

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-002.77

Бедина С.А.¹, Трофименко А.С.^{1,2}, Мозговая Е.Э.¹, Зборовская И.А.^{1,2}

Энзимное профилирование плазмы крови и лимфоцитов при системной красной волчанке: фокус на ферменты пуринового и пиримидинового метаболизма

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», 400138, г. Волгоград, Россия, ул. им. Землячки, д. 76;

²ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 400131, г. Волгоград, Россия, площадь Павших борцов, д. 1

Изучение метаболизма пуриновых и пиримидиновых оснований при системной красной волчанке в настоящее время является актуальным направлением, как с позиций фундаментальной науки, так и в аспекте разработки инновационных средств лечения. Не менее важным является и энзимное профилирование, поскольку именно ферменты - перспективные предикторы ответа на терапию и удобные «мишени» для терапевтических воздействий. **Цель исследования** – описание профиля активности ключевых ферментов пуринового и пиримидинового метаболизма в плазме крови и в лизатах циркулирующих лимфоцитов у больных системной красной волчанкой. **Методика.** В плазме крови и лизатах лимфоцитов 50 больных системной красной волчанкой определяли активность комплекса из 10 ферментов пуринового и пиримидинового метаболизма. В качестве контроля использовали образцы 30 здоровых лиц. Оценка степени активности проводилась с использованием шкалы индексов ECLAM. Выделение лимфоцитов из венозной периферической крови проводили с помощью метода седиментации в градиенте плотности. **Результаты.** У больных системной красной волчанкой была установлена зависимость активности ферментов пуринового пиримидинового метаболизма от тяжести заболевания. Прямые корреляционные связи с индексом ECLAM выявлены в плазменной активности пуриноклеозидфосфорилазы, аденозинкиназы, урацил/тимидиндегидрогеназы, ИМФ-дегидрогеназы, цитидиндезаминазы, тимидинкиназы, дигидрооротатдегидрогеназы, а также у активности аденозинкиназы, ИМФ-дегидрогеназы и тимидинкиназы в лизатах лимфоцитов. Обратные корреляционные связи с индексом ECLAM выявлены для аденозиндезаминазы, тимидинфосфорилазы в плазме и активности пуриноклеозидфосфорилазы, аденозиндезаминазы, гуанилаткиназы, урацил/тимидиндегидрогеназы, цитидиндезаминазы, тимидинфосфорилазы, дигидрооротатдегидрогеназы в лизатах лимфоцитов. При системной красной волчанке в плазме наиболее информативными оказались показатели минимальной активности пуриноклеозидфосфорилазы, аденозинкиназы и ИМФ-дегидрогеназы, в лимфоцитах – пуриноклеозидфосфорилазы, аденозиндезаминазы и аденозинкиназы. **Заключение.** Изученные энзимные показатели можно использовать в качестве дополнительных маркеров активности системной красной волчанке.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза; аденозинкиназа; гуанилаткиназа; дигидрооротатдегидрогеназа; ИМФ-дегидрогеназа; пуриноклеозидфосфорилаза; тимидинкиназа; тимидинфосфорилаза; урацил/тимидиндегидрогеназа; цитидиндезаминаза; системная красная волчанка; лизаты лимфоцитов; плазма крови.

Для цитирования: Бедина С.А., Трофименко А.С., Мозговая Е.Э., Зборовская И.А. Энзимное профилирование плазмы крови и лимфоцитов при системной красной волчанке: фокус на ферменты пуринового и пиримидинового метаболизма. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 48-54.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03. 48-54

Для корреспонденции: Бедина Светлана Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. клинико-биохимической лаб., e-mail: clinicalbiochemistry@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.07.2017

Bedina S.A.¹, Trofimenko A.S.^{1,2}, Mozgovaya E.E.¹, Zborovskaya I.A.^{1,2}

Enzymatic profiling of blood plasma and lymphocytes in systemic lupus erythematosus: focus on purine and pyrimidine metabolizing enzymes

¹A.B. Zborovsky Research Institute for Clinical and Experimental Rheumatology, Zemlyachki str. 76, Volgograd 400138;

²Volgograd State Medical University, Ploshchad Pavshikh Bortsov 1, Volgograd 400131

