

Урогенный реактивный артрит и ферменты пуринового метаболизма

Е.В. Евдокимова², А.И. Романов¹, В.Ф. Мартемьянов²,
Е.Э. Мозговая², М.Ю. Стажаров², С.А. Бедина²

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии»

Российской академии медицинских наук, Волгоград,

²ФГБУ «Центр реабилитации» УД Президента РФ, Московская область

В лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови 30 больных урогенным реактивным артритом в процессе лечения изучена активность четырех ферментов пуринового метаболизма – гуаниндезаминазы (ГДА), гуанозиндезаминазы (ГЗДА), пуридиннуклеозидфосфорилазы (ПНФ) и гуанозинфосфорилазы (ГФ). Результаты исследования показали, что у больных в плазме выше активность ГДА, ПНФ, ниже активность ГЗДА, в лимфоцитах ниже активность ГДА, ПНФ, выше активность ГЗДА и ГФ, в эритроцитах выше активность ГДА и ниже активность ГЗДА. Активность ферментов зависит от степени активности патологического процесса. Между всеми степенями активности процесса выявлены статистически значимые ферментные различия, что способствует уточнению степени активности процесса.

Ключевые слова: урогенный реактивный артрит, пуриновый метаболизм.

The activity of four enzymes of purin metabolic process have been studied in 30 patients suffering of urogenic reactive arthritis during their treatment in the clinic. These enzymes were studied in lysates of lymphocytes, erythrocytes and blood plasma, and they were: guanindesaminase (GDA), guanosidedesaminase (GZDA), purin nucleoside phosphorilase (PNP), guanosine phosphorilase (GP). The results obtained have shown that in this group of patients plasma GDA, PNP activity was higher, GZDA activity was lower; lymphocyte GDA, PNP activity was lower, GZDA, GP activity was higher; erythrocyte GDA activity was higher, GZDA activity was lower. Enzymatic activity depends on the activity of pathological process. While analyzing the degrees of process activity, statistically reliable enzymatic values have been found out. This finding may help to assess the degree of process activity more precisely.

Key words: urogenic reactive arthritis, purin metabolism.

Реактивные артриты (РеА) – воспалительные заболевания суставов, обусловленные воздействием инфекционных агентов через иммунные механизмы на суставные и внесуставные ткани. Более 50% из них составляют РеА, связанные с мочеполовой инфекцией (*Chlamidia trachomatis*). Последние десятилетия характеризуются ростом как мочеполовых инфекций, так и удельного веса РеА среди всех ревматических заболеваний суставов [4, 6]. Актуальность и значимость борьбы с РеА обуславливается высокой заболеваемостью преимущественно лиц молодого возраста (20–40 лет), длительной нетрудоспособностью больных, большими экономическими затратами на лечение, неясностью отдельных патогенетических механизмов, недостаточной эффективностью антибактериальной терапии, слабостью профилактических мероприятий по предотвращению мочеполовых и кишечных инфекций [2, 6, 7].

Большинство работ по патогенезу РеА носят иммунологическую направленность, и недостаточно внимания уделяется изучению метаболических нарушений в организме больных, которые могут стать причиной иммунной дискоординации. Исходя из этого, перед нами была поставлена цель исследования – выявление ферментологических особенностей в лимфоцитах, эритроцитах и плазме крови больных урогенным РеА для повышения качества диагностики степени активности воспалительного процесса в суставах и оценки эффективности проводимой терапии больных.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 30 больных урогенным РеА, из них 8 (26,7%) женщин, 22 (73,3%) мужчины. Диагноз устанавливался в соответствии с диагностическими критериями, принятыми IV международным со-

вещанием по реактивным артритам (Берлин, 1999) [1, 10]. Возраст мужчин составил $28,1 \pm 1,2$ года, женщин – $24,3 \pm 1,1$ года, всей группы – $27,0 \pm 0,96$ года. Длительность заболевания – $9,27 \pm 1,3$ мес.

В клинической картине заболевания преобладали поражения суставов нижних конечностей (100%), моноолигоартрит (80%), асимметрия поражения суставов (93,3%), «лестничный тип» поражения суставов (63,3%), энтезопатия (83,3%). Также наблюдались талалгия (56,7%), эрозивный баланит (16,7%), афтозный стоматит (16,7%), подошвенная кератодермия (16,7%), ониходистрофия (13,3%). Уретрит или цервицит во время обследования или в анамнезе с длительностью менее 8 мес отмечался у всех больных, конъюнктивит в настоящее время или в анамнезе (менее 6 мес) – у 27 (90%) больных.

