

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

*ФГБУ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной
ревматологии Российской академии медицинских наук,
г. Волгоград, Россия*

ЭНЗИМОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОЦИТОВ И ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ НА РАННЕЙ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Аннотация. У 57 больных остеоартрозом (ОА) с длительностью болезни от 3 до 23 месяцев в лизатах лимфоцитов и эритроцитов определялась активность аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФДА), адениндезаминазы (АД) и 5'-нуклеотидазы (5'-НТ). Показано, что наличие синовита в суставах вызывает при полиостеоартрозе повышение активности 5'-НТ и АД в лимфоцитах, в эритроцитах повышение активности всех ферментов. Чем больше стадия поражения суставов, тем в лимфоцитах ниже активность АДА и выше активность АМФДА, АД и 5'-НТ, в эритроцитах выше активность всех ферментов. Определение активности АДА, АМФДА, АД и 5'-НТ может способствовать раннему выявлению фазы обострения при ОА.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза, АМФ-дезаминаза, адениндезаминаза, 5'-нуклеотидаза, лизаты лимфоцитов, лизаты эритроцитов, остеоартроз.

© I. Zborovskaya, S. Bedina, O. Galaeva, V. Martemyanov,
E. Mozgovaya, M. Stazharov

*Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology
of the Russian Academy of Medical Sciences*

Volgograd, Russia

ENZYMOLOGICAL FEATURES OF LYMPHOCYTES AND ERYTHROCYTES IN OSTEOARTHRITIS PATIENTS IN THE EARLY STAGE OF THE DISEASE

Abstract. The activities of adenosine deaminase (ADA), AMP-deaminase (AMPDA) adenindezaminase (AD) and 5'-nucleotidase (5'-NT) were determined in lysates of lymphocytes and erythrocytes of 57 osteoarthritis (OA) patients with the disease duration from 3 to 23 months. Poliosteoarthritis with synovitis is accompanied by the increased activity of 5'-NT and AD in lymphocytes, increased activity of all enzymes in erythrocytes. The increase of the joint damage stage is characterized by the decrease of ADA activity, increase of AMFDA, AD, 5'-NT activity in lymphocytes and increased activity of all enzymes in erythrocytes. It is shown that determination of ADA, AMFDA, AD, 5'-NT activities promotes the early identification of acute phase in OA.

Key words: adenosine, AMP-deaminase, adenindezaminaza, 5'-nucleotidase, lysates of lymphocytes, lysates of erythrocytes, osteoarthritis.

Введение. Среди ревматических заболеваний суставов остеоартроз (ОА) является наиболее распространенным, поражающим до 20-30% населения земного шара [1, 8]. Это заболевание характеризуется хроническим течением с прогрессирующей деструкцией суставов и является одной из основных причин потери трудоспособности, уступая в этом только ишемической болезни сердца [4, 7]. Недостаточная эффективность лечения больных ОА во многом обусловлена запоздалым обращением больных за медицинской помощью, что связано с клиническими особенностями болезни, которая на начальных стадиях проявляется кратковременными болями в суставах, проходящими после ходьбы или других физических нагрузок, или появлением болей в нижних конечностях после длительной ходьбы и проходящими после отдыха, что воспринимается больными как естественное явление вследствие возрастных проявлений, а не как повод для обращения к врачу. Поэтому чаще всего больные обращаются к врачу уже на стадии имеющих деструктивных изменений в суставах, и лечение в подобных случаях не всегда достигает желаемого эффекта. Исходя из этого, проблема диагностики ОА на ранних стадиях болезни является весьма актуальной. К сожалению, работ по диагностике раннего остеоартроза (РОА) недостаточно, и имеется мало сведений об иммунобиохимических изменениях крови на ранних стадиях болезни, что затрудняет как понимание начальных механизмов патогенеза ОА, так и назначение адекватной терапии [2, 5]. В патогенезе ОА большое значение придается метаболическим нарушениям, и в нашей работе были предприняты исследования активности энзимов пуринового метаболизма: аденозиндезаминазы (АДА), адениндезаминазы (АД), АМФ-дезаминазы (АМФДА) и 5'-нуклеотидазы (5'-НТ) в лизатах лимфоцитов и эритроцитов у больных ОА с длительностью болезни от 3 до 23 месяцев.

