

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

На правах рукопису

**ПАВЛОВ СЕРГІЙ БОРИСОВИЧ**

УДК 611.018.2:616-092

**МЕХАНІЗМИ УЧАСТІ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ  
ТКАНИНИ У ФОРМУВАННІ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація  
на здобуття наукового ступеня  
доктора біологічних наук

Науковий консультант:  
доктор медичних наук, професор  
Клименко Микола Олексійович

Суми – 2017

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	8
РОЗДІЛ 1. СПОЛУЧНА ТКАНИНА ЯК ЦІЛІСНА ФІЗІОЛОГІЧНА СИСТЕМА (огляд літератури) .....	15
1.1. Будова та функції сполучної тканини. Роль цитокінів в регуляції системи сполучної тканини в нормі та патології .....	15
1.2. Порушення функціонального стану сполучної тканини як частина патологічного процесу .....	35
1.3. Особливості участі фізіологічної системи сполучної тканини в розвитку різних патологічних станів .....	47
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	69
РОЗДІЛ 3. МЕХАНІЗМИ УЧАСТІ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В РОЗВИТКУ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ТА РЕМОДЕЛЮВАННІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ .....	95
3.1. Дослідження рівнів та взаємозв'язків міжклітинних медіаторів при експериментальному моделюванні ураження нирок та кісткової тканини.....	95
3.2. Дослідження показників метаболізму та морфологічного стану сполучної тканини при експериментальному моделюванні ураження нирок та кісткової тканини.....	111
РОЗДІЛ 4. МЕХАНІЗМИ УЧАСТІ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЇ ОРГАНІВ ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ.....	121
4.1. Дослідження патологічних змін стану сполучної тканин у щурів при експериментальному моделюванні патології органів панкреатодуоденальної зони, викликаній введенням жовчі .....	121
4.2. Дослідження патологічних змін стану сполучної тканини у щурів при експериментальному моделюванні гострої	

хірургічної патології органів панкреатодуоденальної зони .....	129
4.3. Дослідження патологічних змін стану сполучної тканини у щурів при експериментальному моделюванні патології печінки, викликаній інтрагастральним та інтраперитонеальним введенням тетрахлорметану .....	134
<b>РОЗДІЛ 5. ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ПОРУШЕНЬ СТАНУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА УРАЖЕННЯ ПАРЕНХІМАТОЗНИХ ОРГАНІВ .....</b>	<b>150</b>
5.1. Дослідження функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу у щурів з експериментальним глюкокортикоїдним порушенням стану кісткової тканини та під впливом іммобілізаційного стресу та запалення .....	150
5.2. Дослідження функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу у щурів з експериментальною патологією органів панкреатодуоденальної зони та з експериментальним фіброзом печінки .....	159
<b>РОЗДІЛ 6. ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ГОСТРІЙ ПАТОЛОГІЇ ПАРЕНХІМАТОЗНИХ ОРГАНІВ .....</b>	<b>170</b>
6.1. Дослідження показників стану сполучної тканини та її реакції на пошкодження в умовах гідронефротичної трансформації нирок .....	170
6.1.1. Особливості цитокінового профілю у хворих на гідронефроз, що потребують оперативного втручання ...	170
6.1.2. Особливості сполучнотканинного обміну у хворих на гідронефроз, що потребують оперативного втручання ....	190
6.2. Дослідження показників стану сполучної тканини та її реакції на пошкодження в умовах обструктивних захворювань органів	

панкреатодуоденальної зони .....	194
6.2.1. Особливості цитокінового профілю у хворих з обструктивними захворюваннями органів панкреатодуоденальної зони, що потребують оперативного втручання .....	194
6.2.2. Особливості стану сполучної тканини у хворих з обструктивними захворюваннями органів панкреатодуоденальної зони, що потребують оперативного втручання .....	201
<b>РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ КОРЕЛЯЦІЙНИХ ЗВ'ЯЗКІВ ТА МЕТААНАЛІЗ ОТРИМАНИХ ДАНИХ .....</b>	
	215
<b>РОЗДІЛ 8. ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ВИВЧЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ .....</b>	
	244
8.1. Вивчення показників фізіологічної системи сполучної тканини у хворих з хронічними захворюваннями нирок .....	245
8.1.1. Значення оксипролінурії та екскреції глікозаміногліканів з сечею для ранньої діагностики нефросклерозу у хворих на хронічний пієлонефрит .....	245
8.1.2. Вивчення оксипролінурії у хворих на хронічну хворобу нирок різних стадій за наявності та відсутності артеріальної гіпертензії .....	253
8.2. Вивчення показників фізіологічної системи сполучної тканини у хворих з патологією кісткової тканини .....	256
8.2.1. Значення показників обміну сполучної тканини для ранньої діагностики ренальної остеодистрофії у хворих з хронічною нирковою недостатністю .....	256
8.2.2. Вивчення ролі міжклітинних медіаторів у метаболізмі сполучної тканини у дітей з кардіопатією та остеопенією	263

