

АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ СЕРОНЕГАТИВНЫМИ СПОНДИЛОАРТРИТАМИ

Евдокимова Е.В.¹, Зборовский А.Б.¹, Мозговая Е.Э.¹, Стажаров М.Ю.¹, Бедина С.А.¹,
Мартемьянов В.Ф.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии» Российской академии медицинских наук, Волгоград, Россия (400138, г. Волгоград, ул. им. Землячки, 76), e-mail: lentizora@gmail.com

В плазме крови 54 больных реактивным артритом (РеА), 55 больных анкилозирующим спондилитом (АС) и 15 больных псориазическим артритом (ПсА) проведены исследования активности гуаниндеаминазы (ГДА), гуанозиндеаминазы (ГЗДА), пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ), гуанинфосфорилазы (ГФ). По сравнению со здоровыми, у больных РеА в плазме выше активность ГДА, ПНФ, ниже ГЗДА и ГФ; у больных АС выше активность ГДА, ПНФ, ГФ и ниже активность ГЗДА; у больных ПсА выше активность всех ферментов. Установлено, что чем больше степень активности патологического процесса, тем у больных РеА выше активность ГДА, ниже активность ГЗДА и ГФ; у больных АС - выше активность ГДА, ПНФ, ГФ и ниже активность ГЗДА; у больных ПсА - выше активность всех ферментов. Между всеми степенями активности процесса выявлены существенные энзимные различия. У больных РеА, по сравнению с больными АС, ниже активность ГДА, ПНФ, ГФ и выше ГЗДА; по сравнению с больными ПсА, ниже активность ГДА, ПНФ, ГЗДА и ГФ. У больных АС, по сравнению с больными ПсА, ниже активность ГДА, ГЗДА и выше активность ГФ. Определение активности ГДА, ПНФ, ГЗДА и ГФ в плазме крови больных РеА, АС и ПсА способствует уточнению степени активности патологического процесса и дифференциации этих заболеваний.

Ключевые слова: серонегативные спондилоартриты, гуаниндеаминаза, гуанозиндеаминаза, пуриннуклеозидфосфорилаза, гуанинфосфорилаза.

THE ACTIVITIES OF PURINE METABOLISM ENZYMES IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH SERONEGATIVE SPONDYLOARTHRITIS

Evdokimova E.V.¹, Zborovsky A.B.¹, Mozgovaya E.E.¹, Stazharov M.Y.¹, Bedina S.A.¹,
Martemyanov V.F.¹

¹Federal State Budgetary Institution «Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology» under the Russian Academy of Medical Sciences (400138, Volgograd, street Zemlyachki, 76), e-mail: lentizora@gmail.com

Guanine deaminase (GDA) guanosine deaminase (GSDA), purine nucleoside phosphorylase (PNP), guanosine phosphorylase (GP) activities were determined in blood plasma of 54 patients with reactive arthritis, 55 patients with ankylosing spondylitis and 15 patients with psoriatic arthritis. GDA, PNP activities were higher, GSDA, GP were lower in reactive arthritis patients in comparison with healthy people. GDA, PNP, GP activities were higher and GSDA activity was lower in ankylosing spondylitis patients in comparison with healthy people. The activities of all enzymes were higher in psoriatic arthritis patients in comparison with healthy people. The increase of the pathological process activity was accompanied by the increase of GDA activity, the decrease of GSDA and GP activities in reactive arthritis patients; the increase of GDA, PNP, GP activities, decrease of GSDA activity in ankylosing spondylitis patients; the increase the activities of all enzymes in psoriatic arthritis patients. The essential enzyme differences were revealed between all activity degrees of the diseases. GDA, PNP, GP activities were lower and GSDA activity was higher in reactive arthritis patients in comparison with ankylosing spondylitis patients. GDA, PNP, GSDA, GP activities were lower in reactive arthritis patients in comparison with psoriatic arthritis patients. GDA, GSDA activities were lower and GP activity was higher in ankylosing spondylitis patients in comparison with psoriatic arthritis patients. The definition of GDA, PNP, GSDA, GP activities in blood plasma helps to diagnose the degree of the pathological process activity and differentiation of these diseases.