Цель: изучение особенностей активности АДА, АМФДА, АД и 5'-НТ в лизатах лимфоцитов и эритроцитов больных ОА на ранней стадии болезни.

В задачи исследования входило также изучение активности этих энзимов в зависимости от клинических особенностей заболевания и его длительности.

Материал и методы. Под наблюдением находились 57 больных первичным ОА с длительностью заболевания не более 2-х лет. Верификация диагноза проводилась на основании диагностических критериев Американской коллегии ревматологов и предложенной ими классификации [9]. В исследование включались лица в возрасте от 35 до 65 лет с жалобами на боли в суставах, крепитацию в них, утреннюю скованность не более 30 минут, I-II стадиями поражения суставов по Келгрону и Лоуренсу и другими признаками ОА, соответствующими диагностическим критериям АРА и с длительностью болевого суставного синдрома не более двух лет. В исследование не включались больные ОА с тяжелыми сопутствующими заболеваниями внутренних органов с функциональными нарушениями, беременные, злоупотребляющие алкоголем, с предшествующими травмами суставов, с эндокринной патологией. Длительность заболевания оценивалась по анамнестическим данным и записям в амбулаторных картах.

Контингент больных был представлен 41 (71,9%) женщиной и 16 (28,1%) мужчинами. Средний возраст больных – $46,3 \pm 0,5$ ($\sigma=4,0$) лет, медиана – 46,0 лет. Продолжительность заболевания – от 3 до 23 месяцев: $10,9 \pm 0,64$ ($\sigma=4,85$), медиана – 10 месяцев. Явления синовита клинически были выражены у 35 (61,4%) больных. I стадия поражения суставов выявлена у 45 (78,9%), II стадия – у 12 (21,1%) больных. Функциональный класс (ФК) суставов 1 степени определялся у 35 (61,4%), ФК 2 степени – у 22 (38,6%) больных. Локальный (моно- олигоартроз) установлен у 22 (38,6%) больных, генерализованный – у 35 (61,4%) больных. Наиболее часто поражались коленные суставы (87,7%), суставы кистей (57,9%), тазобедренные (47,4%), локтевые (15,8%), суставы стоп (14%).

В зависимости от длительности болезни были сформированы 2 группы больных: 1-я группа – 37 больных с длительностью болезни 3-11 месяцев ($7,0 \pm 0,5$ мес.), 2-я группа – 20 больных с длительностью болезни 12-23 месяцев ($16,3 \pm 0,8$ мес.).

Выделение лимфоцитов и эритроцитов из венозной крови проводилось по методике Woym (1980) [6]. 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 высвобождающегося неорганического фосфора в ходе реакции. Все эти методы подробно описаны в работе Н.М. Девятаевой [3].

Активность энзимов в лимфоцитах выражали в нмоль/мин/мл, содержащий 1×10^7 клеток, в эритроцитах в нмоль/мин/мл, содержащий 1×10^9 клеток.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программы «STATISTICA 6.0». При сравнении независимых групп использовались параметрические (критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий Манна-Уитни) методы, зависимых групп – критерии Стьюдента и Вилкоксона. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. По сравнению со здоровыми у больных РОА (всей группы) в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АД ($p < 0,001$), незначительно выше активность 5'-НТ ($p = 0,058$), АДА ($p = 0,061$) и АМФДА ($p = 0,093$), в эритроцитах (табл. 2) выше активность АДА ($p = 0,004$), АМФДА ($p = 0,038$), АД ($p = 0,037$) и незначительно выше 5'-НТ ($p = 0,074$). Если же учитывать не среднестатистические величины активности энзимов, а индивидуальные энзимные показатели, то за верхние референтные пределы здоровых лиц в лимфоцитах выходят только

показатели активности АД в 28,1% случаев и 5'-НТ в 10,5% случаев, а в эритроцитах – показатели активности АД в 5,3% случаев.

