

УДК:616.72-002:616.72-008.2:616-073

СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ И СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ АРТРИТАХ

С.В. Иванова, Л.Н. Кирпиченок, Е.В. Кундер

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Проведенные исследования выявили достоверные изменения параметров флуоресценции и протеолитической активности сыворотки крови и синовиальной жидкости при ревматоидном, реактивном и псориатическом артритах. Наблюдалось увеличение интенсивности ультрафиолетовой флуоресценции данных биологических материалов при ревматоидном и реактивном артритах. В видимой области наибольшие значения интенсивности флуоресценции были в группе больных псориатическим артритом. Установлено также наличие выраженного дисбаланса системы «протеиназы-ингибиторы» как в синовиальной жидкости, так и в сыворотке крови при данных заболеваниях.

Ключевые слова: флуоресценция, протеолитическая активность, сыворотка крови, синовиальная жидкость.

Carried out researches have revealed changes of parameters of fluorescence and proteolytic activity of blood serum and synovial fluid in rheumatoid, reactive and psoriatic arthritises. The increase in the intensity of ultra-violet fluorescence of the given biological materials was marked in rheumatoid and reactive arthritises. In visible area the greatest values of intensity of fluorescence were observed in patient group with psoriatic arthritis. Misbalance of «protease-inhibitors» systems both in synovial fluid and in blood serum was also established in given diseases.

Key words: fluorescence, proteolytic activity, blood serum, synovial fluid.

Введение

Состояние белков сыворотки крови и синовиальной жидкости является важной характеристикой при заболеваниях суставов. Нарушение структуры и функций белков при артритах, несомненно, должно отразиться на флуоресцентных свойствах данных биологических материалов, а также на их ферментативной и ингибиторной активности.

Было установлено, что определение спектрально-флуоресцентных характеристик синовиальной жидкости информативно при изучении различных заболеваний суставов и может быть использовано как дополнительный метод исследования, позволяющий с высокой точностью диагностировать синовиты различного генеза, деформирующий остеоартроз и ревматоидный артрит [9, 18, 19]. При заболеваниях суставов срабатывают такие патогенетические механизмы развития синдрома эндогенной интоксикации, как биохимический и иммунологический – неконтролируемая активация протеолиза с угнетением его естественных ингибиторов, нарушение общего ферментативного гомеостаза организма и иммунологические нарушения с накоплением продуктов расщепления пластического материала [11]. Поэтому исследование протеазно-ингибиторной системы имеет большое значение при заболеваниях суставов [16, 17, 25].

Сведения о протеолитической и ингибиторной активности в сыворотке крови и синовиальной жидкости носят разноречивый характер. Одними из основных ингибиторов протеиназ, расщепляющих элементы хрящевой ткани являются, α -2-макроглобулин (α -2-МГ) и α -1-антипротеиназный ингибитор (АПИ). Согласно одним литературным источникам, при ревматических заболеваниях наблюдалось статистически достоверное повышение уровня сывороточного АПИ в среднем на 40-60% от нормального [15]. В некоторых исследованиях содержание АПИ даже ставилось на первое место среди острофазных показателей воспаления [24]. Было также обнаружено повышение содержания в сыворотке крови и α -2-макроглобулина [13].

Однако другими авторами [20] не было выявлено достоверных различий в содержании АПИ и α -2-МГ в сыворотке крови при реактивном (РеА) и ревматоидном

артритах (РА) и связи уровня α -2-МГ с воспалительной активностью. Не было обнаружено существенных изменений в концентрации α -2-МГ и в работах [7, 8] при исследовании групп больных РеА, РА и системной красной волчанкой, так же, как и в работе [10] при исследовании групп больных РА, остеоартрозом и доноров.

При артритах наблюдалось увеличение концентрации протеолитических ферментов и их ингибиторов также и в синовиальной жидкости: при ревматоидном артрите – в 1,5 раза по сравнению с невоспалительным выпотом [15, 27, 28, 30].

В связи с этим задачей данного исследования было выявление возможных изменений параметров собственной флуоресценции и протеолитической активности сыворотки крови и синовиальной жидкости при ревматоидном (РА), реактивном (РеА) и псориатическом (ПА) артритах.