В соответствии с классификационными критериями [1, 5] I степень активности патологического процесса определялась у 12 (40%) больных, из которых 8 (66,7%) мужчин и 4 (33,3%) женщины. Средний возраст больных – $29,9 \pm 1,8$ года. II степень установлена у 13 (43,3%) больных, среди которых 10 (76,9%) мужчин и 3 (23,1%) женщины. Средний возраст больных – $25,5 \pm 1,0$ года. III степень определена у 5 (16,7%) больных, среди которых 4 (80%) мужчины и 1 женщина. Средний возраст больных – $23,6 \pm 1,4$ года. Острое течение заболевания (с длительностью до 6 мес) определялось у 11 (36,7%) больных, затяжное (с длительностью до 1 года) – у 11 (36,7%) и хроническое течение (с длительностью более 1 года) – у 8 (26,7%) больных. Острое течение наблюдалось только у больных с II (54,5%) и III (45,5%) степенью активности процесса, затяжное – при I (54,5%) и II (45,5%) степени, хроническое течение преобладало при I (75%) и II (25%) степени. В соответствии с критериями Штейнброчкера 0 стадия установлена у 10 (33,3%) больных, I стадия – у 15 (50%) и II стадия – у 5 (16,7%) больных.

Исследования активности энзимов пуринового метаболизма гуаниндезаминазы (ГДА), гуанозиндезаминазы (ГЗДА), пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ) и гуанозинфосфорилазы (ГФ) проводили в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови по оригинальным методикам. Выделение лимфоцитов и эритроцитов из венозной крови осуществляли по общепринятой методике A. Vouym [9] с использованием лимфосепа (JCN Biomedicals) с градиентом плотности 1,077-1,079 г/см³. Лизаты клеток готовили путем трехкратного замораживания – оттаивания и центрифугирования. Определение активности ГДА и ГЗДА проводилось по методике W.T. Saraway [11], основанной на определении свободного аммиака с помощью цветной реакции Бертло. Определение активности ПНФ проводилось спектрофотометрически по приросту мочевиной кислоты, образующейся в ходе реакции [12]. Активность ГФ определяли фотометрически по концентрации образующегося гуанина [13]. Активность энзимов в лизатах лимфоцитов выражали в нмоль/мин/мл, исходя из содержания в 1 мл (до лизиса) 10⁷ клеток, в эритроцитах - в нмоль/мин/1 мл, исходя из содержания в 1 мл 10⁹ клеток, за исключением активности ПНФ, где в 1 мл содержалось 10⁸ клеток. Исследование активности энзимов проводили при поступлении на лечение, через 7–8 дней и по окончании стационарного курса лечения.

Также проводились следующие лабораторные исследования: общий анализ крови и мочи, С-реактивный белок, ревматоидный фактор, иммуноглобулины А, М и G, антиген HLA-B27. Определение *Chlamidia trachomatis* проводилось с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) в соскобах слизистой уретры, шейки матки, крови с определением антител класса IgG, IgA, IgM к хламидиям. Пограничными титрами считались: IgG – 1:100, IgA и IgM – 1:50.

В лечении больных РеА использовался комплексный подход, сочетающий антибактериальную терапию и лечение артрита. Для эрадикации хламидий применялись сумамед по 0,5–1 г в сутки с интервалом 5–6 дней до 6–7 г на курс лечения, эритромицин 2 г в сутки, ципролет 1 г в сутки. Курс лечения антибиотиками не менее 4 нед. В лечении использовали нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП): диклофенак, кетопрофен, найз, мелоксикам в общепринятых дозировках в сочетании с антигрибковыми препаратами (нистатин, линекс, низорал) и гастропротекторами (омез, мизопропрост). При высокой активности процесса и малой эффективности НПВП применяли дипроспан, кеналог внутрисуставно и периартикулярно. При хроническом и затяжном течении – метотрексат (7,5–15 мг в неделю), сульфасалазин 1,5–2 г в сутки. При уменьшении воспалительных явлений в суставах – ЛФК, массаж, диатермию, магнитно-лазеротерапию, УФО.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0 с вычислением средней арифметической (M), ошибки средней арифметической (m), квадратического отклонения (σ). При сравнении групп по количественному признаку

