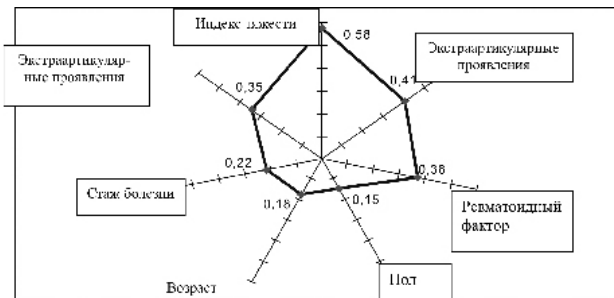


некоторыми клинико-лабораторными особенностями РА при помощи коэффициента корреляции Спирмена (рис. 3).

Рис. 3. Связь показателей стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови с клинико-лабораторными особенностями болезни



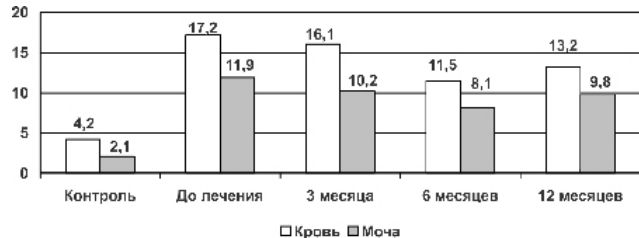
При проведении корреляционного анализа уровня показателей стабильных метаболитов оксида азота и некоторых клинических особенностей болезни отмечена прямая сильная корреляция уровня показателей стабильных метаболитов оксида азота с увеличением индекса тяжести болезни ($r=0,58$; $p=0,049$), наличием экстраартикулярных проявлений ($r=0,41$; $p<0,001$), наличием РФ ($r=0,38$; $p<0,001$), наличием сопутствующей артериальной гипертензии ($r=0,35$; $p<0,01$).

Таким образом, концентрация стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови больных РА нарастала при увеличении тяжести и активности РА, числа системных проявлений и титров РФ. При этом отсутствовала связь между уровнем стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови и мочи и полом ($r=0,15$; $p>0,05$), возрастом ($r=0,18$; $p>0,05$) и стажем болезни ($r=0,22$; $p>0,05$). Полученные нами данные по содержанию метаболитов оксида азота показали их высокую корреляционную связь с индексом тяжести, экстраартикулярными проявлениями, серопозитивностью, и наличием сопутствующей артериальной гипертензии.

При изучении динамики показателей стабильных метаболитов оксида азота в процессе комбинированной терапии проспидином и метотрексатом было установлено, что к 3 месяцу лечения наблюдалась тенденция к снижению

уровня стабильных метаболитов оксида азота по сравнению с показателями до лечения, а к 6 месяцам лечения отмечено достоверное снижение показателей стабильных метаболитов оксида азота (рис. 4).

Рис. 4. Динамика показателей стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови и мочи у больных РА в процессе комбинированной терапии



К 12 месяцам комбинированной терапии уровень стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови и мочи возрастал, но продолжал оставаться ниже, чем до начала лечения.

Таким образом, определение стабильных метаболитов оксида азота у больных РА имеет определенное клиническое значение. Это проявляется в достоверном повышении их уровня у больных РА по сравнению с группой здоровых доноров, является показателем отражающим степень тяжести и наличие экстраартикулярных проявлений и РФ, а также может служить дополнительным критерием оценки эффективности проводимой терапии. Все это позволяет рекомендовать определение стабильных метаболитов оксида азота у больных РА в качестве дополнительного критерия активности процесса, системности поражения, и показателя эффективности проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследований // Биохимия.-1998.-т.63.-№7.-С.867-869.
2. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН.-2000.-№4.-С.3-5.
3. Малоч А.В., Майданник В.Г., Кубанова Э.Г. Физиологическая роль оксида азота в организме // Нефрология и диализ.-2000.-№1-2.-С.69-75.
4. Abramson S.B., Clancy R., Koehene C. et al. Nitric oxide mediates cytokine dependent susceptibility to oxidant injury in articular chondrocytes // J.Invest.Med.-1995.-Vol.43.-P.246-247.
5. McCartney-Francis N., Allen J.B., Mizel D.E. et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of Nitric oxide synthase // J.Exp.Med.-1993.-Vol.178.-P.749-754.

