

14.00.00 Medical science

14.00.00 Медицинские науки

UDC 577.123.383:616.24

**Purine Bases in Blood Plasma of Patients with Chronic Pulmonary Diseases**<sup>1</sup> Larissa E. Muravluyova<sup>2</sup> Vilen B. Molotov-Luchanskiy<sup>3</sup> Dmitriy A. Kluyev<sup>4</sup> Rosa A. Bakenova<sup>5</sup> Ludmila A. Demidchik<sup>6</sup> Evgeniya A. Kolesnikova<sup>1</sup> Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40. Karaganda city, 100000

Dr (Biology), Professor

E-mail: lem2403@imail.ru

<sup>2</sup> Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40. Karaganda city, 100000

Dr (Medicine), Professor

E-mail: viken53@mail.ru

<sup>3</sup> Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40. Karaganda city, 100000

PhD (Medicine), Assistant Professor

E-mail: mythrandir79@mail.ru

<sup>4</sup> Medical Center of the Presidential Administration of the Republic of Kazakhstan

Moskovskaya street, 37/1, Astana city, 0100000

Dr (Medicine)

E-mail: roza.bakenova@mail.ru

<sup>5</sup> Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40. Karaganda city, 100000

Assistant

E-mail: kolesnikova.evgeniya@gmail.com

<sup>6</sup> Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40. Karaganda city, 100000

Assistant

E-mail: lusenok2008@mail.ru

**Abstract.** The article is focused on the study of purine bases and intermediates of purine catabolism in plasma of patients with chronic obstructive bronchitis and idiopathic interstitial pneumonia. Decrease of adenine and hypoxanthine in plasma of patients with idiopathic interstitial pneumonia was registered. Increase of guanine in plasma of patients with chronic obstructive pulmonary disease was established.

**Keywords:** purine bases; plasma; chronic obstructive pulmonary disease; idiopathic interstitial pneumonia.

**Введение.** В настоящее время активно изучается роль внеклеточного аденозина в развитии и прогрессировании хронических болезней легких [1]. Показано, что внеклеточный аденозин обладает дуалистичным характером действия: провоспалительным и защитным [2, 3, 4, 5]. При острой гипоксии повышение внеклеточной концентрации аденозина является защитным событием, ограничивающим воспалительный процесс. В то же время пролонгированный рост концентрации внеклеточного аденозина усугубляет течение патологического процесса в легких. Недавние исследования показали, что внеклеточный аденозин участвует в развитии фиброзного процесса в легких [5].

Анализ приведенных исследований показал безусловную перспективность дальнейшего изучения участия пуринов в механизмах развития и прогрессирования заболеваний легких.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение содержания пуриновых оснований и промежуточных интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и интерстициальной идиопатической пневмонией (ИИН).

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования явилась плазма крови больных и практически здоровых лиц (первичных доноров). Было сформировано 4 группы. В первую группу вошло 13 больных интерстициальной идиопатической пневмонией в возрасте от 28 до 56 лет, среди них 8 мужчин и 5 женщин. Во вторую группу вошли 14 больных ХОБЛ бронхитического типа в возрасте от 41 до 59 лет (мужчин – 9, женщин – 5). В третью группу вошло 7 больных ХОБЛ смешанного типа в возрасте от 47 до 63 лет, в том числе 5 мужчин и 2 женщины. В группу контроля вошло 32 практически здоровых донора аналогичных возрастных групп. У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на исследование.

Все пациенты находились на стационарном лечении и обследовании. Синдром бронхиальной обструкции был выявлен у 100 процентов больных при поступлении в стационар. Дыхательная недостаточность (ДН) устанавливалась на основании синдрома одышки в состоянии покоя и при незначительной физической нагрузке, представляющей собой ходьбу на 100 метров медленным темпом (скорость движения не выше 5 шагов в минуту). ДН I степени диагностирована у – 25 %, ДН II степени – 75 % пациентов. Верификация диагноза проводилась по комплексу общепринятых критериев. Диагностика основывалась на анамнестических данных, клинических проявлениях и результатах исследования вентиляционной функции легких. У 100 процентов больных выявлена привычка к курению табака. Количество выкуриваемых сигарет (пачек/лет) составляло в среднем 200/5. Индекс курящего человека (ИКЧ) составил > 200 у 67 % больных 2-й группы и у 73 % больных, вошедших в 3 группу. У 45 % пациентов отмечены профессиональные вредности (стаж подземной работы на угольных шахтах свыше 10 лет, работа на деревообрабатывающих предприятиях, цементных заводах), атмосферные загрязнения (жители городов Темиртау, Караганды, Балхаша составили 79 % обследованных).