Материалы и методы

Исследование собственной флуоресценции и протеолитической активности сыворотки крови было проведено у 50 больных: 22 – РА, 13 – ПА, 15 – РеА. Исследование синовиальной жидкости проводили у 29 человек: 11 – больных РА, 10 – РеА и 8 – ПА. Контрольную группу (КГ) для исследования сыворотки крови составили 46 практически здоровых доноров в возрасте 30-50 лет.

Для проведения флуориметрического исследования сыворотку крови разводили в 20 раз 0,89 % раствором NaCl. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре СМ-2203 (SOLAR, Беларусь) при длине волны возбуждения 286 нм в диапазоне 300–500 нм с использованием кварцевой кюветы размером 1,2 x 1,2 см.

Синовиальную жидкость разводили в 10 раз 0,89%-м раствором NaCl и центрифугировали в течение 15 минут при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость отбирали и обозначали как бесклеточный экстракт синовиальной жидкости. Регистрацию спектров флуоресценции полученных образцов проводили при длине волны возбуждения 350 нм в диапазоне 400-600 нм и при длине волны 286 нм в диапазоне 300-500 нм.

Определение протеолитической активности в сыворотке крови и синовиальной жидкости проводили с использованием в качестве субстратов высокостабильного

в растворе низкомолекулярного хромогенного соединения – N- α -бензоил-D,L-аргинин паранитроанилид (БАПНА) и белкового субстрата – сывороточного альбумина человека (САЧ). При использовании БАПНА для определения протеолитической активности за основу брали метод Englander V. F. et al. [26]. Основой для определения активности ингибиторов служил метод, предложенный Т.А. Хватовым и В.Б. Беловой [21]. Определение протеолитической активности в сыворотке крови (СК) и синовиальной жидкости (СЖ) с использованием в качестве субстрата САЧ проводилось по схеме, приведенной в таблице 1.

Таблица 1 – Схема проведения эксперимента

Фермент	Субстрат, конечная концентрация, г/л	Дополнительные ингредиенты
СК или бесклеточный экстракт СЖ	САЧ, 5 г/л (0,5%)	0,89% раствор NaCl, 0,2 М Трис-HCl буфер (pH 8,0)
0,5 мл (СЖ или СК) + 0,5 мл (САЧ) + 0,5 мл (0,2 М Трис-HCl) + 1,6 мл (0,89% р-р NaCl) перемешать, инкубировать 90 минут при $t=37^{\circ}\text{C}$, измерить интенсивность флуоресценции продуктов ферментативной реакции ($I_{пр.}$) при длине волны возбуждения 286 нм в диапазоне 300-500 нм		

Для определения протеолитической активности реакцию останавливали путем добавления трихлоруксусной кислоты (ТХУ) в конечной концентрации 2,78%. Протеолитическую активность в надосадочной жидкости определяли после охлаждения проб и их центрифугирования (1500 об/мин в течение 10 мин при 5°C) по величине светопоглощения при 280 нм [4] и выражали в условных единицах (ΔA_{280}). Интенсивность флуоресценции (I) выражали в относительных единицах (отн. ед.) [12].

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0» с использованием критериев Колмогорова-Смирнова, Лиллиефорса и Шапиро-Уилка, непараметрических методов Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни для несвязанных выборок и ранговой корреляции Спирмена. Критическое значение уровня значимости принималось с учетом поправки Бонферони [1, 6, 14].

Результаты и обсуждение

Исследование собственной флуоресценции сыворотки крови больных артритами показало, что все спектры имели одинаковую форму с максимумом эмиссии при длине волны 333 нм, что соответствует неполярному гидрофобному микроокружению аминокислотных остатков белков внутри белковой глобулы [5] и в основном определяются триптофаном и тирозином (рис. 1).