8.3. Вивчення показників фізіологічної системи сполучної тканини у хворих з хронічними захворюваннями шлунково- кишкового тракту .....	276
8.3.1. Вивчення ролі порушення обміну сполучної тканини в розвитку патологічних процесів різної інтенсивності в шлунку .....	276
8.3.2. Вивчення ролі міжклітинних медіаторів у механізмі формування дуоденальної виразки у підлітків .....	281
8.4. Вивчення можливостей використання молекулярних маркерів фізіологічної системи сполучної тканини для діагностики донозологічних станів та оцінки популяційного здоров'я .....	286
РОЗДІЛ 9. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	296
ВИСНОВКИ .....	327
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....	330
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	332

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АДФ – аденозиндифосфат
- АТАФК – антитіла до атипових форм колагену
- ГАГ – глікозаміноглікани
- ГАГс – глікозаміноглікансульфати
- ГК – глюкокортикоїди
- ДВ – дуоденальна виразка
- ДСТ – дисплазія сполучної тканини
- ІС+З – Імобілізаційний стрес + запалення
- ММП – матриксні металопротеїнази
- МСС – мисково-сечовідний сегмент
- НК-клітини – натуральні кілери
- ОП – оксипролін
- ОЩ – оптична щільність
- ПДЗ – панкреатодуоденальна зона
- ПКМ – позаклітинний матрикс
- РЕА – раковомембріональний антиген
- СТ – сполучна тканина
- ФССТ – фізіологічна системи сполучної тканини
- ХГ – хронічний гепатит
- ХНН – хронічна ниркова недостатність
- ХП – хронічний пієлонефрит
- ХХН – хронічна хвороба нирок
- CALCA – ген кальцитоніну
- c-Fos – транскрипційний фактор ранньої функціональної активності
- CD14 – мембранний глікозилфосфатиділінозитол-зв'язаний білок
- EGF – epidermal growth factor (епідермальний фактор росту)
- FGF – fibroblast growth factor (фактор росту фібробластів)

GM-CSF – granulocyte macrophage colony-stimulating factor (гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор)

HGF – фактор росту гепатоцитів

INF – інтерферон

Ig – імуноглобулін

IGF – insulin-like growth factor (інсуліноподібний фактор росту)

IL – інтерлейкін

LBP – lipopolysaccharide binding protein (ліпополісахарид-зв'язуючий білок)

M-CSF – macrophage colony-stimulating factor (макрофагальний колонієстимулюючий фактор)

MyD88 – myeloid differentiation primary response gene 88 (цитозольний адаптерний білок)

NFAT – nuclear factor of activated T-cells (ядерний фактор активованих Т-клітин)

NF- $\kappa$ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (ядерний транскрипційний фактор каппа В)

OPG – остеопротегерин

PDGF – platelet-derived growth factor (тромбоцитарний фактор росту)

PGE2 – простагландин E2

RANK – receptor activator of nuclear factor kappa-B (рецептор-активатор ядерного фактора  $\kappa$ B)

RANKL – receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (ліганд рецептора-активатора ядерного фактора  $\kappa$ B)

SIRS – systemic inflammatory response syndrome (синдромом системної запальної відповіді)

TGF- $\beta$ 1 – transforming growth factor- $\beta$ 1 (трансформуючий фактор росту- $\beta$ 1)

Th – Т-хелпери

TLR – toll-like рецептори

TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor- $\alpha$  (фактор некрозу пухлини-альфа)

VEGF – vascular endothelial growth factor (вазоендотеліальний фактор росту)

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Як відомо, важливу роль в реактивності організму відіграє сполучна тканина (СТ). Вона займає в організмі особливе місце: складає більш ніж 50% маси тіла, є компонентом всіх органів і тканин.

І.І. Мечников вперше звернув увагу на значення СТ, а саме макрофагів, у боротьбі організму з інфекцією. Найбільш широко значення СТ було розкрито у вченні О.О. Богомольця про фізіологічну систему сполучної тканини (ФССТ), де він звернув увагу також на міжклітинну речовину з її численними волокнистими структурами.

На сьогоднішній день не викликає сумніву визначальна роль ФССТ у формуванні резистентності організму до дії патогенних агентів. Вона бере участь у бар'єрних функціях організму, її елементи здійснюють фагоцитоз, є причетними до специфічних імунних реакцій, запалення і загоєння ран тощо. Відповідно, ФССТ відіграє велику роль у патогенезі хвороб.