использовали критерии Стьюдента, Манна-Уитни, Вилкоксона. Различия считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По результатам ИФА наличие хламидиоза установлено у всех больных. Антиген HLA-B27 определялся у 21 (70%) больного, преимущественно у больных с хроническим и затяжным течением (84,2%). РФ в повышенных титрах не определялся ни у одного больного. При поступлении на лечение у больных урогенным РеА, по сравнению со здоровыми, в плазме (табл. 1) выше активность ГДА, ПНФ, ниже активность ГЗДА и несколько ниже активность ГФ ($p > 0,05$), в лизатах лимфоцитов (табл. 2) ниже активность ГДА, ПНФ, выше активность ГЗДА и ГФ, в лизатах эритроцитов (табл. 3) выше активность ГДА, ниже ГЗДА, незначительно ниже активности ПНФ и ГФ ($p > 0,05$). Через 7–8 дней лечения наряду с некоторым улучшением клинического состояния больных, во всех биосредах наметилась лишь тенденция к нормализации энзимной активности. По окончании стационарного лечения по сравнению с первоначальным этапом в плазме (см. табл. 1) снизилась активность ГДА и ПНФ ($p < 0,001$), повысилась ранее сниженная активность ГЗДА ($p < 0,001$) и ГФ ($p < 0,01$), в лимфоцитах (см. табл. 2) повысилась ранее сниженная активность ГДА ($p < 0,05$), снизилась активность ГЗДА ($p < 0,001$), незначительно повысилась активность ГФ ($p > 0,05$) и не изменилась активность ПНФ ($p > 0,05$). Перед выпиской из стационара, в стадии начинающейся клинической ремиссии большинство энзимных показателей в трех

Таблица 1
Активность энзимов в плазме крови больных урогенным РеА в процессе лечения

Контингент	Количество больных	Статистические показатели	ГДА	ГЗДА	ПНФ	ГФ
Здоровые	30	M σ t	1,16 0,13 0,02	2,08 0,29 0,05	0,86 0,09 0,02	1,09 0,12 0,02
Больные урогенным РеА, поступление	30	M σ t	1,28*** 0,10 0,02	1,91** 0,10 0,02	0,99*** 0,09 0,02	1,04 0,09 0,02
Больные урогенным РеА, через 7–8 дней лечения	30	M σ t	1,25 0,07 0,01	1,94 0,08 0,02	0,96 0,07 0,01	1,05 0,07 0,01
Больные урогенным РеА, перед выпиской	30	M σ t	1,18 0,04 0,01	2,02 0,04 0,01	0,88 0,03 0,01	1,10 0,02 0,01
Больные урогенным РеА, I степень активности	12	M σ t	1,20 0,04 0,01	1,99 0,09 0,03	0,93* 0,07 0,02	1,09 0,09 0,03
Больные урогенным РеА, II степень активности	13	M σ t	1,30*** 0,06 0,02	1,88* 0,06 0,02	1,00*** 0,08 0,02	1,02* 0,08 0,02
Больные урогенным РеА, III степень активности	5	M σ t	1,43*** 0,02 0,01	1,77* 0,04 0,02	1,10*** 0,01 0,01	0,98* 0,04 0,02

Примечание. Статистически значимые различия по отношению к здоровым: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Активность энзимов в лимфоцитах больных урогенным РеА в процессе лечения

Таблица 2

Контингент	Количество больных	Статистические показатели	ГДА	ГЗДА	ПНФ	ГФ
Здоровые	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	11,7 0,99 0,18	7,49 0,73 0,13	34,5 3,71 0,68	11,5 1,45 0,26
Больные урогенным РеА, поступление	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	11,1* 0,99 0,18	9,35*** 2,49 0,45	31,6** 3,98 0,73	13,2*** 2,13 0,39
Больные урогенным РеА, через 7–8 дней лечения	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	11,2 0,73 0,13	9,06 2,01 0,37	32,0 3,39 0,62	12,9 1,04 0,30
Больные урогенным РеА, перед выпиской	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	11,5 0,25 0,05	8,25 0,91 0,17	33,0 2,23 0,41	12,0 0,76 0,14
Больные урогенным РеА, I степень активности	12	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	10,1*** 0,42 0,12	11,6*** 1,16 0,33	27,6*** 2,38 0,69	15,2*** 1,39 0,40
Больные урогенным РеА, II степень активности	13	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	11,4 0,47 0,13	8,43* 1,87 0,52	33,5 1,94 0,54	12,4 1,34 0,37
Больные урогенным РеА, III степень активности	5	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	12,5 0,30 0,13	6,26*** 0,53 0,24	36,4 0,27 0,12	10,7 0,23 0,10

Примечание. Статистически значимые различия по отношению к здоровым: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

биологических средах не отличались от аналогичных показателей у здоровых ($p > 0,05$) и только активность ГЗДА в лимфоцитах хотя и снизилась, но так и осталась повышенной ($p < 0,001$), что, вероятно, свидетельствовало о неполном купировании патологического процесса.