Keywords: seronegative spondyloarthritis, guanine deaminase, guanosine deaminase, purine nucleoside phosphorylase, guanosine phosphorylase.

Введение. К серонегативным спондилоартропатиям относят реактивные артриты (РеА), анкилозирующий спондилит (АС) и псориазический артрит (ПсА). Эти заболевания

характеризуются выраженным клиническим полиморфизмом и представляют значительные трудности в их дифференциации, а учитывая специфику лечения каждого заболевания, нередко назначаемая неадекватная терапия не только не прерывает патологический процесс, но и способствует его прогрессированию. Большинство работ по патогенезу спондилоартритов носят иммунологическую направленность, и недостаточно внимания уделяется изучению метаболических нарушений при этих заболеваниях, а в свою очередь метаболические нарушения могут стать причиной иммунной дискоординации. Известно, что некоторые пуриновые метаболиты (гуанозин, аденозин) могут нарушать функциональные свойства иммунокомпетентных клеток [4]. Содержание этих метаболитов в клетках находится под контролем некоторых ферментов пуринового метаболизма, и мы считаем, что изучение их активности - весьма перспективное направление в раскрытии новых патогенетических механизмов и дифференциации серонегативных спондилоартропатий.

Цель исследования. Повышение качества диагностики активности патологического процесса у больных РеА, АС и ПсА на основе исследований активности гуаниндезаминазы (ГДА), гуанозиндезаминазы (ГЗДА), пуриннуклеозидфосорилазы (ПНФ) и гуанозинфосфорилазы (ГФ) в плазме крови, выявление энзимных различий крови при этих заболеваниях для улучшения их дифференциации.

Материал и методы. Под наблюдением находились 124 больных, из которых 54 больных реактивным артритом (РеА), 55 – анкилозирующим спондилитом (АС) и 15 больных псориатическим артритом (ПсА).

Диагноз РеА устанавливался в соответствии с диагностическими критериями, принятыми на IV международном совещании по РеА в 1999 году в Берлине [5] с учетом Российских критериев РеА [1]. У 30 больных РеА определялась урогенная форма артрита, вызванная хламидиями (урогенный РеА), и у 24 больных установлен энтерогенный РеА, обусловленный иерсиниозной инфекцией в желудочно-кишечном тракте.

Контингент больных РеА был представлен 36 (66,7%) мужчинами и 18 (33,3%) женщинами. Возраст больных варьировал от 18 до 47 лет, в среднем ($M \pm m$) $31,9 \pm 1,0$ года. Длительность болезни $9,39 \pm 0,85$ месяца. I степень активности заболевания определялась у 21 (38,9%) больного, II степень – у 22 (40,7%) и III степень – у 11 (20,4%) больных. Острое течение – у 20 (37%), затяжное – у 19 (35,2%), хроническое – у 15 (27,8%) больных, I стадия поражения суставов – у 28 (51,9%), II стадия – у 10 (18,5%) и стадия 0 – у 16 (29,6%) больных.

Группа больных АС была представлена 50 (90,9%) мужчинами и 5 (9,1%) женщинами. Средний возраст мужчин ($M \pm m$) $34,7 \pm 1,3$ года, женщин – $42,8 \pm 2,7$ года. Средняя продолжительность заболевания $8,9 \pm 0,35$ года. Диагноз АС устанавливался на основании модифицированных Нью-йоркских диагностических критериев [8]. В соответствии с

отечественной классификацией и рекомендациями Европейской лиги ревматологов [6] на основании клинико-лабораторных данных и индекса BASDAI I степень активности процесса определялась у 15 (27,3%) больных, II степень – у 30 (54,5%) и III степень – у 10 (18,2%) больных. I стадия поражения суставов и позвоночника установлена у 5 (9,1%) больных, II – у 23 (41,8%), III – у 21 (38,2%), IV стадия – у 6 (10,9%) больных. У всех больных отмечались поражения крестцово-подвздошных сочленений.