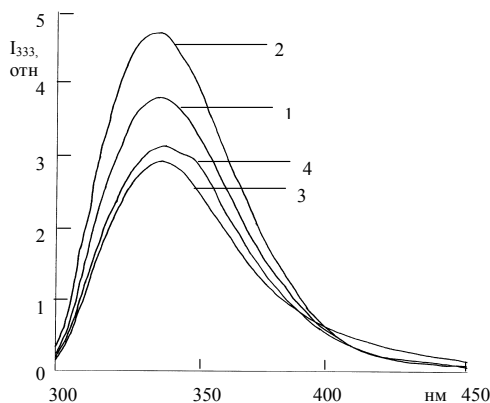


Рисунок 1 – Спектры флуоресценции сыворотки крови некоторых больных артритами: 1 – PA, 2 – ReA, 3 – PA и 4 – KГ, возбуждение при 286 нм

В группе больных PA показатель I_{333} был достоверно выше, чем в контрольной группе и группе больных PA – на 18% ($p=0,017$) и на 31% ($p=0,005$), соответственно (табл. 2). В группе больных ReA интенсивность флуоресценции в максимуме эмиссии также была достоверно выше, чем в KГ и группе больных PA – на 36% ($p=0,01$) и на 51% ($p=0,003$), соответственно. Увеличение интенсивности флуоресценции сыворотки крови может быть вызвано усилением процесса распада белков и накоплением низко- и средномолекулярных органических веществ, поступающих в кровь при данных заболеваниях. В группе больных PA показатель был самым низким и не имел достоверных различий с KГ.

Таблица 2 – Интенсивность флуоресценции сыворотки крови (I_{333}) и продуктов ферментативной реакции ($I_{пр., 334-340}$) у больных артритами

Диагноз	Номер группы	I_{333} (отн. ед.)	$I_{пр., 334-340}$ (отн. ед.), $\lambda_{в}=286$ нм	ΔA_{280} , усл. ед.
PA	1	$3,51 \pm 0,23^{4,3}$	$0,30 \pm 0,02$	$1,16 \pm 0,05$
ReA	2	$4,04 \pm 0,45^{4,3}$	$0,28 \pm 0,04$	$0,83 \pm 0,05^{1,4}$
PA	3	$2,68 \pm 0,33$	$0,44 \pm 0,04^{1,2,4}$	$1,12 \pm 0,14$
KГ	4	$2,97 \pm 0,10$	$0,32 \pm 0,01$	$1,09 \pm 0,08$

Примечание. Достоверность различий по сравнению: ¹ – с 1 группой, ² – со 2 группой, ³ – с 3 группой, ⁴ – с 4 группой ($p < 0,01$).

Спектры флуоресценции продуктов ферментативной реакции взаимодействия САЧ и сыворотки крови больных PA и KГ имели максимум эмиссии при длине волны 334-340 нм ($I_{пр., 334-340}$), что характерно для аминокислотных остатков (в основном триптофановых), находящихся в поверхностной складке белковой глобулы в слое структурированной воды [5, 22] (рис. 2).

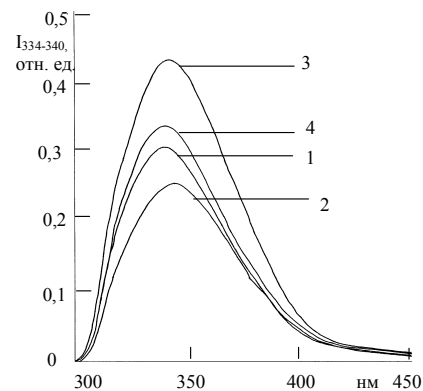


Рисунок 2 – Спектры флуоресценции продуктов ферментативной реакции взаимодействия САЧ и сыворотки крови больных артритами и контрольной группы: 1 – PA, 2 – ReA, 3 – PA, 4 – KГ, возбуждение при 286 нм

Исследование интенсивности флуоресценции продуктов ферментативной реакции $I_{пр., 334-340}$ (табл. 2) выявило достоверное повышение данного показателя в группе больных PA по сравнению с KГ на 38% ($p=0,017$) и с группами больных PA и ReA: на 47% – по сравнению с PA ($p=0,011$) и на 57% – по сравнению с ReA ($p=0,017$). Содержание ТХУ-растворимых продуктов (ΔA_{280}) при этом достоверно снижалось только в группе больных ReA: по сравнению с KГ – на 24% ($p=0,017$) и по сравнению с группой больных PA – на 28% ($p=0,001$).

