

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ЭНЗИМОВ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В ЛИЗАТАХ ЛИМФОЦИТОВ И ЭРИТРОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ

Ю. И. Герусов, И. А. Зборовская, В. Ф. Мартемьянов, С. А. Бедина, Е. Э. Мозговая

НИИ Клинической и экспериментальной ревматологии РАМН

В лизатах лимфоцитов и эритроцитов крови 52 больных остеоартрозом (ОА) определялись активности аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА) и адениндезаминазы (АД) в зависимости от клинических особенностей заболевания. Результаты исследований показали, что наибольшие изменения активности энзимов наблюдались у больных ОА с синовитом и высокой степенью функциональной недостаточности суставов. Тяжелое течение заболевания сопровождалось значительным снижением активности АДА в лимфоцитах и высокой активностью АДА, АМФДА и АД в эритроцитах. Исследования активности энзимов в процессе лечения способствовало объективизации контроля эффективности терапии.

Ключевые слова: остеоартроз, аденозиндезаминаза, адениндезаминаза, АМФ-дезаминаза.

CLINICOPATHOGENETIC IMPORTANCE OF ANALYSIS OF PURINE METABOLISM ENZYME ACTIVITY IN LYMPHOCYTE LYSATES AND ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH OSTEOARTROSIS

Yu. I. Gerusov, I. A. Zborovskaya, V. F. Martemjanov, S. A. Bedina, E. E. Mozgovaya

Activities of adenosine deaminase (ADA), adenosine monophosphate deaminase (AMPHDA) and adenin deaminase (AD) were determined depending on clinical features of the disease in lysates of lymphocytes and erythrocytes in blood of 52 patients with osteoarthrosis. The results of the investigation demonstrated that the greatest changes in enzymatic activity were observed in patients with synovitis and a high degree of functional insufficiency of the joints. A severe course of the disease was accompanied by a considerable reduction of the activity of ADA in lymphocytes and a high activity of ADA, AMPHDA and AD in erythrocytes. Investigation of enzymatic activity promoted the control of objectivity and effectiveness of treatment.

Key words: osteoarthrosis, adenosine deaminase, adenosine monophosphate deaminase, adenin deaminase.

Остеоартроз (ОА) является самой распространенной формой поражения суставов среди всех ревматических болезней опорно-двигательного аппарата. Это заболевание встречается в возрасте от 45 до 65 лет у каждого третьего жителя и в 60—70 % — у лиц старше 65 лет [4].

Достаточно часто при ОА поражаются коленные, тазобедренные суставы, особенно у пациентов свыше 55 лет, и подобная патология значительно ухудшает качество жизни и является одной из основных причин стойкой потери трудоспособности. Риск нетрудоспособности вследствие ОА коленных суставов равен риску, связанному с болезнями сердца, и находится на четвертом месте среди основных причин нетрудоспособности [2, 5].

Исходя из этого, борьба с ОА является важной медико-социальной проблемой, и исследования, направленные на раннюю диагностику, выяснение конкретных патогенетических механизмов ОА, способствующих назначению патогенетической терапии, представляются нам весьма актуальными проблемами современной медицины.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявление особенности активности аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА) и

адениндезаминазы (АД) в лизатах лимфоцитов и эритроцитов крови больных ОА в зависимости от клинических особенностей заболевания, повышение качества диагностики ОА, выяснение роли энзимов в патогенезе ОА.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением в условиях стационара находились 52 больных ОА, из которых 16 (30,8 %) мужчин и 36 (69,2 %) женщин. Средний возраст больных (51,8 ± 2,5) лет, средняя продолжительность заболевания — (10,8 ± 4,6) лет. Диагностика ОА проводилась в ходе всестороннего клинико-инструментального обследования и общепринятых диагностических критериев.

Полиоостеоартроз определялся у 40 (76,9 %) больных, моноостеоартроз — у 12 (23,1 %) больных. У 36 (69,2 %) больных наблюдались явления синовита.

Узелковая форма ОА отмечалась у 32 (61,5 %) больных. I стадия поражения суставов по рентгенологическим данным установлена у 8 (15,4 %), II стадия — у 36 (69,2 %) и III стадия — у 8 (15,4 %) больных.

Функциональная недостаточность суставов I степени (ФНС-1) определялась у 35 (67,3 %) больных, ФНС-2 — у 17 (32,7 %) больных.

Выделение лимфоцитов и эритроцитов из венозной крови проводилось по методике Boyum с использованием лимфосепа (JCN Biomedical) с градиентом плотности 1,077—1,079 г/мл [3].