У больных с генерализованной формой ОА по сравнению со здоровыми в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АД ($p < 0,001$), 5'-НТ ($p = 0,004$), незначительно выше активность АДА ($p = 0,085$) и АМФДА ($p = 0,073$), в эритроцитах (табл. 2) выше активность АДА ($p < 0,001$), АМФДА ($p = 0,038$), АД ($p < 0,001$) и 5'-НТ ($p = 0,038$). У больных с локальным ОА в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АДА ($p = 0,046$), изменения активности других энзимов незначительны ($p > 0,05$), в эритроцитах (табл. 2) статистически значимых энзимных различий не определяется ($p > 0,05$).

У больных с генерализованной формой РОА по сравнению с локальной формой в лимфоцитах выше активности АМФДА, АД, 5'-НТ и ниже активность АДА (все $p < 0,001$), в эритроцитах выше активность всех ферментов ($p < 0,001$).

У больных РОА с I стадией по сравнению с больными РОА с II стадией, в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АДА ($p < 0,001$), ниже активность АМФДА ($p < 0,001$), АД ($p = 0,045$) и 5'-НТ ($p < 0,001$), в эритроцитах (табл. 2) ниже активность всех ферментов: АДА, АМФДА, 5'-НТ (все $p < 0,001$) и АД ($p = 0,004$).

У больных с ФК-1 по сравнению с больными с ФК-2 в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АДА ($p < 0,001$), ниже активность АМФДА, АД и 5'-НТ (все $p < 0,001$), в эритроцитах (табл. 2) ниже активность всех ферментов: АДА, АД, 5'-НТ (все $p < 0,001$) и АМФДА ($p = 0,005$).

Далее нами был проведен анализ энзимной активности крови у больных РОА в зависимости от длительности болезни. У больных 1-ой группы (3-11 мес.) по сравнению со здоровыми в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АДА ($p = 0,046$), АД ($p < 0,001$), 5'-НТ ($p = 0,004$) и незначительно выше АМФДА ($p = 0,058$), в эритроцитах (табл. 2) выше активность АДА

($p=0,002$), АМФДА ($p=0,006$), АД ($p<0,001$) и незначительно выше активность 5'-НТ ($p=0,053$).

Таблица 1

Энзимные показатели в лизатах лимфоцитов у больных РОА

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД	5'-НТ
Здоровые	30	М	46,4	3,24	1,95	36,6
		σ	4,68	0,49	0,26	1,63
		m	0,85	0,09	0,05	0,30
Больные РОА, вся группа	57	М	47,5	3,26	2,27	37,3
		σ	1,53	0,18	0,26	1,70
		m	0,20	0,02	0,03	0,23
РОА, синовит	35	М	48,0	3,33	2,43	37,8
		σ	1,57	0,19	0,12	1,75
		m	0,27	0,03	0,02	0,30
РОА, без синовита	22	М	46,8	3,15	2,00	36,6
		σ	1,13	0,12	0,18	1,34
		m	0,24	0,03	0,04	0,28
РОА, длительность 3-11 месяцев (1-я группа)	37	М	48,2	3,40	2,30	37,8
		σ	1,39	0,17	0,25	1,57
		m	0,23	0,04	0,04	0,26
РОА, длительность 12-23 месяцев (2-я группа)	20	М	46,4	3,22	2,20	36,4
		σ	1,07	0,16	0,26	1,60
		m	0,24	0,04	0,06	0,36
РОА, стадия I	45	М	48,0	3,21	2,22	36,8
		σ	1,29	0,15	0,25	1,38
		m	0,19	0,02	0,04	0,21
РОА, стадия II	12	М	45,8	3,46	2,44	39,0
		σ	0,94	0,17	0,19	1,76
		m	0,27	0,05	0,05	0,51
РОА, ФК-1	35	М	48,2	3,18	2,16	36,6
		σ	1,37	0,15	0,25	1,44
		m	0,23	0,03	0,04	0,24
РОА, ФК-2	22	М	46,5	3,39	2,44	38,4
		σ	1,17	0,16	0,14	1,56
		m	0,25	0,03	0,03	0,33
РОА, локальная форма	22	М	48,7	3,13	2,07	36,4
		σ	1,33	0,12	0,26	1,34
		m	0,28	0,02	0,05	0,28
РОА, генерализованная форма	35	М	46,8	3,35	2,39	37,9
		σ	1,17	0,17	0,16	1,65
		m	0,20	0,03	0,03	0,28