Основными клиническими проявлениями ХОБЛ были кашель с мокротой и одышка. Кашель отмечался на протяжении всего дня, реже только в ночное время. Количество мокроты было небольшим, вне обострений её характер был слизистым. У 54 % больных отделение мокроты происходило после продолжительного кашля.

Всем больным проводилось цитологическое исследование мокроты, которое обнаруживало наличие клеток альвеолярного эпителия, эластические волокна, сидерофаги. У 54 % больных 2 группы и 61 % больных 3 группы в период обострения на момент поступления в стационар обнаруживалось большое количество лейкоцитов, представленных в основном нейтрофилами, а также пробки Дитрикса. Это расценивалось как свидетельство гнойно-воспалительного процесса в слизистой бронхиального дерева.

При исследовании крови (общий анализ) у 67 % больных ХОБЛ бронхитического типа в стадии обострения наблюдался нейтрофильный лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом и увеличение СОЭ в пределах от 15 до 39 мм в час. При смешанном типе ХОБЛ в стадии обострения СОЭ повышалась от 14 до 27 мм/час. При стабильном течении ХОБЛ существенных изменений содержания лейкоцитов периферической крови не отмечалось. У пациентов с ДН II степени с развитием гипоксемии наблюдался полицитемический синдром с изменением гематокрита (гематокрит > 45 % у женщин и > 50 % у мужчин), повышение числа эритроцитов (от 5,5 до  $6,3 \times 10^{12}/л$ ), высокий уровень гемоглобина (от 175 до 190 г/л), низкая СОЭ (в пределах 1-2 мм/час).

Электрокардиография выявила у 30 % больных признаки гипертрофии правых отделов сердца.

В качестве основного критерия диагноза ХОБЛ использовался золотой диагностический стандарт – выявление частично необратимой бронхиальной обструкции при исследовании вентиляционной функции легких. Объем форсированного выдоха в первую секунду (FEV<sub>1</sub>) был снижен у 100 процентов больных. Для оценки обратимости

обструктивных нарушений вентиляции проводили фармакологическую пробу. Исходное значение FEV<sub>1</sub> сравнивали с тем же параметром через 30–45 мин после ингаляции симпатомиметика (400 мкг) или холинолитика (80 мкг), или комбинации бронхолитиков разного механизма действия. Прирост FEV<sub>1</sub> составлял менее 10 %, что расценивалось как необратимость бронхиальной обструкции. С этой же целью проводилась пикфлоуметрия (n=17). Прирост пиковой скорости выдоха менее чем на 10 % отмечался у пациентов 2-й группы и менее чем на 15 % у больных 3-й группы.

В группе больных ИИП наблюдалось хроническое персистирующее течение болезни с чередованием обострений и ремиссий и, в отличие от ХОБЛ, преобладание пациентов более молодого возраста (41,9±14,4 лет). В группе ИИП курящих на момент обследования не было, но ранее курили 20,3 % больных, от 3 до 25 сигарет в день. Стаж курения колебался от 6 мес. до 15 лет. Индекс сигаретной пачки в среднем составил 18,6 ±2,3. Больные прекратили курить за 10–12 месяцев до начала обследования. При ИИП одышка имела преимущественно персистирующий характер, постепенно ограничивая физическую активность. Это приводило к тому, что даже в период ремиссии заболевания дискомфорт и одышка сохранялись при более низких уровнях физической активности, чем у здоровых людей того же возраста. Кашель при ИИП отмечался у всех больных. Значительно реже встречались боли и дискомфорт в грудной клетке (20 %). У всех пациентов при аускультации выслушивалась нежная крепитация, напоминающая треск целлофана, локализованная преимущественно в базальных отделах легких. Эпизоды кровохарканья отмечались у 6 % больных. Многие пациенты длительно пребывали в состоянии депрессии (23 % из общего количества пациентов группы). Данные рентген-компьютерной томографии обнаруживали симптом «матового стекла». Морфологическими вариантами интерстициальных пневмоний были лимфоцитарный, а также – респираторный бронхиолит, ассоциированный с интерстициальной пневмонией.

