УДК 616-002.77

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

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

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

В лизатах эритроцитов 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 эритроцитов выше активность всех ферментов; у больных ОА в лизатах эритроцитов выше активность АДА, АМФДА, АД. Выявлены определенные зависимости активности ферментов в эритроцитах 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 эритроцитах ниже активность всех ферментов. 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 эритроцитов, ранний ревматоидный артрит, ранний остеоартроз

ENZYMES OF PURINE METABOLISM IN ERYTHROCYTES DURING DIFFERENTIATION OF RHEUMATOID ARTHRITIS AND OSTEOARTHRITIS IN THE EARLY STAGES OF THE DISEASE

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

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

In lysates of red blood cells of 55 patients with rheumatoid arthritis (RA) with disease duration less 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 (AD), 5 ‘-nucleotidase (5’-NT). Studies have shown that in patients with RA compared with healthy, in lysates of erythrocytes above the activity of all enzymes; OA patients in lysates of erythrocytes above activity ADSs AMFDA, BP. Reveals some dependence of enzyme activity in red blood cells, depending on the degree-or process activity in patients with RA and of synovitis in patients with OA. Comparative studies have shown that in patients with OA, compared to patients with RA, in red blood cells below the activity of all enzymes. Similar differences in the enzyme complex with clinical and instrumental data, taking into account the yield of enzyme activity in the reference limits of healthy individuals, the maximum and E is minimal quantities of enzyme activity, promote differentiation studied nosology in the early stages of the disease.

Keywords: adenozindezaminaza, CORP-dezaminaza, adenindezaminaza, 5-nucleotidase´, purine metabolism, red blood cell lizaty, early rheumatoid arthritis, osteoarthritis

Проблема дифференциации ревматоидного артрита (РА) и остеоартроза (ОА) на ранних стадиях заболеваний является весьма актуальной. Сложность решения проблемы объясняется сходными клиническими проявлениями заболеваний и малой значимостью общепринятых параклинических показателей на этих стадиях. Поэтому поиск новых параклинических показателей, способствующих дифференциации ОА и РА на ранних стадиях заболеваний, является актуальной задачей в ревматологии. Исходя их этого, мы считаем исследования активности ферментов, являющихся чувствительными индикаторами воспалительных и метаболических процессов, перспективным направлением в решении этой задачи. В нашей работе мы провели исследование активности некоторых ферментов пуринового метаболизма (ПМ): аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА), адениндезаминазы (АД), 5´-нуклеотидазы (5´-НТ) в лизатах эритроцитов больных на ранних стадиях заболеваний и оценили возможность использования этих показателей в дифференциации РА и ОА.

Цель исследования – изучить активность АДА, АМФДА, АД и 5´-НТ в лизатах эритроцитов 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 исследования

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), 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 ± m) – 48,1 ± 0,4 года, длительность болезни – 5,4 ± 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 [3, 6]. 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 ± 0,5 лет, длительность болезни по амнестическим данным – 10,9 ± 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 эритроцитов из венозной крови проводилось по методике Boyum (1980) с использованием лимфосепа в градиенте плотности 1,075–1077 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 эритроцитах – в нмоль/мин/мл, содержащей 1×10^9 клеток.

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 эритроцитов 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 эритроцитов (табл. 1) выше активность всех ферментов (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 эритроцитов выше активность АДА, АМФДА (все $p < 0,001$), 5´-НТ ($p < 0,01$), ниже АД ($p < 0,001$); у больных РРА с II степенью в эритроцитах выше активность АМФДА, ($p < 0,001$); у больных РРА с III степенью в эритроцитах выше активность АД, АМФДА, 5´-НТ и ниже активность АДА (все $p < 0,001$).

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

У больных РОА (всей группы), по сравнению со здоровыми, в эритроцитах выше активность АДА ($p = 0,004$), АМФДА ($p = 0,038$), АД ($p = 0,037$). По сравнению со здоровыми, у больных РОА с синовитом в эритроцитах выше активность всех ферментов: АДА ($p<0,001$), АМФДА ($p = 0,005$), АД ($p < 0,001$), 5´-НТ ($p = 0,048$); 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 эритроцитах ниже активность всех ферментов ($p < 0,001$). Но, учитывая существенное влияние на ферментные показатели при РРА активности процесса, а при РОА – наличие синовита, мы провели срав-

нительные исследования с учетом этих факторов. Так, у больных РОА с синовитом, по сравнению с больными РРА с II степенью, в эритроцитах ниже активность всех ферментов ($p < 0,001$). У больных РОА с синовитом, по сравнению с больными РРА (всей группы), в эритроцитах – ниже активность всех ферментов АДА (все $p < 0,001$).