Purine and pyrimidine metabolic pathways are emerging topical areas of research from the perspective of both basic science and development of innovative therapies for systemic lupus erythematosus (SLE). It is particularly important, therefore, to disclose characteristic enzymatic patterns for further prediction of the response to treatment. **Objective:** to characterize activity patterns of the major enzymes of purine and pyrimidine metabolic pathways in SLE. **Methods.** Samples were obtained from 50 patients with verified SLE and 30 healthy controls. Disease activity was assessed using the ECLAM scale. Blood lymphocytes were isolated by a standard density gradient centrifugation procedure. Activities of 10 major purine and pyrimidine enzymes were measured in blood plasma and lysed lymphocytes. **Results.** For different enzyme groups, enzyme activities directly or inversely correlated with SLE severity. Plasma purine nucleoside phosphorylase, adenosine kinase, uracil/thymidine dehydrogenase, IMP dehydrogenase, cytidine deaminase, thymidine kinase, dihydroorotate dehydrogenase, and lymphocyte adenosine kinase, IMP dehydrogenase, and thymidine kinase activities positively correlated with the ECLAM score. Negative correlations with ECLAM score were found for plasma adenosine deaminase and thymidine phosphorylase, and for lymphocyte purine nucleoside phosphorylase, adenosine deaminase, guanylate kinase, uracil/thymidine dehydrogenase, cytidine deaminase, thymidine phosphorylase, and dihydroorotate dehydrogenase. Activities of plasma purine nucleoside phosphorylase, adenosine kinase, IMP dehydrogenase, and lymphocyte purine nucleoside phosphorylase, adenosine deaminase, and adenosine kinase activities had the highest correlations with minimal SLE activity and represented candidate markers for the disease severity. **Conclusion.** The studied enzymatic patterns can be used as auxiliary markers of SLE activity, with special emphasis on minimal disease activity.

Keywords: adenosine deaminase; adenosine kinase; guanylate kinase, dihydroorotate dehydrogenase; IMP dehydrogenase; purine nucleoside phosphorylase; thymidine kinase; thymidine phosphorylase; uracil/thymidine dehydrogenase; cytidine deaminase; systemic lupus erythematosus; lymphocytes; blood.

For citation: Bedina S.A., Trofimenko A.S., Mozgovaya E.E., Zborovskaya I.A. Enzymatic profiling of blood plasma and lymphocytes in systemic lupus erythematosus: focus on purine and pyrimidine metabolizing enzymes. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 48-54. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.48-54

For correspondence: Svetlana A. Bedina, PhD, senior researcher, Research Institute for Clinical and Experimental Rheumatology named after A.B. Zborovskiy; 76, Zemlyachki str., Volgograd, 400138, Russian Federation, e-mail: clinicalbiochemistry@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Bedina S.A., <https://orcid.org/0000-0002-5316-0185>

Trofimenko A.S., <https://orcid.org/0000-0002-1627-8483>

Mozgovaya E.E., <https://orcid.org/0000-0003-0373-5072>

Zborovskaya I.A., <https://orcid.org/0000-0003-3898-7667>

Received 14.07.2017

Введение

Системная красная волчанка (СКВ) – аутоиммунное системное заболевание соединительной ткани, характеризующееся широким спектром клинических проявлений и непредсказуемым течением [1]. Механизмы индукции и прогрессирования СКВ являются объектом интенсивного изучения с 50-х гг. XX в, когда это заболевание было выделено в отдельную нозологическую единицу, однако начальные этапы патогенеза, равно как и этиология этого тяжелого заболевания окончательно не раскрыты. Отчасти вследствие многочисленных «белых пятен» в концепции этиопатогенеза, отчасти ввиду выраженного полиморфизма клинических и иммунологических проявлений, верификация диагноза СКВ, как правило, вызывает существенные затруднения, в особенности на начальных этапах болезни.

Принято считать, что основная причина характерного для СКВ поражения различных органов и тканей

– аутоиммунное воспаление, которое, в свою очередь, является следствием активации Th2-зависимого синтеза аутоантител [2– 4]. Высокая частота поражения жизненно важных органов при естественном течении СКВ наряду с отсутствием эффективных и избирательных способов подавления волчаночного воспаления вынуждает ревматологов использовать неспецифические методы иммуносупрессии. По этой причине основу лечения тяжелых форм СКВ в настоящее время составляют цитостатические иммунодепрессанты (ЦС), глюкокортикостероиды и В-лимфоцитотропные моноклональные антитела. Всем препаратам, и в особенности ЦС, присущи серьезные побочные эффекты, коррелирующие с дозой и длительностью применения препарата [5].