Кровь отбирали натощак в утренние часы венопункцией, стабилизировали гепарином. После центрифугирования при 3 тыс. оборотах в минуту плазму отделяли от клеточной популяции и использовали для определения. Проводилось определение содержания интермедиатов пуринового обмена: гуанина (Г), гипоксантина (ГКс), аденина (А), ксантина (Кс) и мочевой кислоты (МК). Метаболиты пуринового обмена исследовались по методу Е.В. Орешникова и соавторов [7]. Концентрацию пуриновых оснований выражали в единицах экстинкции (ед. экст.), для определения активности различных звеньев работы ксантиноксидазы, катализирующей окисление гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту, были рассчитаны индексы соотношения концентраций всех трех продуктов данной реакции. Согласно исследованиям Е.В. Орешникова и соавторов [7], отношение Кс/ГКс отражает активность первой фазы работы ксантиноксидазы, отношение МК/Кс – второй фазы, а отношение МК/ГКс – общую активность фермента. Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Манна – Уитни.

**Обсуждение.** Полученные данные показали различия в содержании пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных с ИП и ХОБЛ.

Снижение содержания аденина и гипоксантина у больных ИП может быть обусловлено рядом причин. Вероятной причиной может усиление конверсии гипоксантина в аденин и аденина в аденозин с последующим транспортом в клетки. Другой причиной может быть усиление «путей спасения»: превращение аденина, гуанина или гипоксантина, соответственно, в АМФ, ГМФ, ИМФ. Эти процессы направлены на сохранение пула АТФ, необходимо для осуществления процессов репарации клеток легочного эпителия. В то же время усиленное образование нуклеозидов и нуклеотидов, в свою очередь, может привести к изменению в системе пуринергической регуляции, что, в свою очередь, может результативаться в хронизации патологического процесса в легких [9, 10, 11].

У больных ХОБЛ в плазме крови зафиксировано изменение, главным образом, гуанина. По всей вероятности, увеличение внеклеточного гуанина обусловлено его усиленным выходом из клеток в условиях гипоксии. Гуанозин, образующийся из гуанина, способен индуцировать синтез различных факторов, в том числе участвующих в патогенезе ХОБЛ [12]. Зафиксированная нами тенденция к снижению аденина хорошо согласуется с ранее полученными данными об уменьшении концентрации аденозина в плазме крови

больных с ХОБЛ [13], причем, по мнению авторов, это является одним из патогенетических механизмов развития ХОБЛ. Увеличение активности ксантинооксидазы также рассматривается как один из механизмов повреждения эпителия легочной ткани [14].

**Результаты** определения содержания пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов приведены в таблице. Из данных таблицы 1 следует, что в плазме крови больных ИИН наблюдалась тенденция к снижению содержания гуанина и ксантина относительно контроля. Уровень гипоксантина в плазме крови больных этой группы был достоверно ниже такового контроля в 1.57 раза. Содержание аденина было достоверно ниже значения контроля на 46 %. В плазме крови больных ХОБЛ бронхитического типа наблюдалась тенденция к увеличению содержания гуанина и ксантина относительно значений контроля, тогда как аденин и гипоксантин были ниже таковых контроля. В плазме крови больных ХОБЛ смешанного типа зафиксирован рост содержания гуанина и ксантина относительно контроля (на 26 % и 28 %). Этот показатель превышал таковой у больных с ХОБЛ бронхитического типа. Содержание гипоксантина незначительно снижалось относительно контроля. Уровень аденина был сопоставим с контролем.