Анализ протеолитической и ингибиторной активности сыворотки крови при исследуемых заболеваниях выявил достоверное увеличение общей протеолитической активности (ОПА) при данных заболеваниях (табл. 3). В

группе больных РА повышение данного показателя было самым значительным и составило 212% (в 3,12 раза; $p=10^{-5}$), в группе больных РеА – 147% (в 2,47 раза; $p=10^{-5}$) и в группе больных ПА – 117% (в 2,17 раза; $p=0,017$) от КГ. Кроме того, в группе больных РА общая протеолитическая активность была на 44% выше, чем в группе ПА ($p=0,017$).

Таблица 3 – Изменение показателей протеолитической и ингибиторной активности в сыворотке крови больных артритами

Диагноз	Номер группы	Показатели протеолитической активности		
		ОПА, ммоль/(л·с)	АПИ, г/л	МГ, г/л
РА	1	33,95±3,11 ^{4,3}	1,48±0,11 ⁴	1,06±0,13 ⁴
РеА	2	26,94±2,73 ⁴	1,04±0,15 ^{1,4}	1,72±0,16 ^{1,4}
ПА	3	23,58±4,07 ⁴	0,89±0,16 ^{1,4}	1,40±0,40 ⁴
КГ	4	10,89±0,72	2,43±0,07	3,02±0,10

Примечание. Достоверность различий по сравнению: ¹ – с 1 группой; ³ – с 3 группой; ⁴ – с 4 группой ($p<0,01$).

В отличие от ОПА, содержание реактанта острой фазы – АПИ при данных заболеваниях достоверно понижалось по сравнению с КГ: на 39% – в группе больных РА ($p=10^{-6}$), на 57% – в группе больных РеА ($p=10^{-6}$) и на 63% – в группе больных ПА ($p=3,2 \cdot 10^{-5}$). Достоверные различия по данному показателю наблюдались также в группе больных РеА и ПА по сравнению с группой больных РА: понижение на 30% ($p=0,003$) и на 40% ($p=0,012$), соответственно. Поскольку АПИ обеспечивает 90% антириптической активности плазмы крови, то недостаточность этого ингибитора при многих заболеваниях, согласно литературным данным [29, 31], приводит к активации протеолиза и согласуется с полученными в данном исследовании результатами для больных артритами.

Содержание основного рестриктора протеолитических ферментов – α -2-МГ, так же, как и АПИ, достоверно уменьшалось в исследуемых группах по сравнению с КГ: на 65% – в группе больных РА ($p=1,8 \cdot 10^{-7}$), на 43% – в группе больных РеА ($p=3,4 \cdot 10^{-5}$) и на 54% – в группе ПА ($p=0,004$). Кроме того, достоверно больше (на 62%) данный показатель был в группе больных РеА по сравнению с группой больных РА ($p=0,013$). Кроме того, в нашем исследовании содержание α -2-МГ имело отрицательную связь с ОПА – наблюдалась умеренная, обратная и значимая корреляция между данными показателями ($r=-0,6$; $p=5,5 \cdot 10^{-5}$).

Сопоставляя данные флуоресцентного анализа и показатели протеолитической и ингибиторной активности, можно заметить, что увеличение ОПА при артритах сопровождалось увеличением белковой флуоресценции сыворотки крови (I_{335}) и может рассматриваться как ответная реакция организма на патологический процесс. Одновременное уменьшение ингибиторного потенциала сыворотки крови при артритах отражает наличие выраженного дисбаланса системы «протеиназы-ингибиторы», что характерно для многих патологических состояний [2, 3], в том числе и для артрита.