ЦС, применяемые при СКВ, отличаются различными механизмами воздействия на иммунокомпетентные

клетки [6]. Циклофосфамид, являясь алкилирующим агентом, вызывает химические изменения в молекуле ДНК, что наиболее выражено в пролиферирующих лимфоцитах и приводит к их апоптозу. Циклоспорин А посредством циклофилин-опосредованного ингибирования кальциневрина влияет на передачу внутриклеточных сигналов и секрецию цитокинов Т-лимфоцитами. Однако точкой приложения большинства ЦС, используемых при СКВ, является обмен пуриновых нуклеотидов. Известно, что азатиоприн тормозит синтез ДНК посредством образования тиогуаниновых нуклеотидов, которые затем включаются в состав ДНК, а также ингибируют синтез и взаимное превращение аденина, гипоксантина и гуанина. Под влиянием метотрексата не только снижается активность тетрагидрофолатредуктазы, но и опосредованно подавляется синтез пуринов и пиримидинов *de novo*. Наконец, механизм иммуносупрессивного действия микофенолата мофетила связан главным образом с ингибированием инозинмонофосфатдегидрогеназы, ключевого фермента синтеза гуанозина. Считается, что отчетливый иммуносупрессивный эффект этих ЦС связан с особенностью метаболизма лимфоцитов: пролиферация последних в большей степени зависит от синтеза пуриновых и пиримидиновых оснований *de novo*, чем от их поступления извне [6].

Ввиду этого, изучение метаболизма пуриновых и пиримидиновых оснований при СКВ весьма востребовано не только с позиций фундаментальной науки, но и в аспекте разработки инновационных средств лечения СКВ, а также перехода к персонализации иммуносупрессивной терапии. В рамках бурно развивающегося в последнее время направления – метаболомики, появляется возможность идентификации в различных биологических средах всего комплекса низкомолекулярных метаболитов, в том числе и пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов [7]. Не менее важным является и энзимное профилирование, поскольку именно ферменты являются как перспективными предикторами ответа на терапию, так и наиболее удобными «мишенями» для селективных терапевтических воздействий на метаболизм.

Цель исследования – описание профиля активности ключевых ферментов пуринового и пиримидинового метаболизма в плазме крови и в лизатах циркулирующих лимфоцитов у больных системной красной волчанки.

Методика

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного

добровольного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена этическим комитетом ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии». Исследование включало 50 больных СКВ: 43 (86%) женщины и 7 (4%) мужчин в возрасте 35-40 лет. Отбор больных проводили в ревматологическом отделении ГКБ СМП № 25 г. Волгограда. Диагноз устанавливали на основании критериев Американской ревматологической ассоциации, рекомендованных Ассоциацией ревматологов России [1, 8]. Оценка степени активности проводилась с использованием шкалы индексов European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM) [9], а также по шкале В.А. Насоновой с выделением 3 степеней активности [1]. Комплексная терапия больных СКВ включала глюкокортикоиды (преднизолон, метилпреднизолон), цитостатики (циклофосфамид, азатиоприн, метотрексат), аминохинолиновые препараты, нестероидные противовоспалительные средства. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц: 24 (80%) женщины и 6 (20%) мужчин.

Выделение лимфоцитов из венозной крови проводили по методике А. Воуи [10]. Лизаты лимфоцитов готовили путем трехкратного замораживания-оттаивания. В плазме крови и лизатах лимфоцитов определяли активность ферментов пуринового и пиримидинового метаболизма: аденозиндезаминазы (АДА; Е.С. 3.5.4.4), аденозинкиназы (АК; Е.С. 2.7.1.20), гуанилаткиназы (ГК; Е.С. 2.7.4.8), дигидрооротатдегидрогеназы (ДОДГ; Е.С. 1.3.5.2), ИМФ-дегидрогеназы (ИМФДГ; Е.С. 1.1.1.205), пурипуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ; Е.С. 2.4.2.1), тимидинкиназы (ТК; Е.С. 2.7.1.21), тимидинфосфорилазы (ТФ; Е.С. 2.4.2.4), урацил/тимидиндегидрогеназы (УДГ; Е.С. 1.17.99.4), цитидиндезаминазы (ЦДА; Е.С. 3.5.4.5). Исследование активности ферментов осуществляли спектрофотометрическим методом и выражали в нмоль/мин/мл [11-18]. Для лизатов лимфоцитов активность приводили к содержанию клеток 1×10^7 на 1 мл. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета Statistica 6.0. Подбор критериев для сравнения групп осуществляли по общепринятым правилам. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Поскольку существенной зависимости уровня активности ферментов от пола и возраста выявлено не было в дальнейших исследованиях эти факторы не учитывались. Референтные пределы активности ферментов в плазме крови и лимфоцитов представлены в **табл. 1**.

