

УДК 616-002.77

ЭНЗИМЫ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ПРИ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА И ОСТЕОАРТРОЗА НА РАННИХ СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**Зборовская И.А., Мартемьянов В.Ф., Бедина С.А., Стажаров М.Ю.,
Мозговая Е.Э., Галаева О.Ю.**

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии»
Российской академии медицинских наук, Волгоград, e-mail: clinicalbiochemistry@yandex.ru*

В лизатах лимфоцитов 55 больных ревматоидным артритом (РА) с длительностью болезни не более 1 года и 57 больных остеоартрозом (ОА) с длительностью болезни до 2 лет определены активности аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА), адениндезаминазы (АД), 5'-нуклеотидазы (5'-НТ). Проведенные исследования показали, что у больных РА, по сравнению со здоровыми, в лизатах лимфоцитов выше активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и ниже активность АД. У больных ОА в лизатах лимфоцитов выше активность АД. Выявлены определенные зависимости активности ферментов в лимфоцитах в зависимости от степени активности процесса у больных РА и от синовита у больных ОА. Сравнительные исследования показали, что у больных ОА, по сравнению с больными РА, в лимфоцитах ниже активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и выше АД. Подобные энзимные различия в комплексе с клинико-инструментальными данными, учетом выхода активности ферментов за референтные пределы здоровых лиц, максимальных и минимальных величин активности ферментов способствуют дифференциации изученных нозологий на ранних стадиях болезни.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза, АМФ-дезаминаза, адениндезаминаза, 5'-нуклеотидаза, пуриновый метаболизм, лизаты лимфоцитов, ранний ревматоидный артрит, ранний остеоартроз

ENZYMES OF PURINE METABOLISM IN BLOOD LYMPHOCYTES AT THE WPPT-FERENTIAL RHEUMATOID ARTHRITIS AND OSTEOARTHRITIS AT EARLIER STAGES OF THE DISEASE

**Zborovskaya I.A., Martemyanov V.F., Bedina S.A., Stazharov M.Y.,
Mozgovaya E.E., Galaeva O.Y.**

*Federal State Budgetary Institution «Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology»
under the Russian Academy of Medical Sciences, Volgograd, e-mail: clinicalbiochemistry@yandex.ru*

In lysates of lymphocytes of 55 patients with rheumatoid arthritis (RA) with the duration of the disease is not more than 1 year and 57 patients with osteoarthritis (OA) with the duration of the disease up to 2 years to determine the activity of adenosine deaminase (ADA), AMP deaminase (AMFDA) adenindezaminazy (BP) 5'-nucleotidase (5'-NT). Studies have shown there that in patients with RA compared with healthy lymphocytes lysates higher activity of ADA AMFDA, 5'-NT activity and lower blood pressure. Patients with OA in lysates lymphocyte activity higher blood pressure. Reveals some activity relationship of enzymes in lymphocytes depending on the degree of activity of the process in RA patients and of synovitis in patients with OA. Comparative studies have shown that in patients with OA, compared to patients with RA activity in lymphocytes below ADA AMFDA, 5'-NT and higher blood pressure. Similar differences in the enzyme complex with clinical and instrumental data, taking into account the yield of enzyme activity for the reference limits of healthy individuals, the maximum and minimum values of the enzyme activity, promote differentiation Diseases studied in the early stages of the disease.

Keywords: adenosine deaminase, AMP-deaminase, adenine deaminase, 5'-nucleotidase, purine metabolism, lysates lymphocytes, early rheumatoid arthritis, early osteoarthritis

Диагностика и дифференциальная диагностика ревматоидного артрита (РА), остеоартроза (ОА) в развернутых стадиях заболеваний в клинической практике не вызывает значительных затруднений. Но дифференциация этих заболеваний на ранних стадиях болезни с длительностью до 1–2 лет представляет определенные трудности даже для опытных врачей-ревматологов из-за схожести клинических проявлений заболеваний, малой значимости рентгенологических признаков поражений суставов и других параклинических данных. Актуальность проблемы не вызывает сомнений, так как в случае неправильного диагноза неадекватная терапия негативно отража-

ется на течении болезни и ее исходе. На решение этой проблемы направлена наша работа, включающая в себя исследование активности некоторых ферментов пуринового метаболизма (ПМ): аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА), адениндезаминазы (АД), 5'-нуклеотидазы (5'-НТ) в лизатах лимфоцитов больных РА с длительностью болезни до 1 года и больных ОА с длительностью болезни до 2 лет.

