

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ЭНЗИМОВ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

О. В. Карпова, В. А. Рыбак

ГУ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН,
кафедра нервных болезней ВолГМУ

Проведено исследование активности ксантиноксидазы, ксантиндегидрогеназы и 5'-нуклеотидазы в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови больных системной склеродермией при поступлении на лечение в стационар, через 10–12 дней лечения и по окончании курса лечения.

Выявлены значительные колебания активности данных ферментов в зависимости от степени активности патологического процесса, характера течения и стадии болезни. С увеличением активности процесса отмечалось снижение ферментативной активности в лизатах лимфоцитов и повышение ее в плазме крови.

Ключевые слова: ксантиноксидаза, ксантиндегидрогеназа, 5'-нуклеотидаза, системная склеродермия, ферментативная активность.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF INVESTIGATION OF PURINE METABOLISM ENZYME ACTIVITY IN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLERODERMA

O. V. Karpova, V. A. Rybak

Abstract. The activity of xanthine oxidase, xanthine dehydrogenase and 5'-nucleotidases in lymphocyte lysates and blood plasma was studied in 50 patients with systemic scleroderma upon admission to hospital, after 10–12 days of treatment and on completion of the inpatient care course.

Considerable changes of enzyme activity depending on the intensity of pathologic process, the nature of the clinical course and the stage of disease were clearly recognizable. As the activity of the process increased, the enzyme activity reduced in lymphocyte lysate and rose in blood plasma.

Key words: xanthine oxidase, xanthine dehydrogenase, 5'-nucleotidase, systemic scleroderma, enzyme activity.

Несмотря на то, что системная склеродермия (ССД) является относительно редким заболеванием (первичная заболеваемость в пределах 3,7–19,0 на 1 млн. населения в год), она характеризуется тяжелым, прогрессирующим и инвалидизирующим течением, поражающим преимущественно женщин в наиболее трудоспособном возрасте, значительно сокращающим длительность жизни, требующим высоких материальных затрат на лечение, и поэтому борьба с этим заболеванием является довольно значимой медико-социальной проблемой [1, 3].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Повысить качество диагностики активности патологического процесса при ССД, объективизацию контроля эффективности проводимой терапии с использованием показателей активности ферментов пуринового метаболизма: ксантиноксидазы (КО), ксантиндегидрогеназы (КДГ) и 5'-нуклеотидазы (5'-НТ).

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 50 больных ССД, из которых 46 (92 %) женщин и 4 (8 %) мужчин. Средний возраст больных – $42,1 \pm 1,37$ лет,

средняя продолжительность болезни – $6,96 \pm 0,41$ лет. Основной контингент (52 %) был представлен больными ССД с II степенью активности процесса, несколько меньше (38 %) – с I степенью, и всего 10 % больных имели высокую (III) степень активности процесса. В 50 % случаев наблюдалось хроническое течение болезни, в 42 % – подострое, и только в 8 % случаев отмечалось острое течение болезни. I стадия болезни определялась в 36 %, II стадия – в 64 % случаев.

Выделение лимфоцитов из периферической венозной крови проводилось по методике Вёуит [2] с использованием лимфосепа (Lympho separation medium) фирмы "JCN Biomedicals". Лизаты лимфоцитов готовили путем замораживания-оттаивания суспензии лимфоцитов. В лизатах лимфоцитов и плазме крови определялись активности КО по модифицированной методике Калькара [Там же], КДГ – по методике Z. Devenui et al. [5], активность 5'-НТ – по методике R. Wood, D. Williams [4]. Активность всех ферментов выражалась в нмоль/мин/мл, исходя из содержания лимфоцитов $1 \cdot 10^7$ /мл. Контрольную группу составили 35 практически здоровых людей (доноры станции переливания крови).

(21)

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

Обработка полученных результатов проводилась с использованием программного пакета «Statistica 6.0» с вычислением средней арифметической (M), ошибки средней арифметической (m), стандартного отклонения (σ), t -критерия Стьюдента. Статистически значимыми расценивались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Существенных различий показателей активности КО, КДГ, 5'-НТ в плазме и лимфоцитах здоровых людей в зависимости от пола и возраста выявлено не было.