Реакція СТ у фізіологічних та патологічних умовах має стереотипну динаміку, тобто принципово не залежить від типу діючого чинника, хоча він, звичайно, і визначає деяку своєрідність реакції. Іншими словами, СТ реагує системно, як цілісна саморегульована система, що і дає змогу вважати її системою і позначати як ФССТ.

Що стосується ролі ФССТ в патології, то зрозуміло, що немає жодного патологічного процесу чи захворювання, в патогенезі якого вона не мала б значення [171, 410, 515]. Також зрозуміло, що ступінь залучення ФССТ може бути різним в залежності від форми патології [387].

Конкретні механізми участі ФССТ в патогенезі різних патологічних процесів і захворювань вивчені недостатньо. Разом з тим останнім часом накопичений великий матеріал відносно молекулярних механізмів функціонування різних компонентів СТ (клітин, основної речовини, волокнистих структур) [179, 246, 291, 387, 528]. Їм притаманне велике



різноманіття, як стосовно кожного елементу ФССТ, так і зважаючи на значну багатокomпонентність системи.

Отож актуальним є дослідження молекулярних механізмів участі ФССТ у формуванні патологічних процесів, визначення на цій підставі загальних, типових, механізмів і ступеня їх залучення в залежності від патології, що можна зробити шляхом дослідження і порівняння цих механізмів при патологіях з очевидно різним ступенем участі ФССТ.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота проводилась у зв'язку з науковими темами, що виконувались на замовлення МОЗ України для виконання Міжгалузевої Комплексної Програми «Здоров'я нації» на 2002-2011 роки, затвердженої постановою Кабінету Міністрів України від 10 січня 2002 р. № 14. Темі були заплановані як пріоритетні, фундаментального характеру або прикладні. В усіх темах автор був відповідальним виконавцем:

1) «Роль міжклітинних медіаторів у патогенезі остеопорозу», № держреєстрації 0111U003589, УДК 576.54+577.29]:616.71-007.234-0.92, 2011-2013 рр.;

2) «Роль системи сполучної тканини у патогенезі специфічних та неспецифічних захворювань», № держреєстрації 0108U002122, УДК 612.75+616.018.2]-074, 2008-2010 рр.;

3) «Стан сполучної тканини та особливості її реакції в умовах патології», № держреєстрації 0103IU004137, УДК 612.75+616.018.2]-074, 2005-2007 рр.

Для виконання «Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук на 2009-2013 роки», затверджених постановою НАН України від 25.02.05 № 5, робота виконувалась за напрямком: «Молекулярні, біохімічні, морфологічні і фізіологічні основи розвитку хвороб людини і розробки методів їх лікування». Також вказані тематики відповідали вирішенню окремих завдань державної програми «Запобігання та лікування

серцево-судинних і судинно-мозкових захворювань» на 2006-2010 роки, затвердженої постановою Кабінету Міністрів України від 31 травня 2006 р. № 761.

**Мета дослідження:** з'ясувати загальні закономірності та особливості механізмів участі ФССТ у формуванні патологічних процесів.

**Завдання дослідження:**

1. Встановити цитокінові механізми участі та стан ФССТ при відтворенні експериментальних моделей порушення стану нирок (хронічної ниркової недостатності (ХНН)) та кісткової тканини.

2. Визначити стан ФССТ при відтворенні експериментальних моделей патології органів панкреатодуоденальної зони (ПДЗ) та фіброзу печінки.

3. Дослідити функціональну активність тромбоцитарної ланки гемостазу при відтворенні різних моделей порушень стану СТ при патології органів ПДЗ, кісткової тканини та експериментальному фіброзі печінки.

4. З'ясувати механізми участі цитокінів у розвитку патологічного процесу та стан ФССТ у пацієнтів з гідронефрозом та в умовах обструктивних захворювань ПДЗ.

5. На основі аналізу кореляційних зв'язків та метааналізу всіх отриманих даних виявити загальні закономірності та особливості участі ФССТ у формуванні різних патологічних процесів та обґрунтувати доцільність їх врахування для підвищення ефективності діагностики.

6. Обґрунтувати доцільність дослідження функціонального стану СТ в клінічній практиці, в тому числі у хворих з хронічними захворюваннями нирок, шлунково-кишкового тракту, остеодистрофією, дисплазією СТ, а також для діагностики донозологічних станів та оцінки популяційного здоров'я.

*Об'єкт дослідження:* роль ФССТ в патології.

*Предмет дослідження:* механізми участі ФССТ у формуванні патологічних процесів.