Средняя продолжительность заболевания составила $7,6 \pm 0,8$ лет. I степень активности патологического процесса определялась у 15 (30%) больных, II степень – у 25 (50%) и III степень – у 10 (20%) больных. Средняя активность СКВ по шкале ECLAM составила $6,60 \pm 0,30$ балла.

У больных СКВ по сравнению с референтной группой в плазме (табл. 2) выявлено повышение активности ПНФ, АК, УДГ, ИМФДГ, ЦДА, ТК, ДОДГ, снижение активности АДА, ГК; в лизатах лимфоцитов (табл. 3) – повышение активности АК, ИМФДГ, ТК и снижение активности ПНФ, АДА, ГК, ТФ, ЦДА. У больных СКВ с I степенью активности патологическо-

го процесса в плазме (табл. 2) выше активность ПНФ, АК, ИМФДГ, ТК, ТФ, УДГ, ДОДГ, ниже активность АДА, ГК; в лизатах лимфоцитов (табл. 3) ниже активность ПНФ, АДА, выше активность АК, УДГ, ИМФДГ, ТК.

При анализе индивидуальных энзимных показателей оказалось, что у больных СКВ с I степенью активности патологического процесса за верхний референтный предел здоровых людей в плазме крови активность ПНФ выходила в 86,7% случаев, АК – в 80%, ИМФДГ – в 60%. В лимфоцитах активность ПНФ в 78%, АДА и АК в 100% случаев выходила за пределы нормы (ниже и выше, соответственно).

Таблица 1

Референтные пределы активности ферментов в плазме крови и лизатах лимфоцитов

Фермент	Референтные пределы ($M \pm 2\sigma$), нмоль/мин/мл	
	Плазма крови	Лимфоциты
Пуриннуклеозидфосфорилаза (ПНФ)	0,74-1,46	26,91-40,47
Аденозиндезаминаза (АДА)	5,54-8,86	38,35-47,91
Аденозинкиназа (АК)	7,85-9,69	15,36-22,96
Гуанилаткиназа (ГК)	2,22-5,66	2,76-10,68
Урацил/тимидиндегидрогеназа (УДГ)	0,25-1,21	2,63-5,07
ИМФ-дегидрогеназа (ИМФДГ)	1,49-2,97	1,28-6,40
Цитидиндезаминаза (ЦДА)	0,33-1,29	2,15-4,95
Тимидинкиназа (ТК)	0,40-0,96	1,55-2,71
Тимидинфосфорилаза (ТФ)	0,41-1,17	2,23-4,43
Дигидрооротатдегидрогеназа (ДОДГ)	1,44-5,16	2,29-6,33

Таблица 2

Активность ферментов в плазме крови больных СКВ, ($M \pm m$)

Фермент	Здоровые, $n=30$	Больные СКВ, общая группа, $n=50$	Больные СКВ, I степень активности, $n=15$	Больные СКВ, II степень активности, $n=25$	Больные СКВ, III степень активности, $n=10$
Пуриннуклеозидфосфорилаза (ПНФ)	$0,82 \pm 0,06$	$2,29 \pm 0,14^*$	$1,17 \pm 0,06^*$	$2,31 \pm 0,04^*$	$3,92 \pm 0,07^*$
Аденозиндезаминаза (АДА)	$7,2 \pm 0,15$	$5,07 \pm 0,13^*$	$6,06 \pm 0,09^*$	$5,09 \pm 0,05^*$	$3,52 \pm 0,06^*$
Аденозинкиназа (АКА)	$8,77 \pm 0,08$	$11,41 \pm 0,16^*$	$10,14 \pm 0,12^*$	$11,43 \pm 0,09^*$	$13,26 \pm 0,05^*$
Гуанилаткиназа (ГК)	$3,94 \pm 0,16$	$3,41 \pm 0,05^*$	$3,47 \pm 0,07^*$	$3,47 \pm 0,08^*$	$3,18 \pm 0,02^*$
урацил/тимидиндегидрогеназа (УДГ)	$0,73 \pm 0,04$	$1,0 \pm 0,02^*$	$0,89 \pm 0,02^*$	$1,02 \pm 0,02^*$	$1,15 \pm 0,01^*$
ИМФ-дегидрогеназа (ИМФДГ)	$2,23 \pm 0,07$	$3,75 \pm 0,09^*$	$3,08 \pm 0,17^*$	$4,01 \pm 0,07^*$	$4,26 \pm 0,08^*$
Цитидиндезаминаза (ЦДА)	$0,81 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,03^*$	$0,87 \pm 0,04$	$1,03 \pm 0,04^*$	$1,06 \pm 0,04^*$
Тимидинкиназа (ТК)	$0,66 \pm 0,03$	$1,05 \pm 0,03^*$	$0,8 \pm 0,02^*$	$1,14 \pm 0,03^*$	$1,22 \pm 0,01^*$
тимидинфосфорилаза (ТФ)	$0,79 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,03$	$1,06 \pm 0,01^*$	$0,74 \pm 0,03$	$0,52 \pm 0,01^*$
Дигидрооротатдегидрогеназа (ДОДГ)	$3,3 \pm 0,17$	$3,93 \pm 0,04^*$	$3,94 \pm 0,08^*$	$3,84 \pm 0,06^*$	$4,14 \pm 0,03^*$

