

- gress – China 21- 26 May, 2000, 337 (PT 061 A).
8. Gratosos J., Collado A., Filella X. et al. Serum cytokines (IL-6, TNF- α , IL-1, IF- γ) in ankylosing spondylitis. Br. J. Rheum., 1994, 33, 10, 927-931.
 9. Toussiot E., Lafforquie P., Boucraut J. et al. Serum levels IL-1, TNF- α , IL-2 soluble receptors in ankylosing spondylitis. Rheumatol. Int., 1994, 13, 5, 175-180.
 10. Veroz R., Munoz-Villanueva M.C., Munoz E. et al. Clinical features of activity and their relationship with acute phase proteins and cytokin levels in patients with spondyloarthritis. Материалы XIV конгресса Европейской лиги борьбы с ревматизмом. Scotland, 6-10 June 1999, 268 (1137).

Abstract.

The results of clinic and immunologic examinations (TNF- α , IL-1, IL-6, IF- α and anti-DNA) in 100 pts with ankylosing spondylitis (AS) are presented. The terms of diagnosis, the peculiarities of process activity in AS have been studied among sick men from 1960 to 1979 and 1980 to 1999. The diagnosis of AS remains late, that can be caused by low activity in debut of disease in this group. The activity of AS influenced on the prognosis essentially. The levels of TNF- α and IL-1 in examined pts were increased but their correlations with ESR and C-reactive protein were weak. The level of IF- α decreased really. For the first time the immunomodulator Leukinferon used in complex treatment of the pts resulted the real lowering of clinic and laboratory activity signs in the most of them.

Key words: ankylosing spondylitis, activity, cytokines, leukinferon.

Поступила 21.06.01

УДК: 616/72-002-022-07

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АЛЬБУМИНА У БОЛЬНЫХ РЕАКТИВНЫМ АРТРИТОМ

Л.А. Соколова

Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

Резюме.

Цель. Оценить содержание альбумина и его функциональные особенности в сыворотке и синовиальной жидкости больных реактивным артритом (РеА).

Материал и методы. В исследование включены 96 больных в возрасте от 21 до 44 лет (64 муж, 32 жен) с достоверным диагнозом РеА 2-3 степени активности. Определяли общую концентрацию (ОКА), эффективную концентрацию (ЭКА) альбумина, резерв связывающей способности альбумина (РСА) и индекс токсичности (ИТ) в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных. В качестве флуоресцентных зондов использовали краситель К-35 в составе «Зонд-альбумина» (НИМВЦ «Зонд», г.Москва).

Результаты. Содержание ОКА в сыворотке крови больных РеА соответствует концентрации ОКА здоровых лиц. Выявлены нарушения функциональной активности альбумина сыворотки и синовиальной жидкости: снижение ЭКА, уменьшение РСА и повышение ИТ. Наиболее информативным является показатель РСА, имеющий наименьший коэффициент вариации. Изменения функциональной активности альбумина связаны с длительностью РеА. После проведения антибактериальной терапии наблюдается улучшение показателей альбуминового теста.

Заключение. Нарушение функциональной активности альбумина является патогенетическим звеном РеА. Выявленное улучшение связывающих свойств альбумина при проведении этиотропной терапии позволяет предложить использование альбуминового теста как дополнительного лабораторного критерия для оценки динамики заболевания.

Ключевые слова: реактивный артрит, общая концентрация альбумина, эффективная концентрация альбумина, сыворотка, синовиальная жидкость.

Актуальной проблемой современной ревматологии являются воспалительные заболевания суставов. Одну из ведущих позиций среди них занимает реактивный артрит (РеА). Он имеет высокое социальное значение в связи с растущей заболеваемостью, поражением лиц молодого возраста, нередкой хронизацией процесса. Поэтому особую значимость приобретает совершенствование методов диагностики и лечения заболевания.