Таблица 2

Энзимные показатели в лизатах эритроцитов у больных РОА

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	АДА	АМФДА	АД	5'-НТ
Здоровые	30	М	35,9	22,5	12,9	39,6
		σ	2,75	2,92	1,20	3,04
		m	0,50	0,53	0,22	0,72
Больные РОА, вся группа	57	М	37,3	23,6	13,6	40,5
		σ	1,53	1,14	1,03	1,96
		m	0,20	0,15	0,14	0,26
РОА, синовит	35	М	37,9	24,1	14,2	41,2
		σ	1,66	1,19	0,77	1,88
		m	0,28	0,20	0,13	0,32
РОА, без синовита	22	М	36,5	23,0	12,7	39,4
		σ	0,71	0,67	0,70	1,56
		m	0,15	0,14	0,15	0,33
РОА, длительность 3-11 месяцев (1-я группа)	37	М	37,7	24,0	13,9	41,0
		σ	1,59	1,14	0,96	1,97
		m	0,26	0,19	0,16	0,32
РОА, длительность 12-23 месяцев (2-я группа)	20	М	36,7	23,1	13,1	39,8
		σ	1,22	0,91	0,96	1,74
		m	0,27	0,20	0,21	0,39
РОА, стадия I	45	М	36,9	23,4	13,4	40,0
		σ	1,27	0,98	0,88	1,69
		m	0,19	0,15	0,13	0,25
РОА, стадия II	12	М	38,8	24,7	14,4	42,6
		σ	1,62	1,16	1,18	1,56
		m	0,47	0,34	0,34	0,45
РОА, ФК-1	35	М	36,6	23,3	13,3	39,6
		σ	1,14	0,99	0,97	1,65
		m	0,19	0,17	0,16	0,28
РОА, ФК-2	22	М	38,4	24,2	14,2	42,0
		σ	1,43	1,16	0,91	1,48
		m	0,31	0,25	0,19	0,32
РОА, локальная форма	22	М	36,2	22,9	12,9	39,0
		σ	0,72	0,84	0,78	1,11
		m	0,15	0,18	0,17	0,24
РОА, генерализованная форма	35	М	38,0	24,0	14,1	41,5
		σ	1,50	1,04	0,91	1,77
		m	0,25	0,18	0,15	0,30

У больных 2-ой группы (12-23 мес.) по сравнению со здоровыми в лимфоцитах (табл. 1) выше активность АД ($p=0,004$), незначительно ниже активность 5'-НТ ($p=0,093$), АМФДА ($p=0,094$) и совсем нет различий по

АДА, в эритроцитах (табл. 2) статистически значимых энзимных различий не определяется: незначительно выше активности АДА ($p=0,074$), АМФДА ($p=0,078$), АД ($p=0,088$) и 5'-НТ ($p=0,096$).

Сравнительный анализ показал, что у больных 2-й группы по сравнению с больными 1-й группы в лимфоцитах ниже активность АДА ($p<0,001$), АМФДА ($p=0,006$), АД ($p=0,067$) и 5'-НТ ($p=0,003$), в эритроцитах также ниже активность всех ферментов: АДА ($p=0,034$), АМФДА ($p=0,005$), АД ($p=0,005$) и 5'-НТ ($p=0,041$).

У больных РОА с синовитом по сравнению со здоровыми в лимфоцитах (табл. 1) выше активность 5'-НТ ($p=0,006$), АД ($p<0,001$), незначительно выше АДА ($p=0,051$) и АМФДА ($p=0,077$), в эритроцитах (табл. 2) выше активность всех энзимов: АДА ($p<0,001$), АМФДА ($p=0,005$), АД ($p<0,001$) и 5'-НТ ($p=0,048$). За референтные пределы здоровых лиц в лимфоцитах выходили только показатели АД в 45,7% случаев и 5'-НТ в 17,1% случаев, а в эритроцитах – только показатели активности АД в 8,6% случаев.