Примечание. * $p < 0,05$. Непарный критерий Стьюдента.

Нами также изучалась зависимость активности энзимов от индекса ECLAM. Коэффициент корреляции индекса активности ECLAM с активностью ПНФ в плазме составил 0,57, с активностью АДА в плазме – 0,62, с активностью АК в плазме – 0,60, с активностью ПНФ в лимфоцитах – 0,87, с активностью АДА в лимфоцитах – 0,75, с активностью АК в лимфоцитах – 0,78. Все значения были статистически значимыми. То есть, некоторые изученные энзимные показатели (ПНФ, АК и ИМФДГ в плазме крови, ПНФ, АДА и АК в лимфоцитах) имеют многообещающие перспективы в качестве индикатора активности СКВ. Это подтверждается при сравнении средней активности ферментов в подгруппах, выделенных по степени активности СКВ.

У больных СКВ с II степенью активности в плазме (табл. 2) выше активность ПНФ, АК, УДГ, ИМФДГ, ЦДА, ТК, ДОДГ, ниже активность АДА, ГК ($p=0,016$); в лимфоцитах (табл. 3) ниже активность ПНФ, АДА, ГК, ЦДА, ТФ, выше активность АК, ИМФДГ, ТК. У больных СКВ с III степенью активности в плазме (табл. 2) выше активность ПНФ, АК, УДГ, ИМФДГ, ТК, ДОДГ, ЦДА, ниже активность АДА, ТФ, ГК ($p=0,009$); в лимфоцитах (табл. 3) ниже активность ПНФ, АДА, ГК, УДГ, ЦДА, ТФ, выше активность АК, ИМФДГ, ТК.

У больных СКВ с I степенью активности процесса по сравнению с больными с СКВ с II степенью в плазме ниже активность ПНФ, АК, УДГ, ИМФДГ, ТК (для всех $p<0,001$), ЦДА ($p=0,007$), выше активность АДА, ТФ ($p<0,001$); в лимфоцитах ниже активность

АК, ИМФДГ, ТК ($p<0,001$), выше активность ПНФ, АДА, ГК, УДГ, ЦДА, ТФ (для всех $p<0,001$), ДОДГ ($p=0,014$). У больных СКВ с I и II степенью по сравнению с больными СКВ с III степенью в плазме ниже активность ПНФ, АК, УДГ, ИМФДГ, ТК (для всех $p<0,001$), ЦДА ($p=0,007$), ДОДГ ($p=0,041$), выше активность АДА, ТФ ($p<0,001$), ГК ($p=0,004$); в лимфоцитах ниже активность АК, ИМФДГ, ТК ($p<0,001$), выше активность ПНФ, АДА, ГК, УДГ, ЦДА, ТФ, ДОДГ (для всех $p<0,001$).

Таким образом, у больных СКВ прослеживается следующая тенденция. С нарастанием активности патологического процесса в плазме повышается активность ПНФ, АК, УДГ, ИМФДГ, ЦДА, ТК, ДОДГ и снижается активность АДА, ТФ; в лимфоцитах снижается активность ПНФ, АДА, ГК, УДГ, ЦДА, ТФ, ДОДГ, повышается активность АК, ИМФДГ и ТК.

У больных СКВ в плазме крови и лимфоцитах выявлены существенные изменения активности ферментов пуринового и пиримидинового цикла, зависящие от степени активности патологического процесса. Выявленные изменения активности ферментов свидетельствуют о повышенной интенсивности процессов катаболизма. Учитывая, что в патогенезе СКВ иммунные нарушения играют ведущую роль, из всех изученных нами энзимов наибольшее значение придается АДА и ПНФ. Эти ферменты через регуляцию содержания аденозина и гуанозина в клетках тканей оказывают наибольшее влияние на функциональные свойства лимфоцитов, в особенности на их пролиферацию.