*Методи дослідження:* патофізіологічні, біохімічні, імуноферментного аналізу, імунологічні, гематологічні (агрегатометрія), гістологічні, гістохімічні, електронномікроскопічні, статистичні параметричні і непараметричні, факторного аналізу. Вибір методу імуноферментного аналізу був зумовлений тим, що для визначення цитокінів потрібна дуже висока аналітична чутливість методу, оскільки їх концентрація може бути нижча ніж 1,5 пг/мл. Там, де така висока чутливість не потрібна, використовували значно дешевші біохімічні методи. Агрегатометрію проводили на комп'ютеризованому аналізаторі агрегації. Застосовували усі процедури внутрішнього та зовнішнього контролю якості, у тому числі за програмами міжлабораторних порівнянь. Вибір методів статистичного аналізу був зумовлений характером розподілу даних (параметричні та непараметричні) та потребою провести аналіз низки кореляційних зв'язків (факторний аналіз).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше показана роль механізмів регуляції ФССТ цитокінами у розвитку патологічних процесів різної етіології. Визначено внесок дисбалансу міжклітинних медіаторів у розвиток системної відповіді СТ на пошкодження.

Вперше сформульовані загальні принципи оцінки стану ФССТ та визначена її роль у розвитку патологічного процесу в паренхіматозних органах і кістковій тканині. Вперше вивчена роль регуляторного шляху RANK (рецептор-активатор ядерного фактора  $\kappa\text{B}$ ) - RANKL (ліганд рецептора-активатора ядерного фактора  $\kappa\text{B}$ ) - OPG (остеопротегерин) при експериментальному моделюванні патології нирок, встановлена його активація та наявність взаємозв'язку з про- та протизапальними цитокінами, у тому числі позитивна кореляція між RANKL і профібротичним TGF- $\beta$ 1 (трансформуючий фактор росту- $\beta$ 1).

Вперше показаний механізм впливу на фіброзно-склеротичні процеси в печінці та підшлунковій залозі тромбоцитарного компоненту системи гемостазу. Встановлено, що механізми гемостазу впливають на активацію

проліферативних процесів у СТ. Виявлені нові патогенетичні механізми порушення стану кісткової тканини та розвитку фіброзу печінки, пов'язані зі зниженням функціональної активності тромбоцитів.

Вперше виявлена роль стану ФССТ у розвитку ускладнень і рецидивів у хворих з гідронефротичною трансформацією нирок. Встановлена активація регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG у хворих на гідронефроз, що свідчить про залучення механізмів регулювання на рівні ФССТ.

Вперше показана взаємодія різних механізмів регуляції ФССТ у розвитку патології органів ПДЗ.

Доповнені наукові дані про механізми хронізації патологічного процесу при захворюваннях нирок, показано, що зміни функціонального стану СТ можуть бути кількісно зафіксовані навіть у разі уповільненого патологічного процесу в невеликому за масою органі. Доповнені наукові дані про роль та ступінь залученості порушень регуляторної функції ФССТ в розвиток захворювань шлунково-кишкового тракту, в тому числі дуоденальної виразки.

Вперше показана роль і значення зниження фізіологічних резервів ФССТ для збільшення ризиків захворюваності в популяції.

Вперше проведений метааналіз показників, що характеризують стан ФССТ, на основі якого за допомогою факторного аналізу встановлені основні групи показників (факторів), які відображають основні напрямки патологічного процесу, опосередковані реакцією ФССТ.

**Практичне значення одержаних результатів.** Значущість роботи визначається отриманням нових знань про загальні механізми регулювання стереотипної відповіді на ушкодження і роль ФССТ в його реалізації, які розширюють та поглиблюють існуючі уявлення про роль ФССТ в патології. Особливе значення має встановлення ролі міжклітинних медіаторів та тромбоцитарної ланки гемостазу у формуванні системної відповіді на рівні ФССТ.

Завдяки цьому, результати роботи можуть бути використані у викладанні патофізіології та інших медичних і біологічних наук, у науково-дослідній роботі, а також для розробки способів діагностики і лікування, виходячи з загальних і специфічних для конкретної патології молекулярних механізмів.

Для клінічної практики новий напрямок досліджень, у ході якого встановлюється зв'язок ФССТ з патологічними процесами, відкриває нові можливості, доступні клініцистам, для діагностики, прогнозування та лікування, доповнюючи або удосконалюючи існуючі. На основі оцінки стану ФССТ запропоновані методи прогнозування рецидивів захворювання у хворих на гідронефроз, хірургічних ускладнень у хворих з обструктивними захворюваннями органів ПДЗ, метод оцінки ризиків для популяційного здоров'я населення. Цей напрямок має великі перспективи розвитку, оскільки СТ залучена у розвиток практично усієї патології.