Группа больных ПсА была представлена 9 (60%) мужчинами и 6 (40%) женщинами. Диагноз ПсА устанавливался на основании диагностических критериев Матисса [7], дополненных сотрудниками НИИ ревматологии РАМН [2]. Средний возраст больных ($M \pm m$) – $41,9 \pm 3,5$ года. Длительность псориаза – $9,6 \pm 0,9$ года. Спондилоартрит сформировался через $6,2 \pm 0,7$ года. У всех больных отмечалось поражение пояснично-крестцового отдела позвоночника. I степень активности процесса определялась у 10 (66,7%), II степень – у 5 (33,3%) больных. II стадия поражения суставов и позвоночника установлена у 5 (33,3%), III стадия – у 4 (26,7%) и IV стадия – у 6 (40%) больных.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей. Определение активности ГДА, ГЗДА, ПНФ и ГФ проводилось в плазме крови по методикам, описанным в работе С.Р. Григорянца [3], и выражалась в нмоль/мин/мл. Определение *Chlamidia trachomatis* проводилось с использованием иммуноферментного анализа в сыворотке крови и полимеразной цепной реакцией в соскобах из уретры и цервикального канала. Материалом для определения *Yersinia enterocolitica* был кал с использованием бактериологического посева и сыворотка крови с определением антител в реакции непрямой гемагглютинации. Также проводились исследования: общий анализ крови, мочи, С-реактивный белок, ревматоидный фактор, развернутая протеинограмма, иммуноглобулины А, М, G, HLA-B27. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программного пакета «СТАТИСТИКА 6.0».

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ зависимости активности ферментов от пола и возраста не выявил статистически значимых различий от этих факторов. У больных РеА (всей группы), по сравнению со здоровыми (табл. 1), при поступлении в плазме выше активность ГДА, ПНФ, ниже ГЗДА и ГФ (все $p < 0,001$).

Таблица 1. Активность энзимов (в нмоль/мин/мл) в плазме крови больных РеА, АС и ПсА

Контингент	Кол-во больных	Стат. показатели	ГДА	ГЗДА	ПНФ	ГФ
Здоровые	30	M	1,16	2,08	0,86	1,09
		G	0,13	0,29	0,09	0,12
		m	0,02	0,05	0,02	0,02
Больн. РеА (вся группа)	54	M	1,30	1,9	1,00	1,02
		G	0,10	1,10	0,09	0,08

		m	0,01	0,01	0,01	0,01
Больные РеА, I степень	21	M	1,21	1,99	0,93	1,06
		G	0,05	0,08	0,06	0,08
		m	0,01	0,02	0,01	0,02
Больные РеА, II степень	22	M	1,31	1,88	1,01	1,01
		G	0,06	0,06	0,07	0,07
		m	0,01	0,01	0,02	0,01
Больные РеА, III степень	11	M	1,44	1,77	1,11	0,97
		G	0,02	0,05	0,03	0,05
		m	0,01	0,01	0,01	0,02
Больные АС (вся группа)	55	M	1,54	1,75	1,17	1,40
		G	0,12	0,18	0,14	0,11
		m	0,02	0,02	0,02	0,02
Больные АС, I степень	15	M	1,46	1,95	1,05	1,28
		G	0,10	0,13	0,10	0,09
		m	0,03	0,03	0,03	0,02
Больные АС, II степень	30	M	1,55	1,71	1,17	1,42
		G	0,10	0,11	0,11	0,08
		m	0,02	0,02	0,02	0,02
Больные АС, III степень	10	M	1,67	1,56	1,36	1,52
		G	0,05	0,13	0,08	0,06
		m	0,02	0,04	0,03	0,02
Больн. ПсА (вся группа)	15	M	1,67	2,33	1,11	1,21
		G	0,15	0,16	0,11	0,10
		m	0,04	0,04	0,03	0,03
Больные ПсА, I степень	10	M	1,59	2,25	1,07	1,19
		G	0,09	0,06	0,09	0,12
		m	0,03	0,02	0,03	0,04
Больные ПсА, II степень	5	M	1,85	2,49	1,18	1,25
		G	0,05	0,08	0,04	0,06
		m	0,02	0,04	0,02	0,03

У больных с I степенью – выше активность ПНФ ($p<0,01$), незначительно выше ГДА ($p=0,057$), несколько ниже ГЗДА ($p=0,072$) и ГФ ($p=0,068$). У больных со II степенью - выше активность ГДА ($p<0,001$), ПНФ ($p<0,001$, ниже ГЗДА ($p=0,003$) и ГФ ($p=0,004$).

