень активности	7	М	21	6,46	1,52	35,5	4,11	1,77
		G	0,48	0,26	0,03	2,63	0,19	0,66
		m	0,18	0,1	0,01	1	0,07	0,02
		медиа на	21	6,5	1,52	35,8	4	1,80
		кварт.	20,5 - 21,2	6,2 - 6,7	1,50 - 1,55	32,5 - 38,3	4-4,3	1,7 - 1,8

Таблица 2

Энзимные показатели в лизатах эритроцитов здоровых и больных ССД в процессе лечения

Контингент	Кол-во больных	Стат. пок-ли	При поступлении			Перед выпиской		
			АДА	АМФДА	АД	АДА	АМФДА	АД
Здоровые	30	М	36,7	21,6	12,2			
		G	3,7	4,66	1,57			
		m	0,68	0,85	0,29			
		медиа на	36,4	21,8	11,8			
		кварт.	33,3 - 39,5	16,5 - 26,2	11,0 - 13,7			
Больные (вся группа)	54	М	49,2	23	13,3	41,6	22,1	12,9
		G	16,2	4,25	2,18	6	2,13	0,9
		m	2,21	0,58	0,3	0,82	0,29	0,12
		медиа на	42,1	23,1	13,4	39,2	21,8	12,6
		кварт.	37,6 - 61,8	19,3 - 25,3	11,3 - 14,5	37,1 - 43,8	21,2-23	12,4 - 13,1
I степень активности	18	М	69,6	18,3	10,8	47,7	20,2	12,4
		G	9,43	1,33	0,57	6,36	0,93	0,38
		m	2,22	0,31	0,13	1,5	0,22	0,09
		медиа на	73,1	18,2	10,9	50	19,9	12,5
		кварт.	61,8 - 77,4	17,1 - 19,3	10,5 - 11,3	41,3 - 51,8	19,5 - 21,2	12,0 - 12,8
II степень активности	29	М	40,6	24,1	14	38,5	22,3	12,7
		G	5,22	1,51	0,78	2,74	0,85	0,49
		m	0,97	0,28	0,14	0,51	0,16	0,09
		медиа на	39,7	23,9	13,9	37,4	22,1	12,6
		кварт.	37,7 - 43,7	22,8 - 25,2	13,3 - 14,3	36,4 - 40,2	21,6 - 23,0	12,5 - 13
III степень активности	7	М	32,3	30,6	17	38,8	26,1	14,8
		G	2,5	2,27	0,82	1,51	2,14	0,75
		m	0,95	0,86	0,31	0,6	0,81	0,28
		медиа на	32,3	30,8	17	39	26,2	15,1
		кварт.	30,2 - 34,5	28,3 - 32,5	16,3 - 17,9	37,8 - 40	24,4 - 28,0	14,0 - 15,4

У больных ССД с III степенью активности процесса, по сравнению со здоровыми, в эритроцитах (табл. 2) ниже активность АДА ($p = 0,024$), выше активности

АМФДА ($p < 0,001$) и АД ($p < 0,001$), в лимфоцитах (табл. 1) ниже активности АДА, АД и выше АМФДА (все $p < 0,001$); по сравнению с больными со II степенью, в

эритроцитах ниже активность АДА ($p < 0,001$), выше АМФДА ($p < 0,001$) и АД ($p < 0,001$), в лимфоцитах ниже активности АДА, АД и выше АМФДА (все $p < 0,001$); по сравнению с больными с I степенью, в эритроцитах ниже активность АДА, выше АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в лимфоцитах ниже активности АДА, АД и выше АМФДА (все $p < 0,001$).

То есть проведенные исследования у больных ССД показали, что между всеми степенями активности патологического процесса в лизатах лимфоцитов и эритроцитов определяются существенные энзимные различия, способствующие в комплексе с клиническими данными их дифференциации. Чем выше степень активности склеродермического процесса, тем в лизатах эритроцитов ниже активность АДА и выше активности АД и АМФДА, а в лизатах лимфоцитов — ниже активности АДА, АД и выше активности АМФДА.

Выявленное нами снижение активности АДА в лимфоцитах больных ССД, особенно выраженное при высокой активности патологического процесса, может обусловить нарушение функциональных свойств лимфоцитов, процессы их пролиферации, дифференциации, синтеза ДНК, РНК, ослабить супрессорные свойства Т-клеток, ускорить их апоптоз и, таким образом, составить один из патогенетических механизмов ССД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В лизатах лимфоцитов и эритроцитов крови больных ССД выявлены существенные изменения ак-

тивности АДА, АМФДА и АД, зависящие от выраженности активности патологического процесса.

2. Показатели активности АДА в лизатах лимфоцитов и эритроцитов более информативны в отражении минимальной активности патологического процесса, чем общепринятые клинико-иммуно-биохимические показатели (СОЭ, СРБ, сиаловые кислоты и др.)

3. Показатели активности АДА, АМФДА и АД в лизатах лимфоцитов и эритроцитов способствуют уточнению степени активности патологического процесса при ССД и объективизации оценки эффективности проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Девятаева Н. М. Клинико-диагностическое значение исследования активности 5'-нуклеотидазы, АМФ-дезаминазы, адениндезаминазы, аденозиндезаминазы в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазмы крови больных системной красной волчанкой: диссертация канд. мед. наук. — Волгоград, 2005. — 226 с.
2. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. — СПб.: Интермедика, 2002. — 600 с.
3. Клинические рекомендации. Ревматология / Под ред. Е. Л. Насонова. — М.: ГЕОТАР-Медиа, 2005. — С. 168—185.
4. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma) // Arthritis Rheum. Ibid. — 1980. — № 23. — P. 581—590.

УДК 616.345-008.6-009.86-053.2-07

ОЦЕНКА ФУНКЦИИ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

О. Г. Степанов, С. Н. Теплова, В. В. Кишкина

Челябинская государственная медицинская академия

В работе изучается характер изменений вегетативной реактивности и вегетативного обеспечения при синдроме раздраженного кишечника у детей в связи их с предполагаемой патогенетической значимостью в формировании этой дисфункциональной патологии желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: синдром раздраженного кишечника, вегетативная нервная система, кардиоинтервалография, дисрегуляторные нарушения,

ASSESSMENT OF AUTONOMOUS NERVOUS SYSTEM FUNCTION IN CHILDREN WITH IRRITATIVE BOWEL SYNDROME

O. G. Stepanov, S. N. Teplova, V. V. Kishkina

Changes of autonomous reactivity and autonomous maintenance in children with irritative bowel syndrome are described in the paper. The aim of the study was to find out the role of autonomous nervous system in pathogenesis of the irritative bowel disease.

Key words: irritative bowel disease, autonomous nervous system, cardiointervalography, disregulatory disorders

Синдром раздраженного кишечника (СРК) по определению относится к дисфункциональным расстройствам и характеризуется отсутствием специфических морфоло-

гических критериев диагностики данного заболевания (Римские критерии II, 2000). В связи с этим проводятся постоянные поиски объективных маркеров, позволяющих