Таблица

**Содержание пуриновых оснований и метаболитов катаболизма пуринов в плазме крови больных ХОБЛ и интерстициальной пневмонией (М+м)**

Показатель	Контроль (n=25)	ИП (n=13)	ХОБЛ бронхотический тип (n=14)	ХОБЛ Смешанный тип (n=7)
Гуанин	146,85 ± 8,4	130,38±27,26	164 ±59,4	184,75 ±43,7
Гипоксантин	164,71 ± 27,06	105,1 ±22,67 <sup>#</sup>	134,9±49,08	156 ±34,4 <sup>*</sup>
Аденин	122,86 ± 19,33	84,14 ±20,01 <sup>#</sup>	110,3±40,36	128±21,6
Ксантин	142,93 ± 23,39	122,91±25,97 <sup>#</sup>	156,6±57,12	183±35,6 <sup>#</sup>
Кс/ГКс	0,89 ± 0,15	1,179±0,091	1,17±0,078 <sup>#</sup>	1,18±0,039 <sup>#</sup>
МК/ГКс	1,47 ± 0,2	1,33±0,142	1,32±0,15	1,29±0,1 <sup>*</sup>
МК/Кс	1,22 ± 0,13	1,138±0,091	1,13±0,085	1,1±0,079

Примечание: <sup>#</sup>достоверность различий с группой контроля  $p \leq 0,1$  <sup>\*</sup>достоверность различий с группой ХОБЛ бронхотического типа  $p \leq 0,1$

Степень достоверности различий между группами определяли с помощью критерия серий Вальда Вольфовица и двухвыборочного критерия Колмогорова-Смирнова. Различия считались статистически достоверными, при  $p \leq 0,1$  в обоих случаях анализа.

Был проведен расчет отношения ксантин / гипоксантин, характеризующий активность ксантинооксидазы. Как показали полученные результаты, у больных всех трех групп зафиксировано достоверное увеличение ксантинооксидазы, превышающее таковое контроля. Но при этом общая активность фермента снижалась.

**Выводы.** Полученные нами данные показали достаточно выраженные различия спектра пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных ХОБЛ и ИИН. По нашему мнению, одним из перспективных направлений исследования участия пуринов в развитии патологии легких является изучение роли предшественников пуриновых нуклеотидов.

**Примечания:**

1. К вопросу о роли аденозина в механизмах развития и прогрессирования болезней легких / Л.Е. Муравлева, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Клюев О.А. Понамарева, и др. [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования. 2012. Т. 4; URL: [www.science-education.ru/104-6842](http://www.science-education.ru/104-6842) (дата обращения 26.08.2012).