Флуориметрическое исследование синовиальной жидкости при артритах выявило следующие закономерности. Поскольку регистрация спектров проводилась при двух различных волнах возбуждения, то положение максимума спектра флуоресценции зависело от длины волны возбуждающего света. При возбуждении светом в ультрафиолетовой области с длиной волны 286 нм ($\lambda_{в.}=286$ нм) максимум находился при 335 нм и был обусловлен в основном белками. При возбуждении светом в видимой области ($\lambda_{в.}=350$ нм), спектр имел максимум при 438-445 нм, что, согласно литературным данным [18, 23], может

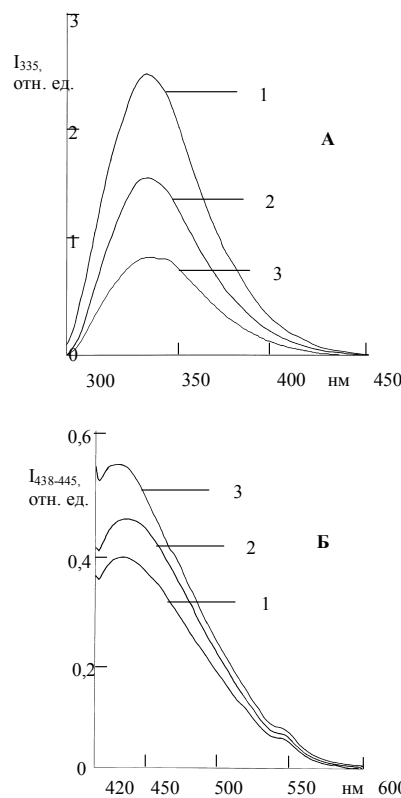


Рисунок 3 (А, Б) – Спектры флуоресценции синовиальной жидкости больных артритами: А – при возбуждении светом с длиной волны 286 нм, 1 – РА, 2 – РеА, 3 – ПА; Б – при возбуждении светом 350 нм, 1 – РА, 2 – РеА, 3 – ПА

быть приписано восстановленной форме пиридиннуклеотидов – НАД(Ф)·Н (или) лактону пиридоксильной кислоты (рис. 3 (А, Б)).

Результаты исследования интенсивности флуоресценции образцов синовиальных жидкостей в максимуме эмиссии при возбуждении в ультрафиолетовой области (I_{335}) представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Интенсивность флуоресценции синовиальной жидкости (при двух длинах волн возбуждения) и продуктов ферментативной реакции ($I_{пр., 336}$) больных артритами

Диагноз	Номер группы	I_{335} , отн. ед. $\lambda_{в.}=286$ нм,	$I_{438-445}$, отн. ед. $\lambda_{в.}=350$ нм,	$I_{пр., 336}$ $\lambda_{в.}=286$ нм	ΔA_{280} , усл. ед.
РА	1	2,00±0,24 ³	0,40±0,03 ³	2,57±0,10 ³	0,25±0,02
РеА	2	1,55±0,17	0,44±0,03 ³	2,32±0,16	0,30±0,05
ПА	3	0,96±0,19	0,59±0,06	2,12±0,15	0,26±0,01

Примечание: ³ – достоверность различий по сравнению с 3 группой ($p<0,02$).

Достоверные различия по данному параметру между собой имели только группы больных РА и ПА – интенсивность флуоресценции в максимуме спектра у больных РА была самой высокой – достоверно выше на 101%, чем в группе больных ПА ($p=0,015$). При возбуждении в видимой области спектра интенсивность флуоресценции синовиальной жидкости ($I_{438-445}$) у больных РА и РеА была достоверно ниже, чем в группе ПА – на 32% ($p=0,015$) и на 25% ($p=0,018$), соответственно. Корреляционный анализ выявил наличие обратной, сильной и значимой корреляции между показателями I_{335} и $I_{438-445}$ при данных заболеваниях ($r=-0,8$; $p=10^{-5}$).

Согласно литературным данным [18], наибольшие различия в спектрах флуоресценции синовиальной жид-

кости при заболеваниях суставов определялись, когда флуоресценция возбуждалась светом с длиной волны 340-370 нм. В нашем случае информативность аналогичного показателя $I_{438-445}$ ($\lambda_b=350$ нм) также была выше, чем в области белковой флуоресценции у показателя I_{335} ($\lambda_b=286$ нм) и позволила определить достоверные отличия в группах больных РА и РеА по сравнению с группой ПА.