К концу 90-х годов появилось большое количество работ, подтверждающих участие альбумина в воспалительном процессе [1, 7]. Альбумин - стабильный белок плазмы

крови, осуществляющий транспортную функцию гормонов, витаминов, жирных кислот, токсинов, лекарств и т.д. [6, 8, 9]. Многие лекарственные препараты, в частности, нестероидные противовоспалительные средства, способны связываться с альбумином. Образование этой связи обеспечивает направленный перенос препаратов и создание их повышенной концентрации в очаге воспаления. Образование обратимого комплекса лекарственный препарат-альбумин пролонгирует бактериостатическое действие ряда противомикробных средств, при этом связанная лекарственная фракция является неактивной, а свободная - может приводить к побочным и токсическим действиям [4, 10].

Альбумин является важным звеном в системе детоксикации, поскольку переносит к гепатоцитам эндогенные метаболиты и экзогенные яды. При различных видах пат-

Адрес для переписки:

Л.А. Соколова,

620109, г. Екатеринбург, а/я 182

тел.: 68-08-45, факс (3432) 58-88-98

тологии нарушается связывающая способность альбумина, что может быть причиной интоксикации организма. Следовательно, определение степени нарушения свойств альбумина может указывать на уровень интоксикации организма больного.

Участие альбумина в развитии воспаления и в хронизации патологических процессов предопределило **цель исследования:** оценить флуоресцентным методом содержание и функциональные свойства альбумина в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных урогенным РеА.

Материал и методы исследования.

Обследовано 96 больных в возрасте от 21 до 44 лет (средний возраст $32,2 \pm 5,4$ года), находившихся на лечении в ревматологическом отделении с диагнозом РеА, урогенная форма, соответствующих критериям, предложенным на III международном конгрессе по РеА (Берлин, 1995). Из них у 57 (59,4%) человек была первая атака, у 28 (29,1%) - рецидив и у 11 (11,5%) - хроническое течение РеА. Продолжительность болезни у пациентов с первой атакой к моменту исследования колебалась от 8 дней до 11 мес, составив в среднем $1,4 \pm 0,6$ мес. Соотношение мужчины : женщины было 2:1. В контрольную группу вошли подобранные по полу и возрасту здоровые лица: 15 женщин и 26 мужчин от 22 до 48 лет (средний возраст $33,7 \pm 5,9$ года). Всем больным проводилась медикаментозная терапия нестероидными противовоспалительными препаратами и антибиотиками из группы макролидов.

Для определения функциональной активности альбумина сыворотки крови и синовиальной жидкости применяли метод флуоресцентных зондов [3, 5]. Материалом для исследования служили сыворотка крови, взятая из периферической вены утром натощак, и синовиальная жидкость, полученная у больных при пункции коленного сустава. Измерения проводили с помощью набора реактивов «Зонд-альбумин» (НИМВЦ «Зонд», г. Москва) на анализаторе концентрации липидов АКЛ-01.

Метод основан на специфическом взаимодействии флуоресцентных органических соединений с альбумином: к сыворотке крови добавляются реактивы, содержащие флуоресцирующее соединение, после чего измеряется интенсивность флуоресценции. При pH 4,0 интенсивность флуоресценции реактива в присутствии неонного детергента зависит практически только от количества молекул альбумина в пробе. Эта интенсивность, выраженная в единицах концентрации (г/л), называется «общая концентрация альбумина» (ОКА). При физиологическом pH интенсивность флуоресценции реактива зависит не только от концентрации альбумина, но и от физико-химических свойств альбуминовой глобулы, в т.ч. от присутствия лигандов (ме-

таболитов, токсинов). Эту интенсивность флуоресценции также выражают в единицах концентрации (г/л) и называют «эффективная концентрация альбумина» (ЭКА). Таким образом, под «эффективностью» здесь подразумевается эффективность связывания лигандов.

Для определения удельной - не зависящей от ОКА - связывающей активности альбумина, рассчитывали относительные показатели - резерв связывающей способности альбумина (РСА) и индекс токсичности (ИТ) [2]:

$$РСА = ЭКА / ОКА \times 100\%;$$

$$ИТ = (ОКА / ЭКА) - 1.$$

Статистическая обработка материала проводилась с использованием средних величин, стандартных отклонений, критерия Стьюдента. Определение связи между параметрами осуществлялось с использованием коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты.