2. Zhou Y., Schneider D. J., Blackburn M.R. Adenosine signaling and the regulation of chronic lung disease // *Pharmacol Ther.* 2009. Vol.123. Issue 1. P. 105–116.
3. Eckle T., Koeppen M., Eltzschig H. K. Role of Extracellular Adenosine in Acute Lung Injury // *Physiology.* 2009. Vol. 24. N 5. P. 298-306.
4. Linden A., Eltzschig Y.K. Role of pulmonary adenosine during hypoxia: extracellular generation, signaling and metabolism by surface adenosine deaminase/CD26 // *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2007. Vol. 7, No. 9. P. 1437-1447.
5. Mohsenin A., Blackburn M.R. Adenosine signaling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease // *Curr Opin Pulm Med.* 2006. Vol.12. N1. P. 54-59.
6. Zhong H., Belardinelli L., Maa T., Zeng D. Synergy between A2B adenosine receptors and hypoxia in activating human lung fibroblasts // *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005. Vol. 32. P. 2–8.
7. Орешников Е.В., Гунин А.Г., Мадьянов И.В., Орешникова С.Ф. Пурины крови и ликвора при беременности // *Проблемы репродукции.* 2008. №6. С. 74-80.
8. Schmidt A.P., Souza D.O. The Role of the Guanine-Based Purinergic System in Seizures and Epilepsy // *The Open Neuroscience Journal.* 2010. Vol. 4. P. 102-113.
9. Zhou Y., Murthy J.N., Zeng D., Belardinelli L., Blackburn M.R. Alterations in adenosine metabolism and signaling in patients with chronic obstructive pulmonary disease and idiopathic pulmonary fibrosis [Электронный ресурс] *PLoS ONE* 5(2): e9224. doi:10.1371/journal.pone.0009224 (дата обращения 21.08. 2012).
10. Hewan A. The Role of Purinergic Signaling on Deformation Induced Injury and Repair Responses of Alveolar Epithelial Cells /Hewan A. Belete, Rolf D. Hubmayr\*, Shaohua Wang, Raman-Deep Singh MR [Электронный ресурс] *PLoS ONE* 6(11): e27469. doi:10.1371/journal.pone.0027469 (дата обращения 21.08. 2012).
11. Esther C.R.Jr., Alexis N.E., Picher M. Regulation of Airway Nucleotides in Chronic Lung Diseases Purinergic Regulation of Respiratory Diseases // *Subcellular Biochemistry.* 2011. Vol. 55. P. 75–93.
12. Extracellular guanosine and GTP promote expression of differentiation markers and induce S-phase cell-cycle arrest in human SH-SY5Y neuroblastoma cells / Guarnieri S, Pilla R, Morabito C, Sacchetti S et al. *Int J Dev Neurosci.* 2009. 27 (2): P. 135-47.
13. Saadjian A.Y., Paganelli F., Gaubert M., Levy S., Guieu R.P. Adenosine plasma concentration in pulmonary hypertension // *Cardiovasc Res.* 1999. Vol. 43. N 1. P. 228-236.
14. Boueiz A., Damarla M., Hassoun P.M. Xanthine oxidoreductase in respiratory and cardiovascular disorders // *AJP - Lung Physiol.* 2008. Vol. 294. N 5. P. 830-840.

УДК 577.123.383:616.24

### **Пуриновые основания в плазме крови больных с хроническими болезнями легких**

- <sup>1</sup>Лариса Евгеньевна Муравлёва  
<sup>2</sup>Вилен Борисович Молотов-Лучанский  
<sup>3</sup>Дмитрий Анатольевич Ключев  
<sup>4</sup>Роза Агубаевна Бакенова  
<sup>5</sup>Людмила Андреевна Демидчик  
<sup>6</sup>Евгения Александровна Колесникова

<sup>1</sup> Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан  
 Ул. Гоголя, 40, Караганда, 100000  
 Доктор биологических наук, профессор  
 E-mail: lem2403@mail.ru

<sup>2</sup> Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан  
 Ул. Гоголя, 40, Караганда, 100000  
 Доктор медицинских наук, профессор  
 E-mail: viken53@mail.ru

<sup>3</sup> Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан  
Ул. Гоголя, 40, Караганда, 100000  
Кандидат медицинских наук, доцент  
E-mail: mythrandir79@mail.ru

<sup>4</sup> Медицинский центр Управления делами Президента Республики Казахстан  
ул. Московская, 37/1, Астана  
доктор медицинских наук  
E-mail: roza.bakenova@mail.ru

<sup>5</sup> Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан  
Ул. Гоголя, 40, Караганда, 100000  
E-mail: kolesnikova.evgeniya@gmail.com

<sup>6</sup> Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан  
Ул. Гоголя, 40, Караганда, 100000  
E-mail: lusenok2008@mail.ru

**Аннотация.** Статья посвящена изучению пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных с хроническим обструктивным бронхитом и идиопатической интерстициальной пневмонией. В плазме крови больных с идиопатической интерстициальной пневмонией установлено снижение аденина и гипоксантина. В плазме крови больных с хроническим обструктивным бронхитом обнаружено увеличение гуанина.

**Ключевые слова:** пуриновые основания; плазма; хроническая обструктивная болезнь легких; идиопатическая интерстициальная пневмония.