У больных РОА без синовита по сравнению со здоровыми в лимфоцитах и эритроцитах статистически значимых энзимных различий не выявлено: в лимфоцитах незначительно выше активность АДА ($p=0,096$), АД ($p=0,095$), несколько ниже активность АМФДА ($p=0,083$) и совсем нет различий по 5'-НТ, в эритроцитах незначительно выше активность АДА ($p=0,073$), АМФДА ($p=0,083$), несколько ниже АД ($p=0,085$) и 5'-НТ ($p=0,098$).

Сравнительный анализ показал, что у больных РОА с синовитом по сравнению с больными РОА без синовита в лимфоцитах выше активность всех ферментов: АДА ($p=0,003$), АМФДА ($p<0,001$), АД ($p<0,001$) и 5'-НТ ($p=0,005$), в эритроцитах также выше активность всех ферментов ($p<0,001$).

Выводы и рекомендации

Проведенные исследования показали, что уже на ранних стадиях болезни (с продолжительностью до 1 года) при ОА выявлены существенные нарушения пуринового метаболизма, наиболее выраженные при наличии синовита. Но уже по истечении второго года болезни, активность большинства энзимов снижается как в лимфоцитах, так и в эритроцитах. Возможно, это связано с хронизацией болезни и меньшей выраженностью воспалительных проявлений в суставах.

Показано, что чем больше стадия поражения и ФК суставов, тем в лимфоцитах ниже активность АДА и выше АМФДА, АД и 5'-НТ, а в эритроцитах выше активность всех энзимов. Наибольшее влияние на активность энзимов в клетках крови оказывает наличие синовита в пораженных суставах.

Изученные энзимы не являются специфическими для ОА, но они оказываются достаточно чувствительными в отражении воспалительного процесса в суставах, и в комплексе с клинико-инструментальными данными могут способствовать раннему выявлению фазы обострения при ОА.

Список литературы:

1. *Алексеева Л.И.* Остеоартроз: диагностика и лечение // Саратовский научно-медицинский вестник. – 2003. – № 2. – С. 16–24.
2. *Бадюкин В.В.* Пути оптимизации терапии остеоартроза // Русский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14, № 25. – С. 1824–1828.
3. *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.
4. *Лула А.М.* Современные аспекты диагностики и лечения остеоартроза // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т. 15, № 5. – С. 331-334.

5. *Лучихина Л.В.* Артроз, ранняя диагностика и патогенетическая терапия. – М.: НПО «Медицинская энциклопедия» РАМН, ЗАО «ШИКО», 2001. – 168 с.
6. Медицинские лабораторные технологии: справочник / Под ред. *А.И. Карпищенко*. – СПб.: Интермедика, 2002. – С. 204–208.
7. *Чичасова Н.В.* Патогенетическое лечение остеоартроза // *Consilium Medicum*. – 2007. – Т. 9, № 8. – С. 112–117.
8. *Шостак Н.А.* Остеоартроз: основы терапии // *Consilium Medicum*. 2007. – Т. 9, № 8. – С. 108–111.
9. *Altman R., Alarcon G., Appelrouth D. et al.* The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hip // *Arthritis Rheum.* – 1991. – Vol. 34. – P. 505–514.

Зборовская Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор, директор, Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии» Российской академии медицинских наук, 400138, г. Волгоград, ул. им. Землячки, д.76.

Бедина Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник клинико-биохимической лаборатории, ФГБУЗ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН

Галаева Оксана Юрьевна – аспирант, ФГБУЗ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН

Мартемьянов Владислав Федорович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий клинико-биохимической лабораторией, ФГБУЗ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, Россия, г. Волгоград, 400138, г. Волгоград, ул. им. Землячки, д.76.

Мозговая Елена Эдуардовна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник клинико-биохимической лаборатории, ФГБУЗ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, e-mail: alena@vistcom.ru

Стажаров Михаил Юрьевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник клинико-биохимической лаборатории, ФГБУЗ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, e-mail: mstazharov@yandex.ru