Из представленных в табл. 1 данных следует, что по-

Таблица 1

Показатели альбуминового теста сыворотки крови больных РеА ($M \pm \sigma$) в сравнении с контрольной группой

Группы	ОКА, г/л	ЭКА, г/л	РСА, %	ИТ
Больные РеА (n=96)	$36,06 \pm 12,9$	$22,91 \pm 11,3^*$	$62,86 \pm 13,8^*$	$0,62 \pm 0,39^*$
Контрольная группа (n=41)	$38,90 \pm 10,9$	$33,71 \pm 12,8$	$86,70 \pm 9,6$	$0,15 \pm 0,06$

Примечание: * - $p < 0,001$

Таблица 2

Показатели альбуминового теста сыворотки крови больных РеА при первичной атаке и хроническом течении ($M \pm \sigma$)

Группы	ОКА, г/л	ЭКА, г/л	РСА, %	ИТ
Первая атака (n=57)	$37,12 \pm 10,7$	$27,74 \pm 9,8^*$	$71,16 \pm 12,1^*$	$0,43 \pm 0,18^*$
Хроническое течение (n=11)	$35,11 \pm 14,3$	$20,82 \pm 9,1$	$51,19 \pm 9,9$	$0,77 \pm 0,31$

Примечание: * - $p < 0,05$

Диапазон вариаций и средние значения показателей альбуминового теста в сыворотке крови и в синовиальной жидкости больных РеА

Показатели	Сыворотка крови		Синовиальная жидкость	
	$M \pm \sigma$	Коэффициент вариации (%)	$M \pm \sigma$	Коэффициент вариации (%)
ОКА, г/л	$36,06 \pm 11,3$	15,21	$31,72 \pm 8,82^*$	23,10
ЭКА, г/л	$22,91 \pm 12,9$	21,94	$18,04 \pm 14,7^{**}$	24,75
РСА, %	$62,86 \pm 13,8$	11,50	$56,33 \pm 10,8^{**}$	9,41
ИТ	$0,62 \pm 0,39$	33,42	$0,79 \pm 0,39^{**}$	23,58

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ при сравнении показателей сыворотки крови и синовиальной жидкости больных РеА

казатель ОКА у больных РеА в целом соответствует концентрации ОКА здоровых лиц. Однако обращает внимание наличие нарушений функциональной активности альбумина сыворотки крови. Основные изменения при РеА претерпела ЭКА, которая оказалась достоверно сниженной до $22,91 \pm 11,3$ г/л ($p < 0,01$). В связи с этим закономерно падение РСА на 23,8% и повышение ИТ в 4,1 раза.

Корреляционной зависимости между показателями альбуминового теста сыворотки крови и активностью воспаления не получено.

Проведенное сопоставление показателей альбуми-

нового теста при первичной атаке и хроническом течении РеА продемонстрировало усугубление нарушений связывающей активности альбумина сыворотки крови при хронизации заболевания: установлено достоверное снижение ЭКА и РСА и повышение ИТ (табл.2).

Стоит отметить достаточно высокую ОКА в синовиальной жидкости больных РеА, составляющую 88% от сывороточной ОКА, что отражает повышенную проницаемость сосудистой стенки (табл.3). Значение ЭКА синовиальной жидкости также было снижено и составило только

Таблица 4

Показатели альбуминового теста у больных с
первичной атакой РеА (n=57) через 3 недели после
начала терапии (M±σ)

Показатели	До лечения	Через 3 недели	p
ОКА, г/л	37,1±10,7	40,25±14,4	нд
ЭКА, г/л	27,7±9,8	28,75±8,8	нд
РСА, %	71,2±12,1	81,5±11,8	<0,05
ИТ	0,43±0,18	0,29±0,21	<0,05

78,7% от сывороточной ЭКА. Вследствие этого показатель РСА оказался достоверно более низким, а ИТ - более высоким в экссудате по сравнению с параметрами сыворотки крови. Обнаружено, что показатели ОКА и ЭКА достаточно вариабельны как в крови, так и в синовиальной жидкости больных РеА. Наиболее устойчивым является интегральный показатель - РСА, коэффициент вариации кото-

рого в образцах биожидкостей составили 11,5% и 9,41% соответственно.