Флуоресценция продуктов реакции ферментативно-го взаимодействия синовиальной жидкости и САЧ ($I_{пр.,336}$) при артритах достоверно отличалась только между группами больных РА и ПА (рис. 4, табл. 4). Она была достоверно выше на 21% в группе больных РА по сравнению с группой больных ПА ($p=0,021$). Изменения интенсивности флуоресценции продуктов реакции ферментативно-го взаимодействия $I_{пр.,336}$ были аналогичны изменениям показателя I_{335} : наблюдалась прямая, умеренная, значимая корреляция между показателями $I_{пр.,336}$ и I_{335} ($r=0,6$; $p=9 \cdot 10^{-4}$) и обратная, умеренная, значимая корреляция между $I_{пр.,336}$ и $I_{438-445}$ ($r=-0,5$; $p=0,02$). Изменений в содержании ТХУ-растворимых продуктов (ΔA_{280}) данной ферментативной реакции между исследуемыми группами не наблюдалось.

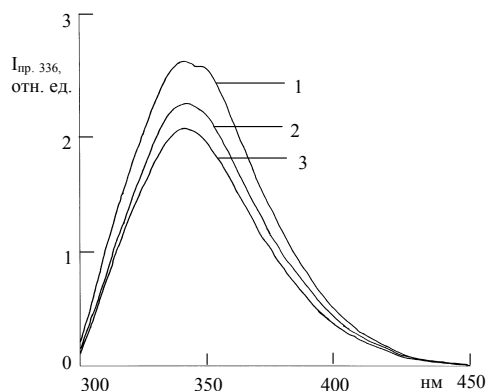


Рисунок 4 – Спектры флуоресценции продуктов реакции ферментативно-го взаимодействия синовиальной жидкости и САЧ ($I_{пр.,336}$) для больных артритами при возбуждении светом с длиной волны 286 нм: 1 – РА, 2 – РеА, 3 – ПА

Результаты исследования протеолитической и ингибиторной активности образцов синовиальной жидкости представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Показатели протеолитической и ингибиторной активности синовиальной жидкости больных артритами

Диагноз	Номер группы	Показатели протеолитической активности		
		ОПА, ммоль/(л·с)	АПИ, г/л	МГ, г/л
РА	1	5,77±2,55	0,28±0,06 ²	0,53±0,05
РеА	2	5,60±1,12	0,68±0,12	0,54±0,04
ПА	3	1,42±0,85	0,93±0,50	0,52±0,18

Примечание: ² – достоверность различий по сравнению со 2 группой, ($p<0,025$).

По уровню ОПА достоверных различий между группами не обнаружено. Однако самый высокий уровень ОПА наблюдался в группе больных РА. Содержание АПИ в группе больных РА было самым низким среди исследуемых групп: на 59% меньше, чем в группе больных РеА ($p=0,01$) и на 70% меньше, чем в группе больных ПА. Содержание α -2-МГ в синовиальной жидкости не изменялось при данных заболеваниях.

Анализ связей между изменениями интенсивности флуоресценции и протеолитической и ингибиторной активности синовиальной жидкости при артритах выявила следующие корреляционные зависимости. Наблюдалась прямая, умеренная и значимая корреляция между показателями ОПА и I_{335} , $r=0,6$ ($p=0,05$). Изменения в показателе I_{335} были противоположны изменениям в содержании АПИ при данных заболеваниях $r=-0,4$ ($p=0,04$), а характер изменений показателя $I_{438-445}$ был противоположен изменениям ОПА $r=-0,7$ ($p=0,009$).

Выводы

Интенсивность флуоресценции сыворотки крови в ультрафиолетовой области достоверно увеличивалась в группах больных РА и РеА по сравнению с КГ, а в группе больных ПА не отличалась от показателей контрольной группы. Интенсивность флуоресценции продуктов ферментативной реакции взаимодействия сыворотки крови и САЧ ($I_{пр.,334-340}$) была достоверно выше в группе больных ПА по сравнению с КГ и с группами больных РА и РеА. Общая протеолитическая активность сыворотки крови достоверно увеличивалась во всех исследуемых группах больных артритами по сравнению с КГ. Содержание основных ингибиторов протеолитических ферментов – АПИ и α -2-МГ в сыворотке крови при данных заболеваниях достоверно понижалось по сравнению с КГ.