Цель исследования – изучить активность АДА, АМФДА, АД и 5'-НТ в лизатах лимфоцитов больных РА с длительностью болезни до 1 года и больных ОА с длительностью болезни до 2 лет в зависимости от клинических особенностей заболеваний

и выявить энзимные различия крови, способствующие дифференциации РА и ОА на ранних стадиях заболеваний.

Материал и методы исследований

Под наблюдением находились 112 больных, из которых 55 больных РА с длительностью болезни до 1 года и 57 больных ОА с длительностью болезни до 2 лет. В дальнейшем группа больных РА будет именоваться как больные с ранним ревматоидным артритом (РРА), а больные ОА – как больные с ранним ОА (РОА). Контингент больных РРА был представлен 40 (72,7%) женщинами и 15 (27,3%) мужчинами. Средний возраст больных ($M \pm m$) – $48,1 \pm 0,4$ года, длительность болезни – $5,4 \pm 0,4$ месяца. Диагностика РРА проводилась на основании диагностических критериев Американской коллегии ревматологов (ACR) и Европейской антиревматической лиги (EULAR), исходя из 10-балльной системы, где для постановки диагноза требуется не менее 6 баллов [6, 3]. Главными критериями включения больных в исследование были: информированное согласие, возраст 19–65 лет, наличие не менее 6 баллов по критериям, предложенным ACR/EULAR [3], длительность болезни не менее 12 месяцев, не менее чем I стадия поражения суставов по Штейнброккеру [1]. В исследование не входили больные с сопутствующими внутренними болезнями, недифференцированным артритом, злокачественными новообразованиями, лица, злоупотребляющие алкоголем. Активность ревматоидного процесса оценивалась по индексу DAS-28, рекомендованному EULAR и Ассоциацией ревматологов России [4]. I степень активности процесса определялась у 12 (21,8%) больных, II степень – у 25 (45,5%) и III степень – у 18 (32,7%) больных. I стадия поражения суставов установлена у 36 (65,5%) больных, II стадия – у 19 (34,5%). Системные поражения выявлены у 6 (10,9%) больных, полиартрит – у 43 (78,2%) больных.

Контингент больных РОА был представлен 57 больными, из которых 41 (71,9%) женщина и 16 (28,1%) мужчин. Диагностика ОА проводилась на основании диагностических критериев ACR [7]. Средний возраст больных – $46,3 \pm 0,5$ лет, длительность болезни по амнестическим данным – $10,9 \pm 0,6$ месяцев. В исследование включались больные в возрасте 35–65 лет без тяжелых сопутствующих заболеваний внутренних органов. I стадия поражения суставов по Келлегрену – Лоуренсу [5] определялась у 45 (78,9%) больных, II стадия – у 12 (21,1%). Явления синовита клинически были выражены у 35 (61,4%) больных. Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей.

Выделение лимфоцитов и лимфоцитов из венозной крови проводилось по методике Boyum (1980) с использованием лимфосепа в градиенте плотности 1,075–1,077 г/л [8]. Определение активности АДА, АМФДА, АД проводилось спектрофотометрически по оригинальным методикам по количеству аммиака (азота), высвобождающегося в ходе катализируемых реакций, а активность 5'-НТ – по количеству неорганического фосфора [2]. Активность энзимов в лизатах лимфоцитов выражали в нмоль/мин/мл, содержащей 1×10^7 клеток (до лизиса).

Статистический анализ результатов проводился с использованием пакета программ «Statistica 6.0». При сравнении независимых групп использовались

параметрические (критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий Манна – Уитни, Вальда – Вольфовица) методы, зависимых групп – критерии Стьюдента и Вилкоксона. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Статистически значимых различий энзимной активности в лизатах лимфоцитов здоровых людей в зависимости от пола и возраста выявлено не было, и поэтому исследования у больных РОА и РРА проводились без учета этих факторов.