THE INDICES OF STABLE METABOLITES OF NITRIC OXIDE IN SERUM OF BLOOD AND URINE IN THE PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND ITS DYNAMICS UNDER THE INFLUENCE OF BASIC THERAPY

O. V. Simonova, B. F. Nemtsov, E. N. Sukhikh
(Kirov State Medical Academy, Russia)

It has been established that stable metabolites of NO are the additional criteria of the activity, system of lesion and effective therapy of rheumatic arthritis.

© АЛЕКСАНДРОВ А.В., МНАЦАКАНЯН С.Г., КОТЕЛЬНИКОВА О.В., АЛЕХИНА И.Ю., МАХАЧЕВ М.А., ГОНТАРЬ И.П. – 2007

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ИММУНОДИАГНОСТИКИ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А.В. Александров, С.Г. Мнацаканян, О.В. Котельникова, И.Ю. Алехина, М.А. Махачев, И.П. Гонтарь
(ГУ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, Волгоград, директор – д.м.н., проф., акад. РАМН А.Б. Зборовский)

Резюме. Показана возможность использования антител к аденозиндезаминазе для иммунодиагностики ревматоидного артрита.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, аденозиндезаминаза, иммунодиагностика.

Известно, что с активностью аденозиндезаминазы (АДА), являющейся ключевым ферментом пуринового метаболизма (ПМ), тесно связаны иммунологические

процессы в организме. Снижение активности АДА и следующие за этим многочисленные изменения, являющиеся результатом накопления в клетке токсических концент-

раций аденозина, дезоксиаденозина и соответствующих нуклеотидов, а также блокады рибонуклеотидредуктазы, приводят, в конечном счете, к остановке биосинтеза РНК, ДНК и гибели клеток. Учитывая характерные иммунологические нарушения при ревматоидном артрите (РА) и участие ПМ в патогенезе этого заболевания [4], можно предположить, что снижение энзиматической активности ряда ферментов пуринового метаболизма, в том числе и АДА, может быть обусловлено как влиянием метаболических нарушений, так и гиперпродукцией антител (АТ) к этим ферментам [2].

Целью исследования является усовершенствование иммунологической диагностики и дифференциальной диагностики ревматоидного артрита путем исследования процессов антителообразования к аденозиндезаминазе с использованием иммобилизированной формы магнитоуправляемого сорбента.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 142 больных с достоверным РА по критериям Американской коллегии ревматологов, 48 больных остеоартрозом (ОА) и 30 практически здоровых лиц в возрасте от 24 до 46 лет (19 женщин и 11 мужчин) доноров станции переливания крови, прошедших обычное обследование.

Среди обследованных больных РА было 100 (70,4%) женщин и 42 (29,6%) мужчины. Средний возраст больных – $46,8 \pm 3,2$ года. Степень активности патологического процесса определялась в соответствии с диагностическими критериями, рабочей классификацией РА и индексом DAS28 (Disease Activity Score), рекомендованным EULAR. I-ая степень активности РА установлена у 34 (24%), II-ая – у 88 (62%) и III-я – у 20 (14%) больных. Средняя продолжительность болезни – $12,4 \pm 3,8$ лет. Комплексное клинико-инструментальное и иммуно-биохимическое обследование больных позволило выявить у 44 (31%) больных РА системные проявления заболевания. На основании рентгенологических исследований суставов (по O.Steinbrocker) у 10 (7%) больных установлена I стадия поражения, у 82 (58%) II стадия, у 46 (32%) III стадия и у 4 (3%) IV стадия поражения суставов. У подавляющего большинства больных 136 (96%) выявлялся полиартрит. У 102 (72%) больных в сыворотке крови методом латекс-агглютинации обнаружен ревматоидный фактор (РФ).