Интенсивность флуоресценции синовиальной жидкости в ультрафиолетовой области была достоверно выше в группах больных РеА и РА по сравнению группой больных ПА и имела обратную сильную и значимую корреляцию с аналогичным показателем в видимой области при данных заболеваниях. Флуоресценция продуктов реакции ферментативного взаимодействия синовиальной жидкости и САЧ ($I_{пр.,336}$) была достоверно выше в группе больных РА по сравнению с группой больных ПА. Для синовиальной жидкости в группе больных РА наблюдался наиболее выраженный дисбаланс системы «протеиназы-ингибиторы»: самый высокий уровень общей протеолитической активности и самое низкое содержание АПИ среди групп сравнения. Содержание основного рестриктора протеолитических ферментов – α -2-МГ не изменялось при данных заболеваниях. Следовательно, параметры флуоресценции сыворотки крови и синовиальной жидкости так же, как и показатели протеолитической активности данных биологических материалов, достаточно информативны при ревматоидном, реактивном и псориатическом артрите, что может быть использовано для диагностики этих заболеваний.

Литература

1. Ави́ва, Петри. Наглядная медицинская статистика / Петри Ави́ва, Кэролайн Сэбин; перевод с английского под редакцией В. П. Леонова. – 2-е издание. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 168 с.
2. Акбашева, О.Е. Показатели протеолиза плазмы крови и фенотипы альфа1-антипротеиназного ингибитора при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей / О.Е. Акбашева // Биомедицинская химия: научно-практический журнал НИИ биомедицинской химии РАМН (Москва). – 2007. – Т. 53. – С. 338-344.
3. Акбашева, О.Е. Фенотипы α -1-антипротеиназного ингибитора и активность протеолитических ферментов плазмы крови при язвенной болезни / О.Е. Акбашева, Е.В. Пехтерева // Российский журнал гастроэнтерологии и колопроктологии. – 2001. – №2. – С. 44-46.
4. Алексеев, Л.П. Современные методы в биохимии / Л.П. Алексеев. – Москва: Медицина, 1968. – 300 с.