Учитывая, что на активность энзимов может влиять выраженность и интенсивность иммуновоспалительного процесса, мы провели исследование энзимной активности крови в зависимости от этого фактора. По сравнению со здоровыми у больных РеА с I степенью активности процесса в плазме (см. табл. 1) выше активность ПНФ, в лимфоцитах (см. табл. 2) ниже активность ГДА, ПНФ, выше активность ГЗДА и ГФ, в эритроцитах статистически значимых энзимных различий не определялось; у больных РеА с II степенью в плазме (см. табл. 1) выше активность ГДА и ПНФ, ниже ГЗДА и ГФ, в лимфоцитах (см. табл. 2) выше активность ГЗДА, незначительно ниже активности ГДА, ПНФ и выше ГФ (все $p > 0,05$), в эритроцитах (см. табл. 3) ниже активность ГЗДА; у больных РеА с III степенью в плазме (см. табл. 1) выше активность ГЗДА и ГФ, в лимфоцитах (см. табл. 2) ниже активность ГЗДА, незначительно выше активность ГДА, ПНФ и ниже ГФ (все $p > 0,05$), в эритроцитах (табл. 3) выше активность ГДА, ПНФ, ниже активность ГЗДА и ГФ. Между всеми степенями активности процесса выявлены существенные энзимные различия. Так, у больных с I степенью по сравнению с больными со II степенью в плазме ниже активность ГДА ($p < 0,001$), ПНФ ($p < 0,05$), выше ГЗДА ($p < 0,01$) и незначительно выше ГФ ($p > 0,05$); в лимфоцитах ниже активность ГДА, ПНФ, выше ГЗДА и ГФ (все $p < 0,001$), в эритроцитах существенных энзимных различий не выявлено ($p > 0,05$); по сравнению с больными с III степенью в плазме ниже активность ГДА и ПНФ ($p < 0,001$), выше ГЗДА ($p < 0,001$) и ГФ ($p < 0,05$), в лимфоцитах ниже активность ГДА, ПНФ, выше ГЗДА и ГФ (все $p < 0,001$), в эритроцитах ниже активность ГДА и ПНФ ($p < 0,01$), выше ГФ ($p < 0,01$) и незначительно выше ГЗДА ($p > 0,05$). У больных с II степенью по сравнению с больными со III степенью в плазме ниже активность ГДА и ПНФ ($p < 0,01$), выше ГЗДА ($p < 0,01$) и незначительно выше активность ГФ ($p > 0,05$); в лимфоцитах ниже активность ГДА ($p < 0,001$), ПНФ (все $p < 0,01$), выше ГЗДА и ГФ (все $p < 0,05$), в эритроцитах ниже активность ПНФ ($p < 0,01$), выше ГФ ($p > 0,05$), незначительно ниже активность ГДА и выше ГЗДА ($p > 0,05$). При оценке эффективности проводимой терапии в ранние сроки (7–8 дней) при I степени активности процесса наиболее чувствительными к минимальным изменениям клинического со-

Активность энзимов в эритроцитах больных урогенным РеА в процессе лечения

Таблица 3

Контингент	Количество больных	Статистические показатели	ГДА	ГЗДА	ПНФ	ГФ
Здоровые	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	16,9 1,82 0,33	11,3 0,83 0,15	180,0 17,3 3,15	4,87 0,43 0,08
Больные урогенным РеА, поступление	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	17,9* 1,53 0,28	10,4*** 1,04 0,19	178,3 14,3 2,61	4,73 0,33 0,06
Больные урогенным РеА, через 7–8 дней лечения	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	17,5 1,33 0,24	10,6 0,84 0,15	178,5 10,7 1,94	4,75 0,26 0,05
Больные урогенным РеА, перед выпиской	30	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	16,7 0,93 0,17	11,2 0,35 0,06	178,3 6,43 1,17	4,81 0,14 0,02
Больные урогенным РеА, I степень активности	12	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	17,2 0,89 0,26	10,7 1,08 0,31	174,2 12,3 3,63	4,83 0,25 0,07
Больные урогенным РеА, II степень активности	13	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	18,0 1,91 0,53	10,3*** 0,92 0,26	178,9 12,5 3,48	4,71 0,33 0,09
Больные урогенным РеА, III степень активности	5	<i>M</i> <i>σ</i> <i>t</i>	18,9* 1,14 0,51	9,86*** 0,89 0,40	196,0* 5,48 2,45	4,36* 0,15 0,07

Примечание. Статистически значимые различия по отношению к здоровым: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

стояния больных были в плазме показатели активности ГЗДА и ПНФ, в лимфоцитах – ГДА и ГФ, в эритроцитах – ГДА и ПНФ; при II степени – в плазме – ГЗДА, в лимфоцитах – ГФ, в эритроцитах – ГДА и ГЗДА; при III степени – в плазме – ГДА, ПНФ, ГЗДА, в лимфоцитах – ПНФ, ГФ, в эритроцитах – ПНФ.