Таблица 1

Активность ферментов в лизатах эритроцитов больных РРА и РОА

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД	5´-НТ
Больные РРА (вся группа)	55	M G m Мин-Макс	42,5 9,65 1,30 26,8–58,3	39,0 8,12 1,09 27,5–55,9	19,0 6,18 0,83 8,8–23,7	48,5 5,42 0,73 38,0–60,0
РРА – I степень активности	12	M G m	54,3 2,98 0,86	29,9 1,53 0,44	9,53 0,49 0,14	43,2 3,19 0,92
РРА – II степень активности	25	M G m	45,3 4,12 0,82	36,0 2,33 0,47	18,7 1,72 0,34	47,2 3,72 0,74
РРА – III степень активности	18	M G m	30,6 2,35 0,55	49,1 4,59 1,08	25,9 1,72 0,41	53,7 4,06 0,96
Больные РОА (вся группа)	57	M G m Мин-Макс	37,3 1,53 0,20 34,5–41,3	23,6 1,14 0,15 21,5–26,0	13,6 1,03 0,14 11,5–15,7	40,5 1,96 0,26 37,0–45,0
Больные РОА с синовитом	35	M G m	37,9 1,66 0,28	24,1 1,19 0,20	14,2 0,77 0,13	41,2 1,88 0,32
Больные РОА без синовита	22	M G m	36,5 0,71 0,15	23,0 0,67 0,14	12,7 0,70 0,15	39,4 1,56 0,33
Здоровые	30	M G m M + 2G	35,9 2,75 0,50 38,4–41,4	22,5 2,92 0,53 16,7–28,3	12,9 1,20 0,22 10,5–15,3	39,6 3,94 0,72 31,7–47,5

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 ($M \pm 2G$) здоровых людей. Так, у больных РРА в эритроцитах за верхние референтные пределы (условную норму) выходят показатели активности АДА (в 61,8 %), АМФДА (в 94,5 %), АД (в 78,2 %), 5´-НТ (в 61,8 %) случаев, за нижние границы выходят показатели активности АДА (в 18,2 %), АД (в 21,8 %) случаев. У больных РОА в эритроцитах за верхние границы выходят только показатели активности АД (в 5,3 % случаев), а за нижние не выходит ни один показатель. 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. 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 эритроцитов – выход за верхние границы нормы активности АДА и/или АМФДА, 5´-НТ, за нижние границы – активности АДА, АД и/или активность АДА выше 41,3 нмоль/мин/мл, АМФДА – выше 26,0, АД – выше 15,7, 5´-НТ – выше 45 нмоль/мин/мл.

Таблица 2

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

Контингент	Энзимы	Выход за верхние границы, M + 2G (%)	Выход за нижние границы, M – 2G (%)	Минимальные величины активности энзимов, нмоль/мин/мл	Максимальные величины активности энзимов, нмоль/мин/мл
Больные РРА (55)	АДА	61,8	18,2	26,8	58,3
	АМФДА	94,5	–	27,5	55,9
	АД	78,2	21,8	8,8	23,7
	5´-НТ	81,8	–	38,0	60,0
Больные РОА (57)	АДА	–	–	34,5	41,3
	АМФДА	–	–	21,5	26,0
	АД	5,3	–	11,5	15,7
	5´-НТ	–	–	37,0	45,0

За диагноз РОА будут свидетельствовать следующие данные. В лизатах эритроцитов – показатели активности АДА, АМФДА, 5´-НТ в пределах нормы, выход за верхние границы активности АД и/или активность АМФДА менее 27,5 нмоль/мин/мл, 5´-НТ ниже 38 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 ревматоидным артритом, в лизатах эритроцитов ниже активность АДА, АМФДА, 5´-НТ и 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.: Спец.Лит, 2008. – С. 394–397.

2. Девятаева Н.М. Клинико-диагностическое значение исследование 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-diagnosticheskoe znachenie issledovanie aktivnosti 5’-nucleotidazy, AMF-dezaminazy, adenozindezaminazy, adenindezamindy 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 «НИИ КиЭР» РАМН, г. Волгоград;

Заводовский Б.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией методов лечения и профилактики заболеваний суставов, ФГБУ «НИИ КиЭР» РАМН, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 04.09.2014.