**Особистий внесок здобувача.** Робота виконувалась як частина пріоритетних тематик за замовленням МОЗ України, відповідальним виконавцем яких був здобувач. Автором особисто здійснювався вибір методологічних підходів до проведення наукових досліджень, розроблявся дизайн роботи, підбір експериментальних і клінічних моделей, відбір та валідація лабораторних методик. Особисто виконувався весь об'єм лабораторних досліджень, статистична обробка і наукова інтерпретація всіх отриманих результатів. Огляд та лікування пацієнтів проводилися лікарями профільних медичних закладів, участь співавторів відображена у спільних публікаціях.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та висновки дисертації оприлюднені та обговорені на II Міжнародному конгресі патофізіологів (Гельсінкі, 1998); регіональній науково-практичній конференції «Епідеміологія, екологія і гігієна» (Харків, 2002); науково-методичній конференції, присвяченій 85-річчю ХМАПО (Харків, 2008); науково-практичній конференції «Актуальні питання клінічної лабораторної

діагностики» (Харків, 2010); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Остеопороз: від дитинства до старості» (Харків, 2012); навчально-науковій конференції «Сучасна післядипломна освіта: досягнення, проблеми, перспективи», (Харків, 2013); науково-практичній конференції «Проблеми остеології» (Харків, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Вікові аспекти захворювань кістково-м'язової системи» (Харків, 2014); III міжнародній науково-практичній конференції «Нові завдання сучасної медицини» (Херсон, 2016); науково-практичній конференції «XV читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2016); VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 2016).

**Публікації.** За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 47 наукових робіт, з них 33 статті у фахових виданнях, в тому числі 22 – в зарубіжних та наукометричних виданнях, 14 тез. Отримано 4 патенти.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 394 сторінках друкованого тексту. Основний текст розміщений на 324 сторінках і складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків та практичних рекомендацій. Рукопис ілюстрований 57 таблицями та 111 рисунками, які займають 21 повну сторінку. Список використаних джерел включає 547 наукових публікацій, з них – 398 латиницею і 149 кирилицею.

## РОЗДІЛ 1

### СПОЛУЧНА ТКАНИНА ЯК ЦІЛІСНА ФІЗІОЛОГІЧНА СИСТЕМА

(Огляд літератури)

#### **1.1 Будова та функції сполучної тканини. Роль цитокінів в регуляції системи сполучної тканини в нормі та патології**

Аналізуючи СТ як фізіологічну систему, виділяють основні властивості, поєднання яких відрізняє її від більшості інших органних і тканинних систем організму: універсальність, спеціалізацію, багатокomпонентність, поліморфізм клітинних систем, поліфункціональність і високу здатність до адаптації (пластичність). Інтегральною функцією СТ є підтримання гомеостазу і морфостазу (сталість структури) органів і всього організму [515]. Універсальний характер СТ пов'язаний насамперед з її широким розповсюдженням в організмі ссавців (а у філогенетичному плані майже у всіх видів багатоклітинних організмів з принциповою схожістю триспиральної молекулярної структури та ультраструктурної характеристики колагенової фібрили) [182]. СТ є складовою частиною всіх без винятку органів і тканин. Друга властивість СТ – спеціалізація, не суперечить першому, а доповнює його. У кожному зі своїх численних різновидів СТ складається з одних і тих же елементів, а поєднання останніх та їх спеціалізована архітекtonіка створюють тканини зі структурою, що різко відрізняються, відповідно до різних функцій [266].

Відомо, що СТ складається з колагенових і еластичних волокон, позаклітинного матриксу (ПКМ), що містить вуглеводно-білкові комплекси двох типів (протеоглікани і глікопротеїди), а також клітинні елементи [484]. Суттєвою особливістю СТ є значне кількісне переважання ПКМ над клітинними елементами.

Основними клітинними елементами СТ є клітини фібробластичного ряду (остеобласти, хондробласти, одонтобласти та ін.), макрофаги, лаброцити, адвентіціальні клітини, плазматичні клітини, періцити, адипоцити [266]. Інші клітини (гранулоцити, лімфоцити) мають гематогенне

походження і проникають в СТ з крові. Обов'язкова наявність в СТ формених елементів крові і їх тканинних різновидів дають підставу розглядати клітини периферичної крові та СТ як єдину самопідтримуючу систему, порушення якої обумовлюють розвиток запального процесу будь-якого генезу [252].

Різні форми клітин фібробластичного ряду утворюють ПКМ СТ. Так, фібробласти продукують колаген, еластин, протеоглікани, глікопротеїни [112], фіброцити підтримують ПКМ в певному структурному стані, а фіброкласти руйнують його при умовах, що вимагають ремоделювання каркаса волокон. Завдяки цим властивостям клітин фібробластичного ряду здійснюється одна з функцій волокнистої СТ – репаративна (пластична).

Показано, що практично всі структури ПКМ СТ володіють спроможністю проявляти регуляторні властивості вже на рівні кісткового мозку, зокрема кістковомозкових попередників. Не менш важливою біологічною особливістю білків ПКМ є їх схильність до взаємодії, по-перше, один з одним, а по-друге, з багатьма рецепторами клітин.