Под наблюдением находились также 48 больных ОА, из которых 30 (62,5%) женщин и 18 (37,5%) мужчин. Средний возраст больных ОА – $49,4 \pm 6,5$ лет. Большинство больных (56%) было в возрасте свыше 50 лет. По данным рентгенологического метода обследования I стадия поражения суставов установлена у 18 (38%), II – у 26 (54%) и III – у 4 (8%) больных ОА. Средняя продолжительность заболевания – $10,3 \pm 3,2$ лет. По степени функциональной недостаточности суставов больные распределены следующим образом: ФНС-0 – 7 (15%), ФНС-1 – 34 (70%), ФНС-2 – 7 (15%) больных. Явления синовита выявлены у 27 (56%) больных ОА. Оligo- и моноартроз выявлены у 11 (23%) больных, полиостеоартроз – у 37 (77%). Узелковая форма ОА обнаружена у 12 (25%), безузелковая – у 36 (75%).

Антитела к АДА определялись иммуноферментным методом при иммобилизации антигена на микротитрационных полистироловых планшетах Immulon 2 (Dynatech Labs, Германия) и с использованием иммобилизированной формы магнитоуправляемых сорбентов (МС). Иммобилизацию АДА проводили методом эмульсионной полимеризации в потоке газообразного азота с включением магнитного материала в структуру полиакриламидного геля по методике И.П. Гонтаря с соавт. (1991) [1]. В качестве антигена использовался коммерческий препарат АДА производства «Sigma», США (Cat. № А 5043) с активностью 130 Ед/мг. Результаты учитывали на многоканальном спектрофотометре АС-8К при длине волны 450 нм, полученные значения выражали в условных единицах оптической плотности (е.о.п.). Наличие антител считалось положительным при превышении значений оптической плотности на 2 средних квадратических отклонения (SD) от значений контрольной группы.

Для определения активности АДА в сыворотке крови

использовалась методика R.G. Martinek (1963), основанная на калориметрическом определении аммиака с помощью фенолгипохлоритного реактива [3].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программного пакета «STATISTICA 6.0» (StatSoft, USA), согласно условиям применения статистических процедур. Значимыми считались результаты при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Общая активность АДА в группе здоровых лиц составила $8,67 \pm 0,32$ МЕ, средний уровень АТ к АДА составил $0,026 \pm 0,0031$ е.о.п. Амплитуда колебаний ферментативной активности АДА рассчитывалась по формуле $M \pm 2\sigma$ и составила $5,17-12,17$ МЕ; при определении АТ к АДА значимой оптической плотности $0,06$ е.о.п. ($M + 2\sigma$) в ELISA-тесте были приняты за верхнюю границу нормы (показатели, превышающие эти значения, считались положительными по АТ к АДА). Проведенные исследования существенных различий ферментных показателей и содержания антител к АДА в зависимости от пола и возраста не выявили.

У больных остеоартрозом (группа в целом) при поступлении на лечение по сравнению со здоровыми обнаружено повышение активности АДА ($p < 0,05$) (см. таб. 1). Достоверно значимых различий в содержании антител к АДА у больных ОА и в группе здоровых людей выявлено не было ($p > 0,05$). В 18,8% случаев отмечался повышенный уровень антител к АДА.