У больных с III степенью – выше активность ГДА ($p<0,001$), ПНФ ($p<0,001$), ниже ГЗДА ($p<0,001$) и ГФ ($p=0,007$). У больных РеА с I степенью, по сравнению со II степенью, ниже активность ГДА, ПНФ ($p<0,001$), выше ГЗДА ($p<0,001$) и ГФ ($p=0,042$); по сравнению с III степенью, ниже ГДА, ПНФ ($p<0,001$), выше ГЗДА ($p<0,001$) и ГФ ($p=0,005$). У больных со II степенью, по сравнению с III степенью, ниже активность ГДА ($p<0,001$), ПНФ ($p=0,006$) выше ГЗДА ($p<0,001$) и несколько выше ГФ ($p=0,057$).

По сравнению со здоровыми лицами, у больных АС (всей группы) при поступлении на лечение в плазме (табл. 1) выше активность ГДА, ГФ, ПНФ и ниже ГЗДА (все $p<0,001$); у больных с I степенью активности процесса выше активность ГДА, ПНФ, ГФ (все $p<0,001$) и

незначительно ниже активность ГЗДА ($p > 0,058$); у больных со II степенью выше активность ГДА, ПНФ, ГФ и ниже ГЗДА (все $p < 0,001$); у больных с III степенью выше активность ГДА, ПНФ, ГФ и ниже ГЗДА (все $p < 0,001$). Сравнительный анализ показал, что у больных АС с I степенью, по сравнению с больными со II степенью, ниже активность ГДА ($p < 0,05$), ПНФ ($p < 0,01$), ГФ ($p < 0,001$) и выше ГЗДА ($p < 0,001$); по сравнению с больными с III степенью, ниже активность ГДА, ПНФ, ГФ и выше ГЗДА (все $p < 0,001$). У больных со II степенью, по сравнению с больными с III степенью, ниже активность ГДА ($p < 0,01$), ПНФ ($p < 0,001$), ГФ ($p < 0,01$) и выше активность ГЗДА ($p < 0,001$).

По сравнению со здоровыми, у больных ПсА (табл. 1) в плазме выше активность всех ферментов: ГДА и ПНФ ($p < 0,001$), ГЗДА и ГФ ($p < 0,01$); у больных с I степенью выше активность ГДА ($p < 0,001$), ПНФ ($p < 0,001$), ГФ ($p < 0,05$) и незначительно выше активность ГЗДА ($p = 0,062$); у больных со II степенью выше активность всех ферментов: ГДА и ПНФ ($p < 0,001$), ГЗДА и ГФ ($p < 0,01$). Сравнительный анализ показал, что у больных ПсА с I степенью, по сравнению с больными со II степенью, в плазме ниже активность ГДА и ГЗДА ($p < 0,001$), ПНФ ($p < 0,05$) и незначительно ниже активность ГФ ($p = 0,072$).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о существенных нарушениях активности всех изученных ферментов пуринового метаболизма при РеА, АС и ПсА. Кроме того, выявлены энзимные различия между всеми степенями активности процесса, что свидетельствует о значительном влиянии активности патологического процесса на энзимную активность, и это надо учитывать при анализе энзимных показателей в клинической практике. На основании полученных результатов можно заключить, что определение активности ГДА, ГЗДА, ПНФ и ГФ в плазме крови больных РеА, АС и ПсА может способствовать выявлению минимальной активности патологического процесса и уточнению степени активности процесса, что имеет важное значение в клинической практике.