У больных РРА (всей группы), по сравнению со здоровыми, в лизатах лимфоцитов (таблица) выше активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и ниже активность АД (все $p < 0,001$). Учитывая возможное влияние активности процесса на ферментные показатели крови, нами были проведены исследования активности ферментов у больных РРА с различной степенью активности процесса. По сравнению со здоровыми, у больных РРА с I степенью активности процесса в лизатах лимфоцитов выше активность АДА, 5'-НТ и ниже АД (все $p < 0,001$), у больных РРА с II степенью в лизатах лимфоцитов выше активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и ниже АД (все $p < 0,001$); у больных РРА с III степенью в лимфоцитах выше активность АМФДА ($p < 0,001$), АД ($p < 0,05$), 5'-НТ ($p < 0,001$).

Анализ показал, что чем выше степень активности у больных РРА, тем в лимфоцитах выше активность АМФДА, 5'-НТ и ниже АДА. Между всеми степенями активности процесса выявлены статистически значимые энзимные различия. Наличие системности поражений, ревматоидного фактора, тяжелой стадии поражения суставов обуславливают в лимфоцитах более низкую активность АДА и более высокую – АМФДА, 5'-НТ и АД.

У больных РОА (всей группы), по сравнению со здоровыми, в лизатах лимфоцитов выше активность АД ($p < 0,001$). По сравнению со здоровыми, у больных РОА с синовитом в лизатах лимфоцитов выше активность 5'-НТ ($p = 0,006$), АД ($p < 0,001$); у больных РОА без синовита активность всех ферментов не имеет статистически значимых различий ($p > 0,05$). Сравнительный анализ показал, что у больных РОА (всей группы), по сравнению с больными РРА (всей группы), в лимфоцитах (таблица) ниже активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и выше – АД (все $p < 0,001$). Но, учитывая существенное влияние на ферментные показатели при РРА активности процесса, а при РОА – наличие синовита, мы провели сравнительные исследования с учетом этих факторов. Так, у больных РОА с синовитом

том, по сравнению с больными РРА с I степенью, в лимфоцитах ниже активность АДА ($p < 0,001$), 5'-НТ ($p = 0,032$), выше АД ($p < 0,001$); по сравнению с больными РРА с II степенью, в лимфоцитах ниже активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и выше активность АД (все $p < 0,001$); по сравнению с больными РРА с III степенью, в лимфоцитах выше активность АДА, ниже АМФДА,

АД, 5'-НТ (все $p < 0,001$). У больных РОА с синовитом, по сравнению с больными РРА (всей группы), в лимфоцитах ниже активность АДА, АМФДА, 5'-НТ (все $p < 0,001$). У больных РОА без синовита, по сравнению с больными РРА (всей группы), в лимфоцитах ниже активность АДА ($p = 0,003$), АМФДА ($p < 0,001$), 5'-НТ ($p < 0,001$) и выше АД ($p < 0,001$).

Таблица 1

Активность ферментов в лизатах лимфоцитов больных РРА и РОА

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД	5'-НТ
Больные РРА (вся группа)	55	М σ m Мин-Макс	53,0 8,52 1,15 34,3–64,7	3,68 0,25 0,03 3,2–4,2	1,65 0,34 0,05 1,22–2,32	42,7 3,24 0,44 37,5–50,1
РРА – I степень активности	12	М σ m	55,8 2,70 0,78	3,44 0,13 0,04	1,52 0,12 0,03	39,6 1,17 0,34
РРА – II степень активности	25	М σ m	58,8 2,88 0,58	3,60 0,12 0,02	1,39 0,12 0,03	42,6 2,80 0,56
РРА – III степень активности	18	М σ m	43,1 7,47 1,76	3,96 0,18 0,04	2,09 0,10 0,02	44,8 3,17 0,75
Больные РОА (вся группа)	57	М σ m Мин-Макс	47,5 1,53 0,20 43,8–50,9	3,26 0,18 0,02 3,0–3,7	2,27 0,26 0,03 1,72–2,66	37,3 1,70 0,23 34,0–42,0
Больные РОА с синовитом	35	М σ m	48,0 1,57 0,27	3,33 0,19 0,03	2,43 0,12 0,02	37,8 1,75 0,30
Больные РОА без синовита	22	М σ m	46,8 1,13 0,24	3,15 0,12 0,03	2,00 0,18 0,04	36,6 1,34 0,28
Здоровые	30	М σ m М-2σ М + 2σ	46,4 4,68 0,85 37,0 55,8	3,24 0,49 0,09 2,26 4,22	1,95 0,26 0,05 1,43 2,47	36,6 1,63 0,30 33,3 39,9