Количество клеток крови подсчитывали под микроскопом. Лизаты лимфоцитов и эритроцитов готовили путем двукратного заморживания—оттаивания и центрифугирования. Определение активности АДА, АМФДА и АД в лизатах клеток проводилось по содержанию аммиака, выделяющегося в ходе катализируемых реакций с использованием фенолгипохлоритного реагента в цветной реакции [6].

Активность энзимов в лизатах клеток рассчитывалась для лимфоцитов на 1 мл, содержащий 1×10^7 клеток (до лизиса), для эритроцитов на 1 мл, содержащий 1×10^9 клеток, в наномолях за 1 минуту. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA 6,0». При сравнении двух групп с нормальным распределением энзимных показателей применялся Т-критерий Стьюдента, при непараметрических вариантах — критерий Вилкоксона и Манна-Уитни.

Для каждой группы больных определялись средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической (m), стандартное отклонение (G).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Существенной зависимости активности АДА, АД и АМФДА в лизатах клеток в зависимости от пола и возраста вывлчено не было, что позволило в дальнейшем у больных эти факторы не учитывать.

У больных ОА (всей группы) при поступлении на лечение, по сравнению со здоровыми, в лимфоцитах (табл. 1) ниже активность АДА ($p < 0,001$), незначительно выше активность АМФДА ($p = 0,058$), в эритроцитах (табл. 2) выше активность АДА ($p < 0,001$), АМФДА ($p < 0,001$) и АД ($p = 0,042$).

Через 7—8 дней лечения, по сравнению с исходным фоном, в лимфоцитах наметилась тенденция к снижению активности АМФДА ($p = 0,092$); АД ($p = 0,058$) и повысилась активность АДА ($p = 0,041$), в эритроцитах наметилась тенденция к снижению активности АДА ($p = 0,062$), АМФДА ($p = 0,068$) и АД ($p = 0,063$).

По окончании курса лечения, по сравнению с начальным этапом, в лимфоцитах повысилась активность АДА ($p < 0,001$), снизилась активность АМФДА ($p = 0,042$) и АД ($p < 0,001$); в эритроцитах снизилась активность всех энзимов ($p < 0,001$), а по сравнению со здоровыми, в лизатах лимфоцитов осталась сниженной активность АДА ($p = 0,006$), повышенной активность АМФДА ($p = 0,038$) и АД ($p = 0,04$); в лизатах эритроцитов остались повышенными активности АМФДА ($p = 0,001$) и АДА ($p = 0,004$).

Далее нами анализировались результаты в зависимости от клинических особенностей ОА. У боль-

ных с синовитом, по сравнению со здоровыми, в лимфоцитах ниже активность АДА, выше АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в эритроцитах выше активность всех энзимов (все $p < 0,001$).

Таблица 1

Активность АДА, АМФДА и АД в лизатах лимфоцитов у больных ОА в зависимости от клинических особенностей

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД
Здоровые	30	M	45,9	3,17	1,93
		G	4,60	0,41	0,33
		m	0,84	0,07	0,06
Больные ОА (вся группа)	52	M	38,2***	3,37	2,29
		G	2,68	0,39	0,32
		m	0,37	0,06	0,04
Стадия I	8	M	38,9***	3,33	2,09
		G	2,36	0,31	0,18
		m	0,83	0,11	0,06
Стадия II	36	M	38,1***	3,33	2,09*
		G	2,77	0,40	0,33
		m	0,46	0,07	0,05
Стадия III	8	M	38,1***	3,70***	2,38**
		G	2,78	0,32	0,35
		m	0,98	0,11	0,13
ФНС - 1	37	M	39,2***	3,22	2,14**
		G	2,26	0,36	0,23
		m	0,37	0,06	0,04
ФНС - 2	15	M	35,4***	3,73***	2,64***
		G	1,23	0,19	0,20
		m	0,32	0,05	0,05
Безузелковая форма	20	M	39,0***	3,28	2,31***
		G	2,84	0,53	0,32
		m	0,64	0,12	0,07
Узелковая форма	32	M	37,7***	3,42**	2,27***
		G	2,50	0,28	0,32
		m	0,44	0,05	0,06
ОА с синовитом	36	M	36,8***	3,57***	2,44***
		G	1,75	0,22	0,26
		m	0,29	0,04	0,04
ОА без синовита	16	M	41,3***	2,92*	1,94
		G	1,47	0,33	0,07
		m	0,37	0,08	0,02
Полиостеоартроз	40	M	37,1***	3,53***	2,40***
		G	1,88	0,23	0,28
		m	0,30	0,04	0,04
Моноолигоартроз	12	M	41,9**	2,82**	1,91
		G	1,27	0,32	0,07
		m	0,37	0,09	0,02

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Различия между группами больных и здоровых.