Результаты проведенных исследований выявили достаточно много общего в изменениях активности изученных ферментов в плазме крови при РеА, АС и ПсА. Так, активность ГДА и ПНФ повышена при всех трех заболеваниях, активность ГФ повышена при АС и ПсА, а активность ГЗДА снижена при РеА и АС. Это говорит о некоторой сходности отдельных патогенетических звеньев при серонегативных спондилоартропатиях и обоснованности выделений этих заболеваний в одну группу, но в то же время свидетельствует об определенных трудностях в дифференциации этих заболеваний с учетом и сходности некоторых клинических проявлений. Исходя из этого, мы провели сравнительные исследования энзимной активности плазмы при всех трех заболеваниях.

У больных РеА, по сравнению с больными АС, в плазме ниже активность ГДА, ПНФ, ГФ и выше ГЗДА (все $p < 0,001$). Учитывая, что между всеми степенями активности

патологического процесса также имеются энзимные различия, нами были проведены сравнения и по степеням активности процесса. Так, у больных РеА с I степенью, по сравнению с больными АС с I степенью, ниже активность ГДА, ПНФ, ГФ (все $p < 0,001$); у больных РеА со II степенью, по сравнению с больными АС со II степенью, ниже активность ГДА, ПНФ, ГФ и выше ГЗДА ($p < 0,05$); у больных РеА с III степенью – аналогичные различия.

У больных РеА, по сравнению с больными ПсА, в плазме ниже активность всех ферментов ($p < 0,001$); у больных РеА с I степенью, по сравнению с больными ПсА с I степенью, ниже активность ГДА, ГЗДА, ПНФ (все $p < 0,001$) и ГФ ($p < 0,01$); при II степени у больных РеА также ниже активность всех ферментов ($p < 0,001$).

У больных АС, по сравнению с больными ПсА, в плазме ниже активность ГДА ($p < 0,01$), ГЗДА ($p < 0,001$), выше ГФ ($p < 0,001$); при I степени у больных АС ниже активность ГДА ($p < 0,01$), ГЗДА ($p < 0,001$), выше активность ГФ ($p < 0,05$); при II степени у больных АС ниже активность ГДА, ГЗДА (все $p < 0,001$), выше активность ГФ ($p < 0,01$).

Выявленные энзимные различия между РеА, АС и ПсА имеют определенное теоретическое значение, показывающее, что, несмотря на некоторую общность изменений активности ферментов при этих заболеваниях, имеются и определенные энзимные различия, проявившиеся в количественной мере изменений активности ферментов. Но подобные статистические различия важны при сравнении групп больных, и они малопригодны в клинической практике, где диагноз устанавливается для конкретного больного. Исходя из этого для конкретизации диагноза у больного можно использовать два подхода. Первый подход основан на использовании энзимных различий между заболеваниями в разнонаправленности изменений активности энзимов по отношению к референтным величинам здоровых лиц (условной норме). Так, активность ГФ снижена у больных РеА, но повышена при ПсА; активность ГЗДА снижена при АС, но повышена при ПсА. Второй подход основан на использовании максимальных и минимальных величин активности ферментов, полученных нами у всех обследованных больных (табл. 2).

Таблица 2. Минимальные и максимальные активности ферментов в плазме крови здоровых и больных

Энзимы	Здоровые		РеА		АС		ПсА	
	Мин. акт-ть	Макс. акт-ть	Мин. акт-ть	Макс. акт-ть	Мин. акт-ть	Макс. акт-ть	Мин. акт-ть	Макс. акт-ть
ГДА	0,90	1,30	1,18	1,48	1,32	1,78	1,29	1,95
ГЗДА	1,60	2,80	1,69	2,11	1,46	2,10	1,99	2,58
ПНФ	0,69	1,10	0,80	1,16	0,88	1,70	0,87	1,30
ГФ	0,90	1,30	0,87	1,28	1,12	1,58	0,99	1,39