При поступлении на лечение у больных ССД с I степенью активности процесса по сравнению со здоровыми (табл. 1) в плазме крови выявлено повышение активности 5'-НТ ($p < 0,05$), КДГ ($p < 0,001$) и тенденция к повышению активности КО ($p > 0,05$), в лимфоцитах (табл. 2) – снижение активности КО ($p < 0,001$), КДГ ($p < 0,001$) и 5'-НТ ($p < 0,05$).

В связи с тем, что среднестатистические величины отражают в основном направленность изменений активности энзимов крови, представлялось интересным сравнение индивидуальных энзимных показателей у больных со здоровыми, условную норму значение которой выражали как: $M \pm 2\sigma$.

Нами был подсчитан процент отклонений энзимных показателей больных ССД с I степенью активности от границ условной нормы. Расчеты показали, что в плазме крови активность КО была выше верхней границы нормы в 15,8 % случаев, КДГ – в 36,8 % и 5'-НТ – в 42,1 % случаев; в лимфоцитах активность КО ни у одного больного не выходила за границы нормы, но активности КДГ и 5'-НТ в 100 % случаев были меньше нижней границы здоровых лиц. В то же время у этих же больных среди общепринятых иммунобиохимических показателей процент отклонений от уровня здоровых был следующим: скорость оседания эритроцитов, фибриноген, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) – в 26,3 % случаев, антитела к н-ДНК – в 21,1 %, α -2-глобулины, сиаловые кислоты, иммуноглобулины А, АНФ – в 31,6 %, СРБ – в 36,8 %, иммуноглобулины М – в 42,1 %, G – в 47,4 % случаев.

Таблица 1

Активность КО, КДГ и 5'-НТ в плазме крови здоровых и больных ССД в процессе лечения

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	До лечения			После лечения		
			КО	КДГ	5'-НТ	КО	КДГ	5'-НТ
Здоровые	35	M m	3,44 0,10	5,23 0,12	8,76 0,17	–	–	–
ССД, I степень активности	19	M m	3,52 0,12	6,44*** 0,09	9,48* 0,21	3,45 0,07	5,38 0,11	8,82 0,14
Хроническое течение	16	M m	3,36 0,12	6,32 0,10	9,30 0,14	–	–	–
Подострое течение	3	M m	3,69*** 0,14	6,60** 0,13	9,68 0,19	–	–	–
I стадия болезни	8	M m	3,11 0,25	5,76 0,33	8,86 0,37	–	–	–
II стадия болезни	11	M m	3,93 0,23	7,12 0,29	10,1 0,34	–	–	–
ССД, II степень активности	26	M m	4,02*** 0,09	7,38*** 0,08	10,6*** 0,19	3,52 0,06	6,03 0,08	9,11 0,09
Хроническое течение	9	M m	3,61 0,11	7,30*** 0,12	10,3*** 0,22	–	–	–
Подострое течение	17	M	4,44*** 0,08	7,50*** 0,11	10,8*** 0,20	–	–	–
I стадия болезни	8	M	3,87 0,29	7,01 0,27	10,1 0,32	–	–	–
II стадия болезни	18	M	4,17 0,25	7,75 0,23	11,1 0,30	–	–	–
ССД, III степень активности	5	M	4,48 0,13	8,03 0,14	7,92 0,23	3,68 0,10	5,81 0,11	8,43 0,16
Острое течение	4	M m	4,58 0,11	8,15 0,12	8,23 0,22	–	–	–

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таблица 2

Активность КО, КДГ и 5'-НТ в лимфоцитах здоровых и больных ССД в процессе лечения