Таблица 3

Активность ферментов в лимфоцитах больных СКВ, (M±m)

Фермент	Здоровые, n=30	Больные СКВ, общая группа, n=50	Больные СКВ, I степень активности, n=15	Больные СКВ, II степень активности, n=25	Больные СКВ, III степень активности, n=10
Пуриннуклеозидфосфорилаза (ПНФ)	33,69±0,62	20,84±0,81*	28,2±0,35*	19,71±0,28*	12,66±0,08*
Фленозин дезаминаза (АДА)	43,13±0,44	23,48±1,07*	33,51±0,12*	21,9±0,1*	12,39±0,09*
Аденозинкиназа (АК)	19,16±0,35	34,25±0,7*	27,72±0,11*	35,3±0,11*	41,43±0,06*
Гуанилаткиназа (ГК)	6,72±0,36	5,25±0,09*	5,97±0,11	5,11±0,08*	4,54±0,10*
Урацил/тимидин дегидрогеназа (УДГ)	3,85±0,11	3,88±0,08	4,43±0,08*	3,91±0,07	3,0±0,04*
ИМФ-дегидрогеназа (ИМФДГ)	3,84±0,23	5,58±0,1*	4,92±0,13*	5,63±0,09*	6,41±0,08*
цитидин дезаминаза (ЦДА)	3,55±0,13	3,14±0,07*	3,71±0,05	3,07±0,04*	2,44±0,02*
Тимидинкиназа (ТК)	2,13±0,05	2,9±0,03*	2,66±0,02*	2,93±0,03*	3,15±0,01*
Тимидин фосфорилаза (ТФ)	3,33±0,10	2,98±0,03*	3,17±0,03	2,97±0,02*	2,75±0,04*
дигидрооротат Дегидрогеназа (ДОДГ)	4,31±0,18	4,39±0,06	4,72±0,04	4,38±0,10	3,94±0,03

Примечание. * $p < 0,05$. Непарный критерий Стьюдента.

По результатам наших исследований у больных СКВ (группа в целом, I–III степень активности патологического процесса) активность ПНФ снижена в лимфоцитах, тогда как активность АДА в целом повышена. Такой энзимный дисбаланс влечет за собой накопление в лимфоцитах высоких концентраций аденозина и гуанозина, которые, по данным литературы, оказывают цитотоксический эффект на лимфоциты и вызывают их гибель. Наиболее важным с практической точки зрения является торможение созревания и пролиферации Т-лимфоцитов в G-фазе, а В-лимфоцитов в S-фазе клеточного цикла, подавление супрессорной функции Т-лимфоцитов за счет нарушения биосинтеза РНК и ДНК [19–22]. Спровоцированные энзимным дисбалансом нарушения функции иммунокомпетентных клеток могут вносить существенный вклад в прогрессирование болезни.

Исследования по изучению активности ферментов пуринового метаболизма при ревматических заболеваниях проводились нами и ранее. В частности, при ревматоидном артрите и системной склеродермии были выявлены изменения активности АДА и ПНФ, при этом имела место тесная их корреляция с активностью заболевания [23–26]. В данной работе также обнаружена отчетливая зависимость активности АДА, ПНФ и других ферментов от активности аутоиммунного воспаления. В целом, учитывая высокую частоту использования цитостатических иммунодепрессантов, влияющих на пуриновый и пиримидиновый метаболизм, для окончательной оценки данных маркеров, требуются дополнительные проспективные исследования. Однако уже сейчас можно сделать вывод о целесообразности продолжения поиска новых маркеров активности СКВ и предикторов эффективности и безопасности цитостатических иммунодепрессантов среди ферментов пуринового и пиримидинового метаболизма.

Таким образом, нарушения пуринового и пиримидинового метаболизма, влекущие за собой иммунные расстройства, являются одним из звеньев патогенеза при СКВ. Целенаправленная коррекция метаболических расстройств, направленная на нормализацию концентрации аденозина и гуанозина может сыграть важную роль в лечении больных СКВ. Для решения вопросов патогенетической терапии необходимы дальнейшие дополнительные исследования по изучению содержания пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов и нуклеозидов (аденозина, гуанозина и др.) в плазме, а особенно в лимфоцитах больных СКВ. Если в процессе дальнейших исследований эта гипотеза найдет подтверждение, то представится возможность разработки новых патогенетических подходов к коррекции иммунных нарушений при ревматических болезнях за счет

нормализации активности АДА, ПНФ и, возможно, других энзимов пуринового и пиримидинового цикла.