Анализируя эти показатели и соответствующие клинко-инструментальные данные, можно заключить, что если в плазме у больного активность ГДА ниже 1,32 нмоль, ПНФ ниже 0,88 нмоль, ГФ ниже 1,12 нмоль, то имеется много данных за наличие у больного РеА. Если же в плазме у больного активность ГДА выше 1,48 нмоль, ПНФ выше 1,16 нмоль и ГФ выше 1,28 нмоль, то следует отдать предпочтение диагнозу АС. Если же в плазме активность ГДА менее 1,32 или более 1,73 нмоль, ГЗДА выше 2,1 нмоль и ГФ менее 1,12 нмоль, то вероятность диагноза ПсА достаточно большая. В процессе диагностической работы врач из всех заболеваний у конкретного больного выбирает наиболее предпочтительные диагнозы, и если из всех ревматических заболеваний суставов врач предполагает наличие у больного РеА, АС или ПсА, то, используя эти два вышеописанных подхода, диагностическая точность существенно повышается. При создании компьютерной программы, основанной на вышеописанных диагностических критериях, дифференциация РеА, АС и ПсА значительно облегчается. Подводя итоги проведенных энзимных исследований в плазме крови больных РеА, АС и ПсА, можно отметить, что наибольшая активность ГДА и ГЗДА наблюдалась у больных ПсА, ПНФ и ГФ – у больных АС. У больных РеА отмечалась наименьшая активность ГДА, ПНФ и ГФ.

Выявлены и определенные закономерности: чем больше степень активности патологического процесса, тем в плазме у больных РеА выше активность ГДА и ниже активность ГЗДА и ГФ; у больных АС – выше активность ГДА, ПНФ, ГФ и ниже активность ГЗДА; у больных ПсА – выше активность всех изученных ферментов.

Выводы

1. Исследования активности ГДА, ГЗДА, ПНФ и ГФ в плазме крови больных РеА, АС и ПсА выявили как однонаправленные, так и разнонаправленные изменения энзимной активности в зависимости от вида заболевания и степени активности патологического процесса.
2. Определение активности ГДА, ГЗДА, ПНФ и ГФ в плазме крови больных РеА, АС и ПсА в комплексе с клинко-инструментальными данными способствует уточнению степени активности патологического процесса и дифференциации этих заболеваний.

Список литературы

1. Агабабова Э.Р., Бунчук Н.В., Шубин С.В. и др. Критерии урогенных и энтерогенных реактивных артритов (проект) // Научно-практич. ревматология. – 2003. - № 3. – С. 82-83.
2. Бадочкин В.В. К вопросу о классификации псориатического артрита // Клинич. ревматология. – 1995. - № 1. – С. 53-56.

3. Григорьянц С.Р. Клинико-диагностическое значение исследования активности гуаназы, гуанозиндезаминазы, гуанозинфосфорилазы, пурипнуклеотидфосфорилазы в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови больных остеоартрозом и подагрой : дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2005. – С. 58-72.
4. Филановская Л.И., Блинов М.Н., Того А.В. и др. Влияние пуриновых нуклеозидов на лейкоциты в норме и при лейкозах // Экспериментальная онкология. – 1987. – Том 9, № 3. – С. 39-43.
5. Braun I., Kingsley B., Van der Heijde D., Sieper I. On the difficulties of establishing a consensus on the definition of and diagnostic investigations for reactive arthritis. Results and discussion of a questionnaire prepared for the 4th International Workshop on reactive arthritis, Berlin, Germany, July 3-6, 1999 // J. Rheumatol. – 2000. – Vol. 27. – P. 2185-2192.
6. Dougados M., Van der Linden S., Iuhlin R. et al. The European Spondyloarthritis Study Group preliminary criteria for the classification of Spondyloarthritis // Arthritis Rheum. – 1991. – Vol. 34. – P. 1218-1227.
7. Mathies H. Arthritis psoriatica // Acta med. Austr. – 1974. – Vol. 1, № 1. – P. 3-12.
8. Van der Linder S., Valkenburg H.A., Cats A. evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis // Arthritis Rheum. – 1984. – Vol. 27. – P. 361.

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.