Одна з основних функцій білків ПКМ – взаємодія компонентів СТ. Через взаємодію з клітинними рецепторами – інтегринами – вони ініціюють міжклітинні взаємодії. Лігандами для інтегринів найчастіше є різні білки ПКМ: колаген, фібронектин та ін. Тому інтегринові рецептори відіграють ключову роль у контактній взаємодії клітин з ПКМ. Вони взаємодіють і з факторами росту, які секретуються при пошкодженні тканин [522].

Значну роль у взаємодії з іншими білками ПКМ і клітинними компонентами відіграє фібронектин – головний поверхневий глікопротеїн фібробласта [218]. В міжклітинному просторі він пов'язаний головним чином з інтерстиціальним колагеном. Вважають, що фібронектин обумовлює липкість, рухливість, ріст та спеціалізацію клітин. Фібронектин, який скріплює сполучнотканинні клітини і ПКМ також називають «молекулярним клеєм». Завдяки цим властивостям, фібронектин в репаративному процесі відіграє роль первинного каркаса для подальшого впорядкованого розташування фібробластів і колагенових волокон, а також забезпечує



необхідний мінімум механічної міцності грануляційно-фіброзної тканини на ранній стадії її розвитку [371].

Виявлено, що фібробласти можуть утворюватися з кістково-мозкових клітин-попередників, які циркулюють в периферійній крові. Ці прогеніторні клітини фібробластичного ряду становлять близько 0,05% клітин периферичної крові [279]. Їх кількість збільшується у відповідь на дію деяких цитокінів, а також при запаленні і розвитку фіброзу [63, 64]. Прогеніторні клітини фібробластичного ряду активно виходять з кровоносного русла в місця пошкодження і беруть безпосередню участь в регуляції процесів репарації та ремоделювання тканин, неоваскуляризації, неоангіогенезу, пухлинного росту.

Циркулюючі прогеніторні клітини фібробластичного ряду мають маркери як лейкоцитів (CD45+, LSP-1) та моноцитів (CD11a+, CD11 $\beta$ +, CD13+, CD32+, CD64+), так і прогеніторних клітин (CD34+, CD105+), а також експресують продукти, властиві фібробластам (колаген I типу, фібронектин, матриксну металопротеазу (ММП - 9) [32, 142]. У відповідь на стимуляцію IL-1 $\beta$  прогеніторні клітини секретують прозапальні цитокіни (фактор некрозу пухлини (TNF), IL-6, IL-8, IL-10) та ММП-9. Ці клітини здатні також секретувати проангіогенні фактори – вазоендотеліальний фактор росту (VEGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), фактор росту гепатоцитів, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (GM-CSF), фактор росту фібробластів (FGF), трансформуючий фактор росту (TGF) [179].

Ще один різновид клітин фібробластичного ряду – міофібробласти за своїм диференціюванням лежать між фібробластами і гладком'язовими клітинами. Вважають, що вони відіграють важливу роль у регуляції таких фундаментальних процесів, як проліферація, диференціювання, апоптоз, репарація тканин, запалення та імунна відповідь [246]. Міофібробласти секретують такі компоненти ПКМ як колаген I, III, IV і VIII типів, фібронектин і ламінін. Ряд авторів вважають, що міофібробласти

утворюються з кістково-мозкових клітин-попередників, які циркулюють в периферійній крові – прогеніторних клітин фібробластичного ряду [270].

Індукують активацію і проліферацію міофіброblastів багато цитокінів (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8), фактори росту (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , EGF (епідермальний фактор росту), GM-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, FGF1, FGF2, IGF-I (інсуліноподібний фактор росту-I), IGF-II), а також альдостерон, тромбін, ангіотензин II, ендотелін [291]. При цьому найбільш виражений активуючий ефект має TGF- $\beta$ . Джерелом TGF- $\beta$  у пошкодженій тканини можуть бути лейкоцити, клітини паренхіми і епітелію, а також самі міофіброblastи. PDGF відповідає за проліферацію міофіброblastів.

Міофіброblastи відіграють ключову роль у загоєнні ран. Протягом репаративного процесу вони виділяють інтерлейкіни (IL), ейкозаноїди, фактори росту, а також секретують колаген та інші білки ПКМ. Міофіброblastи активуються після пошкодження тканини. У відповідь на прозапальні цитокіни, які секретуються пошкодженими епітеліальними клітинами та лейкоцитами, міофіброblastи починають секретувати білки ПКМ та фактори росту. Після завершення процесу репарації вони піддаються апоптозу. Тривала персистенція міофіброblastів призводить до розвитку фіброзу і найчастіше до порушення функції органу [145, 387].