Литература

1. Насонов Е.Л., ред. *Ревматология: Клинические рекомендации*. М.; ГЭОТАР-Медиа; 2017.
2. Bakshi J., Ismajli M., Rahman A. New therapeutic avenues in SLE. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2015; 29: 794–809.
3. Bengtsson A. A., Rönnblom L. Systemic lupus erythematosus: still a challenge for physicians. *J Intern Med*. 2017; 281: 52–64.
4. Xiao Liu, Haihong Qin, Jinhua Xu. The role of autophagy in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *International Immunopharmacology*. 2016; 40: 351–61.
5. Houssiau F. Thirty years of cyclophosphamide: assessing the evidence. *Lupus*. 2007; 16: 212–6.
6. Firestein G.S., Budd R.C., Gabriel S.E., McInnes I.B., O'Dell J.R., eds. *Kelley & Firestein's Textbook of Rheumatology*. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2017.
7. Guma M., Tiziani S., Firestein G.S. Metabolomics in rheumatic diseases: desperately seeking biomarkers. *Nature Reviews Rheumatology*. 2016; 12(5): 269–81.
8. Hochberg M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum*. 1997; 40: 1725.
9. Brunner H.I., Silverman E.D., Bombardier C., Feldman B.M. *European Consensus Lupus Activity Measurement is sensitive to change in disease activity in childhood-onset systemic lupus erythematosus*. *Arthritis Rheum*. 2003; 49(3): 335–41.
10. Карпищенко А.И., ред. *Медицинские лабораторные технологии*. Справочник. СПб; Интермедика; 2002.
11. Friedkin M., De Wayne Roberts. The enzymatic synthesis of Nucleosides. I Thymidine Phosphorylase in mammalian tissue. *J. Biol. Chem*. 1954; 207: 245–55.
12. Friedmann H.C., Vennesland B. Crystalline Dehydroorotic Dehydrogenase. *J. Biol. Chem*. 1960; 235 (5): 1526–32.
13. Koerner J.F. Enzymes of nucleic acid metabolism. *Annu. Rev. Biochem*. 1970; 39: 291–322.
14. Martinek R.G. Micromethod for estimation of serum adenosine deaminase. *Clin. Chem*. 1963; 9 (5): 620–5.
15. Monn E., Christiansen R.O. Guanilate kinase in man – multiple molecular forms. *Hum. Hered*. 1972; 22(1): 18–27.
16. Robertson V.C., Hoffee P.A. Purification and properties of purine nucleoside phosphorylase from *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem*. 1973; 248(6): 2040–3.
17. Schelling P., Folkers G., Scapozza L. A spectrophotometric assay for quantitative determination of kcat of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase substrates. *Anal. Biochem*. 2001; 295(1): 82–7.
18. Wang T.P., Sable H.Z., Lampen J.O. Enzymatic deamination of cytosine nucleosides. *J. Biol. Chem*. 1950; 184(1): 17–28.
19. Дьякова М.Е. Особенности пуринового метаболизма у больных туберкулезом легких. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 61(3): 36–41.
20. Погосян Л.Г., Акопян Ж.И. Пурипуриннуклеозидфосфорилаза. *Биомедицинская химия*. 2013; 59(5): 483–97.
21. Antonioli L, Colucci R, La Motta C, Tuccori M, Awwad O, Da Settimo F et al. Adenosine deaminase in the modulation of immune system and its potential as a novel target for treatment of inflammatory disorders. *Curr Drug Targets*. 2012; 13: 842–62.

22. Somech R, Lev A, Simon AJ, Hanna S, Etzioni A. T- and B-cell defects in a novel purine nucleoside phosphorylase mutation. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130(2): 539-42.

23. Мартемьянов В.Ф., Абрамов Н.Б., Бедина С.А., Стажаров М.Ю., Мозговая Е.Э., Зборовский А.Б. Активность энзимов пуринового метаболизма у больных склеродермией. *Российский журнал кожных и венерических болезней.* 2010; 1: 34-6.

24. Мартемьянов В.Ф., Стажаров М.Ю., Мозговая Е.Э., Бедина С.А., Евдокимова Е.В. Активность энзимов пуринового метаболизма в лимфоцитах крови больных ревматоидным артритом. *Вестник современной клинической медицины.* 2010; 3(1): 112-3.