У больных ОА без синовита, по сравнению со здоровыми, в лимфоцитах ниже активность АДА ($p < 0,001$), АМФДА ($p = 0,048$), в эритроцитах выше активность АМФДА ($p = 0,047$), АД ($p = 0,006$) и незначительно выше АДА ($p = 0,08$).

Сравнительный анализ показал, что у больных ОА с синовитом, по сравнению с больными без синовита, в лимфоцитах ниже активность АДА, выше АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в эритроцитах выше активность всех энзимов (все $p < 0,001$).

У больных с полиостеоартрозом, по сравнению с моноолигоартрозом, в лимфоцитах ниже активность

АДА, выше АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в эритроцитах выше активность АМФДА ($p = 0,038$) и АД ($p < 0,001$).

Таблица 2

Активность АДА, АМФДА и АД в лизатах эритроцитов у больных ОА в зависимости от клинических особенностей

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД
Здоровые	30	<i>M</i>	36,6	21,8	12,8
		<i>G</i>	3,12	4,44	1,86
		<i>m</i>	0,57	0,81	0,34
Больные ОА (вся группа)	52	<i>M</i>	45,9***	26,8***	14,5*
		<i>G</i>	8,58	3,20	3,52
		<i>m</i>	1,19	0,44	0,49
Стадия I	8	<i>M</i>	54,4***	26,6**	14,0
		<i>G</i>	1,98	2,96	2,65
		<i>m</i>	0,70	1,05	0,94
Стадия II	36	<i>M</i>	44,9***	27,1***	14,3*
		<i>G</i>	9,00	3,30	3,34
		<i>m</i>	1,50	0,55	0,56
Стадия III	8	<i>M</i>	41,6***	25,9*	15,7*
		<i>G</i>	4,26	3,17	5,02
		<i>m</i>	1,51	1,12	1,78
ФНС - 1	37	<i>M</i>	42,1***	25,3***	12,6
		<i>G</i>	7,21	1,93	1,60
		<i>m</i>	1,19	0,32	0,26
ФНС - 2	15	<i>M</i>	55,2***	30,6***	18,6***
		<i>G</i>	1,77	2,40	2,27
		<i>m</i>	0,46	0,62	0,59
Безузелковая форма	20	<i>M</i>	55,4***	27,7***	13,7
		<i>G</i>	1,62	3,74	3,22
		<i>m</i>	0,36	0,84	0,72
Узелковая форма	32	<i>M</i>	39,9**	26,1***	14,9**
		<i>G</i>	4,86	2,36	3,68
		<i>m</i>	0,86	0,42	0,65
ОА с синовитом	36	<i>M</i>	49,5***	28,2***	15,8***
		<i>G</i>	6,86	2,66	2,92
		<i>m</i>	1,14	0,44	0,49
ОА без синовита	16	<i>M</i>	37,6	23,7*	11,2**
		<i>G</i>	5,88	1,88	0,65
		<i>m</i>	1,47	0,47	0,16
Полиоостеоартроз	40	<i>M</i>	46,5***	27,4***	15,3***
		<i>G</i>	8,33	3,25	3,09
		<i>m</i>	1,32	0,52	0,49
Моноолигоартроз	12	<i>M</i>	43,6***	25,0*	11,3*
		<i>G</i>	9,41	2,31	1,33
		<i>m</i>	2,72	0,67	0,38

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Различия между группами больных и здоровых.

У больных с узелковой формой ОА, по сравнению с безузелковой формой, в лизатах лимфоцитов статистически значимых энзимных различий не определялось ($p > 0,05$), в эритроцитах — только ниже активность АДА ($p < 0,001$), а различия по активности АД и АМФДА статистически незначимы ($p > 0,05$).

У больных с ФНС-1, по сравнению с больными с ФНС-2, в лимфоцитах выше активность АДА, ниже АМФДА и АД (все $p < 0,001$), в эритроцитах ниже активность всех энзимов ($p < 0,001$).

У больных ОА с I стадией поражения суставов, по сравнению с больными со II стадией, в лимфоцитах энзимные различия статистически незначимы

($p > 0,05$), в эритроцитах — только выше активность АДА ($p = 0,005$); по сравнению с III стадией в лимфоцитах ниже активность АМФДА ($p = 0,042$), в эритроцитах только выше активность АДА ($p < 0,001$).

У больных ОА со II стадией, по сравнению с больными с III стадией, в лимфоцитах только ниже активность АМФДА ($p = 0,041$), в эритроцитах — энзимные различия статистически незначимы ($p > 0,05$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что у больных ОА в период обострения заболевания выявлены существенные изменения активности энзимов ПМ, проявившиеся в снижении активности АДА и повышении активности АД в лимфоцитах, а в эритроцитах — повышением активности всех энзимов. Наиболее чувствительным энзимным показателем, реагирующим на изменения клинического состояния больных в ранние сроки лечения (7—8 дней) была активность АДА в лимфоцитах. По окончании курса лечения (15—20 дней) наблюдалась положительная, статистически значимая динамика всех энзимных показателей, но, тем не менее, при выписке из стационара они в большинстве случаев не достигали уровня здоровых, что свидетельствует о необходимости продолжения терапии в амбулаторных условиях.