Міофіброblastи секретують також матриксні металопротеїнази (ММП) - 1, 2 і 3, які руйнують базальні мембрани і ПКМ. Це відіграє важливу роль у ремоделюванні тканини при пошкодженні. ММП-1 руйнує колаген I, II і III типу. ММП-2 руйнує денатурований колаген I і III типу і нативний колаген IV типу. ММП-3 деградує ламінін, фібронектин, протеоглікани і колаген IV типу. Активність ММП пригнічується їх тканинним інгібітором, який також секретується міофіброblastами [127].

Одним з актуальних напрямів медико-біологічної науки залишається вивчення макрофагів з позицій загальної патології. Згідно сучасним уявленням, поведінка СТ, тенденції її перетворення, у тому числі склеротична трансформація, багато в чому залежать від міжклітинних

взаємодій, що розігруються на тканинному рівні у межах контурів ауто- і паракринного регулювання. При цьому роль одного з центральних регуляторів клітинних взаємодій, що детермінують властивості СТ, виконують органотипічні макрофаги, які працюють як самі по собі в нормі, так і в комплексі з запальними макрофагами в патології.

Дійсно, макрофаги служать джерелом фіброгенних цитокінів (PDGF, TGF), які індукують атракцію, проліферацію та синтетичні функції фібробластів – ключових продуцентів ПКМ, а також серії молекулярних медіаторів, що підтримують деструкцію в зоні запалення і запальну інфільтрацію [206]. Тканинні макрофаги, як найбільш реактивний компонент стромы, можуть брати участь у підтримці структурного гомеостазу не тільки в нормальному, але і в патологічно зміненому органі. Завдяки здатності виробляти і секретувати широкий спектр факторів з високою біологічною активністю, макрофаги здатні контролювати практично всі етапи формування місцевої запальної реакції і, отже, детермінувати ініціацію, розвиток і результат запалення. Поряд із цим макрофаги виділяють серію цитокінів, які модулюють чутливість фібробластів до ростових факторів, як у бік її підвищення, так і зниження (IL-1, IL-6, TNF, колонієстимулюючі фактори), а також, фібронектин та ряд інших медіаторів запалення. Нарешті, макрофаги виділяють ферменти, що руйнують преформований колаген та інші компоненти ПКМ [246].

Строма будь-якого органу через макрофаги набуває тісні зв'язки з кістковим мозком. Органотипічні макрофаги різних локалізацій, становлять периферію системи мононуклеарних фагоцитів, синтезують регуляторні молекули (еритропоетин, IL-1, GM-CSF, TGF- $\alpha$ ), за допомогою яких здійснюють і підтримують зв'язок із центром системи – поліпотентною стовбуровою клітиною кісткового мозку і беруть найактивнішу участь у регуляції кровотворення [528].

Основним білком СТ є колаген. Індивідуальна молекула колагену складається з трьох спіралізованих поліпептидних ланцюгів, званих

$\alpha$ -ланцюгами, які скручені між собою в одну загальну спіраль і стабілізовані водневими зв'язками. Молекула колагену має відносну молекулярну масу 300 000, довжину 280 нм і товщину 1,4 нм. Кожен  $\alpha$ -ланцюг містить в середньому близько 1000 амінокислотних залишків. Відмінною особливістю колагену є присутність оксипроліну (ОП) та оксилізіну (хімічних маркерів колагену), відсутність триптофану, високий вміст гліцину (близько третини амінокислот), а також проліну і ОП (чверть) [239]. Гідроксилування проліну та лізіну в ОП і оксилізін відіграє велику роль у формуванні та стабілізації триспиральної молекули. Структурна і хімічна стабільність колагену, його фізичні особливості обумовлені унікальною організацією триспиральної макромолекули, впорядкованої полімеризацією тропоколагенових молекул, утворенням тривимірної мережі міжмолекулярних зв'язків різної природи [353].

Колаген – найбільш представлений в організмі людини та вищих тварин білок, що становить велику частину органічної маси шкіри, кісток, хрящів, сухожилів і багатьох інших видів СТ. Крім того, колаген формує строму всіх паренхіматозних органів, входить до складу базальної мембрани, стінок кровоносних судин і кишківника [115, 182]. У тканинах колаген входить до складу колагенових волокон, які знаходяться в тісній єдності з іншими волокнами (еластичними і ретикуліновими) [16]. В утворенні колагенових волокон беруть участь протеоглікани та структурні глікопротеїни, що грають роль інтерфібрилярної цементуючої речовини [93]. Цей процес визначається утворенням поперечних міжмолекулярних зв'язків у присутності ферментів лізил- і оксилізілоксидаз та іонів міді [390].

Кількість колагену в якому-небудь органі розглядається як показник кількості СТ [36]. Унікальні особливості амінокислотного складу (ОП – амінокислота, що не зустрічається в інших білках) є одним з найбільш важливих критеріїв ідентифікації колагену [539]. Одним з показників, що використовуються для вивчення процесів обміну СТ, є рівень ОП в сироватці крові, який відображає інтенсивність процесу колагеноутворення [217, 478].