Таким образом, проведенные исследования в трех биосредах у больных урогенным РеА выявили достаточно значительные изменения активности ферментов пуринового метаболизма, наиболее выраженные в лимфоцитах, и во многом зависящие от интенсивности воспалительного процесса. Было показано, что чем выше степень активности, тем в плазме, лимфоцитах и эритроцитах выше активность ГДА и ПНФ и ниже активность ГЗДА и ГФ. Учитывая такую направленность ферментных реакций, исходя из биохимической логики, можно предположить, что при данном заболевании ускоряются ферментные реакции катаболизма пуриновых метаболитов и можно ожидать повышенной активности ксантиноксидазы на заключительном этапе пуринового метаболизма и гиперпродукции мочевой кислоты, которая может обусловить интенсивность болевого синдрома в пораженных суставах. Если эта гипотеза найдет подтверждение, то, возможно, что использование гипоурикемических препаратов (типа аллопуринола) может оказаться целесообразным в комплексном лечении больных РеА. Не исключено, что нарушения пуринового метаболизма в лимфоцитах может обусловить дискоординацию иммунных процессов в организме больного урогенным РеА, так как имеется достаточно много данных о том, что отклонения концентрации гуанозина от нормальных параметров в лимфоцитах, на которую воздействуют ПНФ, ГФ и ГЗДА, могут привести к нарушению процессов созревания, пролиферации и дифференциации лимфоцитов [3, 8].

Выводы

1. Энзимологическими особенностями крови больных урогенным РеА являются: в плазме – повышенная активность ГДА, ПНФ, сниженная активность ГЗДА, в лимфоцитах – сниженная активность ГДА, ПНФ, повышенная активность ГЗДА и ГФ, в эритроцитах – повышенная активность ГДА и сниженная активность ГЗДА.

2. Показатели активности ГДА, ГЗДА, ПНФ и ГФ в лизатах лимфоцитов и эритроцитов, плазме крови способствуют уточнению степени активности патологического процесса у больных урогенным РеА и оценке эффективности проводимой терапии.

3. Нарушения пуринового метаболизма в лимфоцитах могут инициировать и поддерживать иммунные нарушения у больных урогенным РеА.

Литература

1. Агабабова Э.Р., Бунчук Н.В., Шубин С.В. и др. // *Научно-практическая ревматология*. – 2003. – № 3. – С. 82–83.
2. *Болезни суставов: Руководство для врачей / Под ред. Мазурова В.И.* – СПб.: Спец. Лит., 2008. – 397 с.
3. Земсков В.М. // *Иммунология*. – 1990. – № 3. – С. 4–8.
4. Казакова Т.В., Рашид М.А., Шостак Н.А., Карпова Н.Ю. // *Лечебное дело*. – 2010. – № 1. – С. 11–22.
5. *Клиническая ревматология: Руководство для практических врачей / Под ред. Мазурова В.И.* – СПб.: Фолиант, 2001. – С. 138–152.
6. Мазуров В.И., Шиплев С.А., Блохин М.П. и др. // *Клин. медицина*. – 1995. – № 3. – С. 31–34.
7. *Ревматические болезни: Руководство для врачей / Под ред. Насоновой В.А., Бунчука Н.В.* – М.: Медицина, 1997. – С. 324–335.
8. Тогузов Р.Т., Тихонов Ю.В., Талицкий В.В. и др. // *Вестник АМН СССР*. – 1986. – №8. – С. 40–52.
9. Boyum A. // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21. – Suppl. 97 (Paper IV) – P. 77–89.
10. Braun I., Kingsley B., Van der Heijde D. et al. // *J. Rheumatol.* – 2000. – Vol. 27. – P. 2185–2192.
11. Caraway W.T. // *Clin. Chem.* – 1966. – Vol. 12. – P. 187–193.
12. Robertson B.C., Hoffee P.A. // *J. Biol. Chem.* – 1973. – Vol. 248. №6. – P. 2040–2043.
13. Yamamada W. // *J. Biol. Chem.* – 1961. – Vol. 236. – № 11. – P. 3043–3046.