Таким образом, проведенные исследования выявили достаточно много энзимных различий между больными РРА и РОА с учетом и без учета клинических особенностей заболеваний. Однако среднестатистические величины дают лишь общее представление об изменениях активности ферментов – на основании их трудно дифференцировать заболевания у конкретного больного. Проблему несколько облегчает ориентировка на показатели активности, выходящие за референтные величины ($M \pm 2\sigma$) здоровых людей. Так, у больных РРА в лимфоцитах за верхние референтные пределы (условную норму) выходят показатели активности АДА в 63,3% случаев, 5'-НТ в 74,5%, за нижние – АД в 40% случаев. У больных

РОА в лимфоцитах за верхние границы выходят только показатели активности АД в 40% случаев, 5'-НТ в 10,5%. Дифференциально-диагностический комплекс энзимных различий нозологий существенно может дополнить учет максимальных и минимальных величин активности ферментов, полученных нами в результате исследований (табл. 2).

Результаты проведенных исследований показали, что на ранних стадиях РА и ОА, помимо общих клинических проявлений, особенно при нетипичном развитии заболеваний, имеется и много общего в изменениях активности ферментов пуринового метаболизма. Как при РРА, так и при РОА активность изученных ферментов

в большинстве случаев меняется в одном направлении – в сторону повышения. При РРА изменения активности в количественном аспекте выраженнее, чем при РОА; исключением стала лишь активность АД в лимфоцитах у больных РРА, где в 40 % случаях она оказалась ниже, а у больных РОА – выше (28,1 %), чем у здоровых ($p < 0,001$). Объяснить подобную ситуацию можно патогенетическими особенностями рассматриваемых заболеваний: если при РА в патогенезе принимают участие иммунные, воспалительные и, в меньшей степени, дегенеративные процессы, то при ОА патогенетические механизмы включают в себя метаболические нарушения в первую очередь, во-вторую – воспалительные процессы и, возможно, иммунные нарушения (выраженность которых значительно меньше, чем при РА). Учитывая, что ферменты – весьма

чувствительный индикатор метаболических процессов, можно понять причины более выраженных энзимных изменений при РА по сравнению с ОА. Выявленные энзимные различия можно использовать в дифференциации РРА и РОА только в случаях исключения иных ревматических заболеваний суставов. Таким образом, анализируя результаты исследований, учитывая выход показателей активности за референтные пределы здоровых людей, максимальные и минимальные величины, за диагноз РРА будут свидетельствовать: в лизатах лимфоцитов – выход за верхние границы условной нормы ($M \pm 2\sigma$) показателей активности АДА и/или 5'-НТ, за нижние границы активности АД и/или активность АДА выше 51 нмоль/мин/мл, АМФДА выше 3,7 нмоль/мин/мл, 5'-НТ (выше 42 нмоль/мин/мл), активность АД ниже 1,7 нмоль/мин/мл.

Таблица 2

Выход за референтные пределы (в %) активности энзимов в лимфоцитах больных РРА и РОА, минимальные и максимальные величины активности энзимов

Контингент	Энзимы	Выход за верхние границы, $M + 2\sigma$ (%)	Выход за нижние границы, $M - 2\sigma$ (%)	Минимальные величины активности энзимов, нмоль/мин/мл	Максимальные величины активности энзимов, нмоль/мин/мл
Больные РРА (55)	АДА	63,6	–	34,3	64,7
	АМФДА	–	–	3,2	4,2
	АД	–	40	1,22	2,32
	5'-НТ	74,5	–	37,5	50,1
Больные РОА (57)	АДА	–	–	43,8	50,9
	АМФДА	–	–	3,0	3,7
	АД	28,1	–	1,72	2,66
	5'-НТ	10,5	–	34,0	42,0