Наиболее значимые энзимные изменения определялись у больных ОА с синовитом, что способствовало выявлению синовита даже при его субклинических проявлениях.

Наличие малых энзимных различий между узелковой и безузелковой формами, между стадиями поражения суставов, вероятно, можно объяснить тем, что эти факторы прямо не связаны с воспалительным процессом в суставах, а являются исходом предыдущих воспалительных процессов. В то же время выявленные существенные энзимные различия между ФНС-1 и ФНС-2 свидетельствуют о том, что степень ФНС, во многом, обусловлена выраженностью синовита, и энзимные различия между степенями ФНС весьма сходны с различиями между больными с синовитом и без него.

Учитывая, что наиболее тяжелое течение болезни наблюдается у больных ОА с синовитом и полиостеоартрозом, мы провели анализ изменений активности энзимов с биохимических позиций, исходя из схемы ПМ и тех ситуаций, которые могут возникать в организме при изменениях активности энзимов. Сравнительный анализ не выявил статистически значимых энзимных различий между больными с синовитом и полиостеоартрозом.

У больных ОА с синовитом в лимфоцитах выявлено снижение активности АДА на 20 %. Исходя из того, что субстратом АДА-реакции является аденозин, логично предположить, что при снижении активности АДА будет избыток субстрата — аденозина. Повышение концентрации аденозина в лимфоцитах

(по данным литературы) ведет к блокаде рибонуклеотидтрансферазы, активации аденилатциклазной системы, накоплению циклического АМФ, замедлению синтеза РНК, ДНК, что влечет за собой нарушение процессов пролиферации, дифференциации лимфоцитов и угнетению супрессорной функции лимфоцитов. Сопутствующее повышение активности АМФДА и АД, вероятно, можно считать адаптационной реакцией. Повышение активности АМФДА уводит часть АМФ с пути его превращения в аденозин, тем самым уменьшается его содержание в лимфоцитах, а повышение активности АД можно объяснить повышенной активностью нуклеозидазы [класс фермента 3.2.2.1.], переводящей избыток аденозина в аденин, который за счет АД метаболизируется в гипоксантин.

В эритроцитах нами выявлено повышение активности всех изученных энзимов, и этот феномен можно объяснить повышенным содержанием АМФ в клетках вследствие усиленного распада АТФ и изменением энергетического заряда клетки. Повышение активности энзимов направлено на снижение уровня АМФ, аденозина и аденина, и это можно считать компенсаторными реакциями.

Таким образом, проведенные исследования активности энзимов в двух биологических средах у больных ОА выявили существенные изменения активности АДА, АМФДА и АД, которые могут привести к нарушению функциональных свойств иммунокомпетентных клеток и дисрегуляции иммунных процессов.

Эти изменения энзимов не столь значительны как при ревматоидном артрите [6], но, тем не менее, могут составить один из патогенетических механизмов ОА, который необходимо учитывать в лечении больных ОА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В крови больных ОА выявлены существенные изменения активности АДА, АМФДА и АД, которые способны вызвать нарушения функциональных свойств иммунокомпетентных клеток и дискоординацию иммунных процессов.

2. Исследования активности энзимов ПМ способствуют выявлению синовита в пораженных суставах больных ОА, уточнению клинических форм, назначению адекватной терапии и объективизации контроля эффективности проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадюкин В. В. // Русский медицинский журнал. — 2006. — Т. 14, № 25. — С. 1824—1828.
2. Базоркина Д. Н., Эрдес Ш. // Научно-практическая ревматология. — 2005. — № 6. — С. 79—85.
3. Карпищенко А. Н. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. — СПб: Интермедика, 2002. — 600 с.
4. Лиля А. М. // Русский медицинский журнал. — 2007. — Т. 15, № 5. — С. 331—334.
5. Насонов Е. Л. // Consilium Medicum. — 2001. — № 9. — С. 408—415.
6. Ушакова И. С. Клинико-диагностическое значение исследования активности ферментов адениловой ветви пуринового метаболизма в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови больных ревматоидным артритом: дис. ... канд. мед. наук. — Волгоград, 2007. — 201 с.

Контактная информация

Зборовская Ирина Александровна — д. м. н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии, военно-полевой терапии с курсом клинической ревматологии ФУВ ВолГМУ, E-mail: rheuma@vlink.ru