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	При поступлении			Перед выпиской		
			КО	КДГ	5'-НТ	КО	КДГ	5'-НТ
Здоровые	35	M m	19,9 0,66	32,8 0,44	38,9 0,84	–	–	–
ССД, I степень активности	19	M m	5,9*** 0,15	24,3*** 0,38	25,6* 0,26	19,6 0,12	31,1 0,19	36,2 0,33
Хроническое течение	16	M m	6,0*** 0,14	24,8*** 0,28	25,9 0,23	–	–	–
Подострое течение	3	M m	14,9* 0,03	21,4*** 0,12	24,0*** 0,43	–	–	–
I стадия болезни	8	M m	16,0 0,23	24,7 0,52	26,2 0,30	–	–	–
II стадия болезни	11	M m	14,9 0,49	23,5 0,69	24,1 0,55	–	–	–
ССД, II степень активности	26	M m	1,9*** 0,27	19,7*** 0,30	21,6*** 0,15	17,6 0,18	28,8 0,29	33,7 0,58
Хроническое течение	9	M m	3,4*** 0,26	21,1*** 0,23	22,3*** 0,15	–	–	–
Подострое течение	17	M	1,2*** 0,21	8,9*** 0,31	21,2*** 0,14	–	–	–
I стадия болезни	8	M	13,7 0,62	20,5 0,77	23,0 0,78	–	–	–
II стадия болезни	18	M	11,6 0,37	18,9 0,43	21,3 0,24	–	–	–
ССД, III степень активности	5	M	8,70 0,29	15,8 0,28	18,0 0,39	16,7 0,48	26,3 0,33	31,6 0,94
Острое течение	4	M m	8,58 0,35	15,7 0,29	17,7 0,30	–	–	–

То есть показатели активности КДГ и 5'-НТ в лимфоцитах оказались значительно более информативными в отражении минимальной активности процесса при ССД, чем все изученные клинико-биохимические показатели.

Через 10–12 дней лечения, наряду с некоторым улучшением клинического состояния больных, в плазме крови наметилась тенденция к снижению активности всех энзимов ($p > 0,05$), а в лимфоцитах повысились ранее сниженные активности всех энзимов: 5'-НТ ($p < 0,001$), КО и КДГ ($p < 0,01$).

По окончании курса стационарного лечения по сравнению с начальным этапом (см. табл. 1) в плазме снизилась активность КДГ ($p < 0,001$) и 5'-НТ ($p < 0,05$), в лимфоцитах (см. табл. 2) повысилась активность всех энзимов ($p < 0,001$). При сравнении со здоровыми отмечалась нормализация активности всех энзимов в плазме ($p > 0,05$), КО в лимфоцитах ($p > 0,05$), но активности КДГ ($p < 0,01$) и 5'-НТ ($p < 0,05$) оставались сниженными.

У больных с хроническим течением по сравнению со здоровыми в плазме (см. табл. 1) су-

щественных энзимных различий не определялось, а в лимфоцитах (см. табл. 2) была выше активность КО ($p < 0,01$) и КДГ ($p < 0,001$).

У больных с подострым течением по сравнению со здоровыми (см. табл. 1), в плазме крови выше активность КО ($p < 0,001$), КДГ ($p < 0,01$), в лимфоцитах (см. табл. 2) ниже активность КО ($p < 0,05$), КДГ и 5'-НТ ($p < 0,001$).

При хроническом течении ССД по сравнению с подострым в плазме существенных энзимных различий не выявлено, в лимфоцитах выше активность КО ($p < 0,01$) и КДГ ($p < 0,001$).

У больных с I стадией болезни по сравнению с II в плазме (см. табл. 1) ниже активность КДГ ($p < 0,01$), в лимфоцитах (см. табл. 2) выше активность 5'-НТ ($p < 0,01$).

У больных со II степенью активности процесса по сравнению со здоровыми в плазме крови (см. табл. 1) выше активность всех энзимов ($p < 0,001$), в лимфоцитах (см. табл. 2) ниже активность всех энзимов ($p < 0,001$), а по сравнению с I степенью в плазме крови выше активность КО ($p < 0,01$), КДГ и 5'-НТ ($p < 0,001$), в лимфоцитах ниже активность всех энзимов ($p < 0,001$).

(21)

Через 10–12 дней лечения по сравнению с поступлением в плазму крови снизилась активность КДГ и 5'-НТ ($p<0,01$), в лимфоцитах повысились ранее сниженные активности КДГ ($p<0,05$), КО и 5'-НТ ($p<0,001$).

По окончании курса стационарного лечения по сравнению с начальным этапом в плазме (см. табл. 1) снизилась активность всех энзимов ($p<0,001$), а в лимфоцитах (см. табл. 2) повысилась активность всех энзимов ($p<0,001$). При этом по среднестатистическим величинам в плазме нормализовались активности КО и 5'-НТ ($p>0,05$), но осталась повышенной активность КДГ ($p<0,001$), а в лимфоцитах активность всех энзимов осталась сниженной: КО ($p<0,01$), КДГ и 5'-НТ ($p<0,001$).