25. Мозговая Е.Э., Мартемьянов В.Ф., Стажаров М.Ю., Бедина С.А. Энзимодиагностика активности патологического процесса при ревматоидном артрите. *Врач-аспирант.* 2011; 47(4): 45-50.

26. Zborovskaya I.A., Martemyanov V.F., Zborovsky A.B., Mozgovaya E.E., Stazharov M.Yu., Bedina S.A. Purine nucleoside phosphorylase activity in rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 2009; 68(3): 764.

11. Friedkin M., De Wayne Roberts. The enzymatic synthesis of Nucleosides. I Thymidine Phosphorylase in mammalian tissue. *J. Biol. Chem.* 1954; 207: 245-55.

12. Friedmann H.C., Vennessland B. Crystalline Dehydroorotic Dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 1960; 235(5): 1526-32.

13. Koerner J.F. Enzymes of nucleic acid metabolism. *Annu. Rev. Biochem.* 1970; 39: 291-322.

14. Martinek R.G. Micromethod for estimation of serum adenosine deaminase. *Clin. Chem.* 1963; 9 (5): 620-5.

15. Monn E., Christiansen R.O. Guanilate kinase in man – multiple molecular forms. *Hum. Hered.* 1972; 22(1): 18-27.

16. Robertson B.C., Hoffee P.A. Purification and properties of purine nucleoside phosphorylase from Salmonella typhimurium. *J. Biol. Chem.* 1973; 248(6): 2040-3.

17. Schelling P., Folkers G., Scapozza L. A spectrophotometric assay for quantitative determination of kcat of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase substrates. *Anal. Biochem.* 2001; 295(1): 82-7.

18. Wang T.P., Sable H.Z., Lampen J.O. Enzymatic deamination of cytosine nucleosides. *J. Biol. Chem.* 1950; 184(1): 17-28.

19. Dyakova M.E. Features purine metabolism in patients with pulmonary tuberculosis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2016; 60(3): 36–41. (in Russian)

20. Pogosian L.H., Akopian J.I. Purine nucleoside phosphorylase. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2013; 59(5): 483-97. (in Russian)

21. Antonioli L, Colucci R, La Motta C, Tuccori M, Awwad O, Da Settimo F et al. Adenosine deaminase in the modulation of immune system and its potential as a novel target for treatment of inflammatory disorders. *Curr Drug Targets.* 2012; 13: 842-62.

References

1. Nasonov E.L., ed. *Rheumatology: Clinical recommendations.* [Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii]. Moscow; GJeOTAR-Media; 2017. (in Russian)

2. Bakshi J., Ismajli M., Rahman A. New therapeutic avenues in SLE. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology.* 2015; 29: 794-809.

3. Bengtsson A. A., Rönblom L. Systemic lupus erythematosus: still a challenge for physicians. *J. Intern Med.* 2017; 281: 52-64.

4. Xiao Liu, Haihong Qin, Jinhua Xu. The role of autophagy in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *International Immunopharmacology.* 2016; 40: 351-61.

5. Houssiau F. Thirty years of cyclophosphamide: assessing the evidence. *Lupus.* 2007; 16: 212-6.

6. Firestein G.S., Budd R.C., Gabriel S.E., McInnes I.B., O'Dell J.R., eds. *Kelley & Firestein's Textbook of Rheumatology.* 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2017.

7. Guma M., Tiziani S., Firestein G.S. Metabolomics in rheumatic diseases: desperately seeking biomarkers. *Nature Reviews Rheumatology.* 2016; 12(5): 269–81.

8. Hochberg M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.* 1997; 40: 1725.

9. Brunner H.I., Silverman E.D., Bombardier C., Feldman B.M. European Consensus Lupus Activity Measurement is sensitive to change in disease activity in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2003; 49(3): 335-41.

10. Karpishhenko A.I., ed. *Medical laboratory technologies.* Directory. [Meditsinskie laboratornye tekhnologii]. Spravochnik. Sankt-Peterburg: Intermedika; 2002. (in Russian)

Сведения об авторах:

Бедина Светлана Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. клинико-биохимической лаб., ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского»;

Трофименко Андрей Степанович, зав. клинико-биохимической лаб., ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского»; ассистент каф. госпитальной терапии, ВПТ с курсом клинической ревматологии ФУВ, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, канд. мед. наук;

Мозговая Елена Эдуардовна, вед. науч. сотр. клинико-биохимической лаб., ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского», канд. мед. наук;

Зборовская Ирина Александровна, директор института, ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского»; каф. госпитальной терапии, ВПТ с курсом клинической ревматологии ФУВ, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор мед. наук, проф.