За диагноз РОА будут свидетельствовать следующие данные. В лизатах лимфоцитов – показатели активности АДА, АМФДА в пределах условной нормы, выход за верхние границы нормы активности АД и/или активность АМФДА ниже 3,2 нмоль/мин/мл, 5'-НТ ниже 37,5 нмоль/мин/мл, АД выше 2,32 нмоль/мин/мл. Для дифференциации РРА и РОА необязателен весь комплекс изменений энзимной активности, характерный для того или иного заболевания – достаточно 2–3 показателей в комплексе с клинико-инструментальными данными. Но все-таки чем больше выявленных энзимных различий, свойственных РРА и РОА, тем выше степень достоверности диагноза заболевания.

Выводы

1. У больных с ранним остеоартрозом, по сравнению с больными ранним ревма-

тоидным артритом, в лизатах лимфоцитов ниже активность АДА, АМФДА, 5'-НТ и выше активность АД.

2. При дифференциации РРА и РОА целесообразно ориентироваться на величины активности ферментов, выходящих за референтные пределы здоровых лиц и на максимальные и минимальные величины активности ферментов, полученных нами у больных в процессе исследований.

Список литературы

1. Болезни суставов: руководство для врачей / под ред. В.И. Мазурова. – СПб.: СпецЛит, 2008. – С. 394–397.
2. 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.
3. Каратеев Д.Е., Олюнин Ю.А., Лучихина Е.Л. Новые классификационные критерии ревматоидного артрита ACR/

EULAR 2010 – шаг вперед к ранней диагностике // Научно-практическая ревматология. – 2011. – № 1. – С. 10–15.

4. Ревматология: Клинические рекомендации / под ред. акад. РАМН Е.Л. Насонова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – С. 177–178.

5. Ревматология: Клинические рекомендации / под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 79–85.

6. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J., Naden R.L., Felson D.T., Aggarwal R., et al. Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology // European League Against Rheumatism collaborative initiative // *Ann. Rheum. Dis.* – 2010. – № 69. – P. 1580–1588.

7. 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.

8. Boyum A. // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21. – Suppl. 97 (Paper IV) – P. 77–89.

References

1. Bolezni sustavov: Rukovodstvo dlya vrachey / Pod red. Mazurova V.I. SpB.: Spets. Lit, 2008, pp. 394–397.

2. Devyataeva N.M. Kliniko-dagnosticheskoe znachenie issledovanie aktivnosti 5'-nucleotidazy, AMF-deaminazy, adenozindezaminazy, adenindezaminidy v lizatah limfocitov, jeritrocitov i plazme krovi bol'nyh sistemnoj krasnoy volchankoy: dis...kand. med. nauk. Volgograd, 2005. 226 p.

3. Karateev D.E., Olyunin Yu.A., Luchikhina E.L. Novye klassifikatsionnye kriterii revmatoidnogo artrita ACR/EULAR 2010 – shag vpered k ranney diagnostike // *Nauahno-prakticheskaya revmatologiya.* 2011, no. 1. pp. 10–15.

4. *Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii* / Pod red. Akad. RAMN E.L. Nasonova. 2-e izd., ispr. i dop. M.:GEOTAR-Media, 2011. pp. 177–178.

5. *Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii* / Pod red. Akad. RAMN E.L. Nasonova, V.A. nasonovoy. M.: GEOTAR-Media, 2010. pp. 79–85.

6. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J., Naden R.L., Felson D.T., Aggarwal R., et al. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, no. 69, pp. 1580–1588.

7. Altman R., Alarson G., Appelrouth D. et al. *Arthritis Rheum*, 1991, Vol. 34, pp. 505–514.

8. Boyum A. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, Vol. 21, Suppl. 97 (Paper IV), pp. 77–89.

Рецензенты:

Александров А.В., д.м.н., зав. лабораторией функциональных методов исследования, ультразвуковой диагностики и восстановительной терапии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии» Российской академии медицинских наук, г. Волгоград;

Заводовский Б.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией методов лечения и профилактики заболеваний суставов, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии» Российской академии медицинских наук, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 11.09.2014.