5. Веденкина, Н.С. Триптофановая флуоресценция белков в растворах. Положение максимума спектра флуоресценции / Н.С. Веденкина, Э.А. Бурштейн // Молекулярная биология. – 1970. – Т. 4. – Вып. 5. – С. 743-748.
6. Гельман, В. Я. Медицинская информатика: Практикум / В. Я. Гельман; СПб.: Питер, 2001. – 480 с.
7. Зорина, В.Н. α -2-макроглобулин, его комплексы с IgG и некоторые факторы гуморального иммунитета при ревматоидном артрите / В.Н. Зорина, Н.А. Трофименко // Научно-практическая ревматология. – 2006. – №1. – С. 22-27.
8. Зорина, В.Н. Комплексы альфа-2-макроглобулина с антителами класса IgG, плазмином и их взаимосвязь с другими факторами гуморального иммунитета при развитии ревматоидного артрита / В.Н. Зорина, Н.А. Трофименко // Медицинская иммунология. – 2005. – Т. 7. – № 5. – С. 557-562.
9. Козлова, Н.М. Исследование синовиальной жидкости с помощью флуоресцентных зондов / Н.М. Козлова, А.Г. Кутько // IV съезд фотобиологов России: материалы IV съезда фотобиологов России, Саратов, 26-30 сентября 2005 г. / Российское общество фотобиологов, Саратов. гос. ун-т; редкол.: В. В. Тучин [и др.]. – Саратов, 2005. – С. 76-78.
10. Коларов, З. α -2-макроглобулин в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом и остеоартрозом / З. Коларов, Р. Стоилов // Терапевтический архив. – 2000. – №5. – С. 17-19.
11. Корякина, Е.В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом / Е.В.Корякина, С.В. Белова // Научно-практическая ревматология. – 2001. – №1. – С. 1-7.
12. Лакович, Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии / Дж. Лакович. – М.: Мир, 1986. – 496 с.
13. Ле, Тху Ха. Клинико-иммунологическое и биохимическое изучение ревматоидного артрита / Тху Ха Ле. – София: Наука, 1995. – 215 С.
14. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.
15. Руденко, В.Г. Ингибиторы протеиназ сыворотки крови при заболеваниях суставов / В.Г. Руденко, А.П. Левицкий // Врач. дело. – 1986. – №12. – С. 32-35.
16. Руденко, В.Г. Протеолитические ферменты и их ингибиторы при артритах / В.Г. Руденко, Ю.В. Руденко // Ревматология. – 1990. – №4. – С. 42-50.
17. Руденко, В.Г. Протеиназы, ингибиторы протеиназ и противоревматическая терапия / В.Г.Руденко, Ю.В. Руденко // Ревматология. – 1990. – №3. – С. 32-38.
18. Слобожанина, Е.И. Спектрально-флуоресцентное исследование синовиального выпота в диагностике хронических заболеваний суставов / Е.И. Слобожанина, Е.Д. Белоенко // Ревматология. – 1990. – №1. – С. 32-34.
19. Слобожанина, Е.И. Использование флуоресцентных зондов в исследовании компонентов синовиальной жидкости при патологии суставов / Е.И. Слобожанина, Е.Д. Белоенко // Вес. нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2006. – №4. – С. 10-14.
20. Трофименко, Н.А. Особенности воспалительной реакции при коллагенозах / Н.А. Трофименко, В.Н. Зорина // Бюллетень сибирской медицины. – 2004. – №4. – С. 21-25.
21. Хватов, В.Б. Ускоренный метод определения основных ингибиторов протеиназ в плазме крови человека: метод. рекомендации / В.Б. Хватов, Т.А. Белова; МЗ РСФСР. – М., 1981. – 16 с.
22. Черницкий, Е.А. Люминесценция и структурная лабильность белков в растворе и клетке / Е.А. Черницкий. – Минск.: Наука и техника, 1972. – 278 с.
23. Черницкий, Е.А., Спектральный люминесцентный анализ в медицине / Е.А. Черницкий, Е.И. Слобожанина. – Минск: Наука и техника, 1989. – 141 с.
24. Conti, O. Alpha-1-antitrypsin at rheumatoid arthritis / O. Conti, A. Esposito // Refforma med. – 1981. – Vol. 96. – P. 609-612.
25. Goilin-Charmet, A. Alpha 2-macroglobulin, the main serum antiprotease, binds beta 2-macroglobulin, the light chain of the class I major histocompatibility complex, which involved in human disease / A. Goilin-Charmet, D. Launier // J. Clin. Sci. (Lond.). – 2000. – Vol. 98. – P. 427-433.
26. Erlanger, D.F. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / D.F. Erlanger, N. Kokowsky // Arch. Biochem. Biophys. – 1961. – Vol. 95. – № 2. – P. 271-278.
27. Headler, N.M. Antiprotease in synovial fluid at rheumatoid arthritis / N.M. Headler, A.M. Johnson // Ann. Rheum. Dis. – 1981. – Vol. 40. – №1. – P. 55-59.
28. Martin, Cl. Sinovial fluid in seronegative juvenile rheumatoid arthritis. Studies of immunoglobulins, complement and alpha-2-macroglobulin / Cl. Martin, Lm. Pachman // Arthr. and Rheum. – 1980. – Vol. 23. – №11. – P. 1256-1261.
29. Schwaiblmair, M. Alpha 1-antitrypsin. Hope on the horizon for emphysema sufferers? / M. Schwaiblmair, C. Vogelmeier // Drug Aging. – 1998. – Vol. 12. – № 6. – P. 429-440.
30. Swedlund, H.A. Alpha-1-antitrypsin in serum and synovial fluid in rheumatoid arthritis / H.A. Swedlund, G.G. Hunder // Ann. Rheum. Dis. – 1974. – Vol. 33. – №2. – P. 162-164.
31. Qu, D. α -1-Antitrypsin deficiency associated liver disease / D. Qu, J.H. Teckmann // Gastroenterol. Hepatol. – 1997. – Vol. 12. – № 5. – P. 404-416.

Поступила 17.09.09