У больных с хроническим течением по сравнению с подострым в плазме крови ниже активность КО ($p<0,001$), в лимфоцитах выше активность всех энзимов ($p<0,001$).

У больных с I стадией болезни по сравнению со II в плазме крови существенных энзимных различий не выявлено, а в лимфоцитах выше активность КО ($p<0,01$) и 5'-НТ ($p<0,05$).

При III степени активности процесса по сравнению со здоровыми в плазме (см. табл. 1) выше активность КО и КДГ ($p<0,001$), в лимфоцитах (см. табл. 2) ниже активность всех энзимов ($p<0,001$); по сравнению со II степенью в плазме выше активность КО ($p<0,05$), ниже активность 5'-НТ ($p<0,001$), в лимфоцитах ниже активность всех энзимов ($p<0,001$); по сравнению с I степенью в плазме выше активность КО и КДГ ($p<0,001$) и ниже активность 5'-НТ ($p<0,01$), в лимфоцитах ниже активность всех энзимов ($p<0,001$).

У больных ССД со II степенью по сравнению с III степенью в плазме ниже активность КО ($p<0,05$), но выше активность 5'-НТ ($p<0,001$), в лимфоцитах выше активность всех энзимов ($p<0,001$).

Через 10–12 дней лечения по сравнению с поступлением в плазму крови наблюдалось снижение активности КО ($p<0,05$) и КДГ ($p<0,001$), в лимфоцитах произошло повышение ранее сниженных активностей всех энзимов: КДГ ($p<0,05$), КО и 5'-НТ ($p<0,001$).

По окончании курса стационарного лечения по сравнению с начальным этапом в плазме (см. табл. 1) значительно снизились активности КО и КДГ ($p<0,001$), в лимфоцитах (см. табл. 2) повысилась активность всех энзимов ($p<0,001$) и практически нормализовалась активность всех энзимов в плазме и активность КО в лимфоцитах ($p>0,05$), но осталась сниженной активность КДГ

и 5'-НТ в лимфоцитах ($p<0,001$).

Таким образом, проведенные нами исследования выявили существенные изменения активности энзимов пуринового метаболизма – КО, КДГ и 5'-НТ – как в плазме, так и в лимфоцитах больных ССД. Активность энзимов существенно зависела от степени активности патологического процесса, характера течения и стадии болезни. Чем выше была активность процесса, тем более значительно менялась активность энзимов, что способствовало дифференциации степени активности процесса при ССД. Наиболее четко отражали минимальные проявления активности процесса показатели активности КДГ и 5'-НТ в лимфоцитах крови, которые и рекомендуется определять при дифференциации стадии клинической ремиссии и активной фазы болезни. В процессе лечения больных ССД наиболее целесообразно ориентироваться на показатели активности энзимов в лимфоцитах крови, активность которых в случае положительного эффекта лечения повышается, а на приближение стадии начинающейся клинической ремиссии в комплексе с клиническими данными указывает нормализация активности КО, КДГ и 5'-НТ в плазме крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определение активности КО, КДГ и 5'-НТ в лимфоцитах и плазме крови больных ССД в комплексе с клиническими данными способствует уточнению степени активности патологического процесса, характера течения и стадии болезни, что имеет важное значение для назначения адекватной терапии.

2. Исследования активности КО, КДГ и 5'-НТ в лимфоцитах и плазме крови больных ССД в процессе лечения в комплексе с клиническими данными способствуют объективизации оценки эффективности проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базоркина Д. И., Эрдес Ш. // Науч.-практ. ревматол. – 2005. – № 6. – С. 79–85.
2. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. – СПб.: Интермедика, 2002. – 600 с.
3. Фоломеева О. М., Тарасова И. А., Дубинина Т. В. и др. // Науч.-практ. ревматол. – 2004. – № 2. – С. 4–7.
4. Подзорова Т. А. Клинико-патогенетическое значение исследования активности энзимов пуринового метаболизма у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией: дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2000. – 233 с.
5. Devenuti Z. J., Orchard J. L., Powers R. E. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 1987. – Vol. 149, № 3. – P. 841–843.