Нами определены показатели альбуминового теста в сыворотке крови 57 больных с первичной атакой РеА до лечения и через три недели после курса антибактериальной терапии. При исследовании параметров в динамике достоверно повысился РСА на 14,5%, а ИТ снизился в 1,5 раза (p<0,05) (табл.4).

Обсуждение.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных урогенным РеА нарушаются функциональные свойства альбумина сыворотки крови и, в большей степени, синовиальной жидкости. В условиях патологического процесса модифицированный альбумин теряет связывающую активность. Наибольшие негативные сдвиги претерпевают параметры ЭКА, РСА и ИТ. Показатель РСА, имея также минимальный коэффициент вариации, является наиболее информативным индикатором заболевания.

Максимальные изменения связывающей способности альбумина, обнаруженные в синовиальной жидкости, свидетельствуют о более глубоких нарушениях его функциональных свойств при переходе из крови в воспалительный выпот.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить снижение функциональной активности альбумина сыворотки крови и синовиальной жидкости у больных РеА по сравнению с лицами контрольной группы. Данный тест может служить дополнительным лабораторным критерием, позволяющим следить за развитием заболевания.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Грызунов Ю. А., Добрецов Г. Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине, кн. 2. М., «ГОЭТАР», 1998, 439.
2. Грызунов Ю. А., Миллер Ю. И. Флуоресцентный способ определения массовой концентрации альбумина сыворотки крови человека. Клини. лаб. диагност., 1994, 5, 27 - 31.
3. Грызунов Ю. А., Лукичева Т. И. Правильность и воспроизводимость флуоресцентного метода определения массовой концентрации альбумина сыворотки крови человека. Клини. лаб. диагност., 1994, 5, 25 - 27.
4. Комарова М. Н., Грызунов Ю. А. Строение молекулы альбумина и ее связывающих центров (обзор литературы). В кн. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине, книга 2. М., «ГОЭТАР», 1998, 28-50.
5. Миллер Ю. И., Добрецов Г. Е. Молекулярные основы флуоресцентного метода определения связывающей емкости альбумина сыворотки крови. Клини. лаб. дело, 1999, 3, 20 - 23.
6. Титов В. Н. Альбумин, транспорт насыщенных жирных кислот и метаболический стресс-синдром (обзор литературы). Клини. лаб. диагност., 1999, 4, 3 - 11.
7. Цвиренко С. В., Андреева О. Л. Флуоресцентный метод исследования свойств альбумина и липопротеинов в клинической оценке состояний организма. Екатеринбург, 1999, 125.
8. Череп С. И. Транспортная функция сывороточного альбумина. Бухарест: Изд-во Акад. Соц. Респуб. Румынии, 1985, 183.
9. Birkett D. J., Wancioimolrus S. Protein binding and drug transport. In: Tillement J. P., Lindenlaub E. (eds). FK chataur. - Verlag, Stuttgart, 1985, 11 - 23.
10. Brawn J. R., Shockey P. Protein interactions. Jost P. and Griffith O. H. eds. Illey, N.-Y., 1982, 1, 25 - 28.

Abstract.

Objective. To evaluate concentration and behavioural properties of albumin in serum and synovial fluid of pts with reactive arthritis (ReA).

Material and methods. 96 pts in the age 21 - 44 (M:F=64:32) with reliable ReA 2 - 3 stage of activity were studied. We have measured general concentration of albumin (AGC), effective concentration of albumin (AEC), remaining potential of albumin coupling ability (RPACA) and toxic index (TI) in serum and in synovial fluid. A set of fluorescent probes with K-35 paint was used.

Results. AGC in serum of pts with ReA was the same as within healthy controls. Reliable disorders of albumin activity resulted in decreasing of AEC and PAC, increasing of TI in serum and synovial liquid in ReA pts were observed. We have found most useful to be the RPACA parameter as it had the lowest coefficient of variation. Changes in albumin activity correlates with duration of disease. After antibacterial therapy parameters of albumin came better.

Conclusion. Disorder of albumin activity is a pathogenic part of reactive arthritis. Improvement of albumin coupling properties after antibacterial therapy allows to propose the test as an additional criteria to evaluate of course of disease state.

Key words: reactive arthritis, albumin general concentration, albumin effective concentration, serum, synovial fluid.