Таблица 1. Показатели активности АДА и содержание антител к АДА в сыворотке крови больных ОА и РА в зависимости от активности патологического процесса

Контингент обследуемых	Число наблюдений	Активность АДА M (SD)	Антитела к АДА M (SD)
Здоровые	30	8,67 (1,75)	0,026 (0,017)
Больные ОА (группа в целом)	48	9,43 (1,04)	0,037 (0,028)
Больные РА (группа в целом)	142	8,32 (3,34)	0,118 (0,095)
I степень активности РА	34	11,26 (3,15)	0,082 (0,029)
II степень активности РА	88	7,69 (2,44)	0,119 (0,065)
III степень активности РА	20	5,78 (1,22)	0,186 (0,048)

Сходство клинической картины воспалительных и дегенеративных заболеваний суставов, особенно на начальных этапах развития, затрудняет их дифференциальную диагностику. Сравнительный анализ РА и ОА показал, что у больных ОА (вся группа) и больных РА с минимальной степенью активности патологического процесса на фоне повышенной активности АДА (по сравнению с донорами, $p < 0,001$) отмечаются существенные различия в содержании АТ к АДА. Уровень антител к АДА при I степени активности РА значительно превышает соответствующие показатели у больных ОА ($p < 0,001$) и здоровых лиц ($p < 0,001$), тогда как различия между больными ОА и донорами незначимы ($p > 0,05$).

Таким образом, комплексное определение активности АДА и антител к АДА может служить дополнительным критерием в сложном процессе дифференциальной диагностики остеоартроза и РА на начальных стадиях заболевания с маловыраженными клиническими проявлениями. Изолированное же использование энзимных тестов с этой целью мало информативно.

У больных РА (группа в целом) по сравнению со здоровыми лицами обнаружено увеличение содержания АТ к АДА ($p < 0,001$) и практически неизменная активность АДА ($p < 0,1$) (таб. 1). Количество больных РА с повышенным уровнем АТ к АДА составило 55%.

При поступлении на стационарное лечение у больных РА с минимальной степенью активности (34 человека) по

сравнению со здоровыми лицами обнаружено повышение активности АДА ($p<0,001$), что может свидетельствовать об активации аденозинового цикла метаболизма нуклеотидов при устранении аденозина, и увеличение уровня АТ к АДА ($p<0,001$). Повышенные уровни АТ к АДА определялись в 30% случаев. Данная группа больных РА представляла особый интерес, так как клинко-лабораторная диагностика малосимптомных форм РА затруднительна. Проведенные сравнительные исследования информативности общепринятых лабораторных тестов и совместного определения активности АДА и содержания антител к АДА при минимальной активности РА свидетельствуют о большей диагностической значимости изучаемых показателей (табл. 2).

Таблица 2. Информативность лабораторных показателей у больных РА с I степенью активности процесса (n=34)

Показатели	Нормальные значения	Частота выявления патологических изменений, %
СОЭ	2–15 мм/час	29,4
С-реактивный белок	< 1:8 (титр)	35,3
Серомукоид	<0,18 г/л	11,8
ЦИК	< 4 ед	35,3
РФ	отрицательный	26,4
АНФ	отрицательный	14,7
Лейкоциты	<9,0x10 ⁹	11,8
Гемоглобин	120–140 г/л	8,82
Ig A	1,8–2,2 г/л	11,8
Ig G	10,0–12,0 г/л	44,1
Ig M	1,0–1,2 г/л	14,7
Активность АДА	5,13–12,21 МЕ	47,1
Антитела к АДА	до 0,06 е.о.п.	29,4

У больных РА со II степенью активности (88 человек) по сравнению со здоровыми лицами выявлено снижение активности АДА ($p<0,05$) и увеличение уровня АТ к АДА ($p<0,001$), причем число пациентов с повышенным уровнем аутоантител возросло до 50 (56,8%) человек. По сравнению с минимальной степенью активности патологичес-

кого процесса у больных РА с активностью II значительно ниже активность АДА ($p<0,001$) и выше содержание АТ к АДА ($p<0,01$).

У больных с максимальной степенью активности РА (20 человек) по сравнению со здоровыми выявлено снижение активности АДА ($p<0,001$) и значительное увеличение уровня АТ к АДА ($p<0,001$). Повышенные уровни АТ к АДА определялись у 18 (90%) пациентов из этой группы. У больных РА с III степенью активности по сравнению как с I-ой, так и со II-ой степенью (табл. 1) меньше активность АДА ($p<0,001$) и выше содержание АТ к АДА ($p<0,001$).

С увеличением активности заболевания происходит возрастание уровня определяемых антител на фоне снижения энзиматической активности АДА. Одной из причин подобных изменений может являться блокировка специфическими аутоантителами цитозольной и митохондриальной форм аденозиндеаминазы, появляющихся в сыворотке крови в процессе гибели клеток, а также части имеющейся в организме АДА, содержащейся во фракции плазматических мембран форменных элементов крови в виде комплекса с гликопротеидами, тормозя тем самым процесс внеклеточного превращения аденозина в инозин.

Таким образом, при РА обнаружена новая группа аутоантител – антитела к аденозиндеаминазе, определение которых в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием иммобилизированной формы магнитоуправляемого сорбента может использоваться для уточнения отдельных звеньев иммунопатогенеза РА, улучшения качества диагностики и дифференциальной диагностики данного заболевания. Полученные результаты позволяют рассматривать совместное определение активности АДА и АТ к данному ферменту в качестве дополнительных диагностических признаков при уточнении степени активности патологического процесса при РА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гонтарь И.П., Зборовский А.Б., Левкин С.В., Сычева Г.Ф. Способ получения магнитных полиакриламидных гранул // Авторское свидетельство на изобретение N 1582657. – 1990.
2. Lee J.Y., Hempel J., Deng J.S. Anti-adenosine deaminase antibodies in lupus erythematosus // Lupus. – 2002. – №11(3). – P.168-174.
3. Martinek R.G. Micromethod for estimation of serum adenosine deaminase // Clin. Chem. – 1963. – Vol. 9. – № 5. – P. 620-625.
4. Sari R.A., Taysi S., Yilmaz O., Bakan N. Correlation of serum levels of adenosine deaminase activity and its isoenzymes with disease activity in rheumatoid arthritis // Clin. Exp. Rheumatol. – 2003. – Vol.21, №1. – P.87-90.

THE PERFECTION OF THE TECHNOLOGIES OF IMMUNODIAGNOSTICS OF RHEUMATIC DISEASES

A. V. Aleksandrov, S. G. Mnatsakanjan, O. V. Kotelnikova, I. U. Alekhina, M. A. Makhachev, I. P. Gontar
(Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology of RAMS, Volgograd, Russia)

There has been shown the possibility of the use of antibodies to adenosine deaminase with the purpose of immunodiagnosics of rheumatoid arthritis.

© МАТЮНОВА А.Е., БРЕГЕЛЬ Л.В. – 2007

АНАЛИЗ МЕТОДОВ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ СИСТЕМНОГО ВАРИАНТА ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

А.Е. Матюнова, Л.В. Брегель

(Иркутская государственная областная детская клиническая больница, гл. врач – В.М. Селиверстов; Иркутский государственный институт усовершенствования врачей, ректор – д.м.н., проф. В.В. Шпрах, кафедра педиатрии, зав. – д.м.н., проф. Л.В. Брегель)

Резюме. Цель исследования - оценить наиболее эффективный метод базисной терапии, используемой в практике детского ревматолога. Проанализированы особенности течения системного варианта ювенильного идиопатического артрита и результаты базисной терапии с применением различных комбинаций иммуносупрессивных препаратов. Установлено, что терапия метотрексатом более эффективно влияет на снижение лабораторной активности, а также на предупреждение эрозий суставов, чем аминохинолиновые производные ($p=0,008$). Применение сандиммуна предотвращает рецидивы лихорадки, внесуставных проявлений, лабораторной активности у 86% и прогрессирование эрозий у всех больных ($p=0,002$ в сравнении с лечением метотрексатом).

Ключевые слова: Ювенильный идиопатический артрит с системным началом, базисная терапия.