У крові ОП може перебувати у вільному, пептидно- і білковозв'язаному вигляді. Рівень вільного ОП в сироватці крові відображає процеси деградації колагену [532], рівень білковозв'язаного ОП – процеси біосинтезу колагену [210]. Літературні дані про вміст пептиднозв'язаного ОП не мають однозначної інтерпретації [30, 456]. Вважається, що вміст пептиднозв'язаного ОП відображає одночасно ступінь розпаду і синтезу колагену.

З різних тканин виділено понад 19 різних типів колагену, кодованих різними генами і маючих деякі особливості первинної структури. Вони різняться комбінацією  $\alpha$ -ланцюгів в триланцюжній молекулі, кількістю і розташуванням (на кінцях або всередині молекули) неспіральної ділянок (доменів), довжиною макромолекули і локалізацією в тканинах [300, 324]. Крім того, колаген в організмі піддається великому числу різноманітних посттрансляційних модифікацій [390]. Існує і мікрогетерогенність колагену, тобто менш істотні відмінності всередині типів у вмісті різних амінокислот і вуглеводних залишків [502]. Гетерогенність колагену визначає його тканинну та імунну специфічність [143]. Сполучнотканинні структури різних органів і тканин характеризуються різним, специфічним для них співвідношенням типів колагену [341, 347]. Різноманіття функцій колагену забезпечується як унікальністю його структури, так і різноманітністю форм.

Колаген – активно оновлюючийся білок, рівень його обміну залежить від типу тканини, віку, умов живлення і патології [201, 394]. Рівні біосинтезу та катаболізму колагену в дорослому організмі знаходяться в динамічній рівновазі.

За ультраструктурними ознаками розрізняють два типи колагенобластів: 1 тип виявляється в зрілій тканини без патологічних змін і при повільному перебігу фіброзуючих процесів; клітини 2 типу становлять більшість у швидко зростаючій СТ, при репаративних процесах. Біохімічно при цьому відзначається стрімке накопичення колагену. Темп продукції колагену залежить від кількісного співвідношення двох типів колагенобластів [515]. Фібробласти, будучи основними клітинами СТ,

продукують колаген і глікозаміноглікани (ГАГ) [70, 112]. У вогнищі запалення відбуваються безперервні процеси біосинтезу і катаболізму колагену, що забезпечується продукцією специфічних колагеназ фібробластами, макрофагами, нейтрофілами, епітеліальними та іншими клітинами [193, 519]. Тканинні колагенази (група ферментів, що розщеплюють молекули колагену) виявлені головним чином у мезенхімальних клітинах: фібробластах, остеобластах, поліморфно-ядерних лейкоцитах, еозинофілах, макрофагах, а також в епітеліальних клітинах печінки та епідермісу [56].

Найважливішу роль у забезпеченні біомеханічної функції СТ грають також протеоглікани, що представляють собою гігантські макромолекулярні агрегати [415]. Механічні властивості СТ, пружність і займаний в тканинах обсяг визначаються просторовою структурою та якісним складом протеогліканів. ГАГ мають велике значення у формуванні колагенових фібрил, для фібрилогенеза необхідний власний матрикс, що складається з ГАГ і глікопротеїнів [236]. До довгої лінійної молекули гіалуронової кислоти (1500 нм) за допомогою зв'язуючих білків приєднані протеогліканові "мономери", що мають білковий стрижень (довжиною до 300 нм), до якого через кожні 10-15 нм ковалентно приєднані ланцюги ГАГ (довжиною до 50 нм) [272]. Структура подібних комплексів характеризується тканинною специфічністю і залежить від фізіологічного стану органу.

ГАГ СТ – це лінійні нерозгалужені полімери, побудовані з повторюваних дісахаридних одиниць [252]. Кожна дісахаридна одиниця містить гексозамін та інший моносахарид, яким може бути гексуронова кислота або галактоза. Аміносахарид гексозамін представлений двома різновидами: глюкозаміном або галактозаміном; гексуронові кислоти – D-глюкуроною або L-ідуруною кислотою. Відомо 8 різновидів ГАГ СТ: гіалуронова кислота, хондроїтин, хондроїтин-4-сульфат, хондроїтин-6-сульфат, дерматан-сульфат, кератан-сульфат, гепаран-сульфат і гепарин [53]. Всі вони, крім дерматан-сульфату і кератан-сульфату, містять у своєму складі

глюкуронову кислоту, що робить можливим кількісне визначення ГАГ за глюкуроною кислотою [67].

Як і інші компоненти міжклітинної речовини СТ, протеоглікани (крім гепарину) синтезуються в фібробластах, їх спеціалізованих формах, а також у клітинах гладких м'язів. Відзначається диференційована продукція клітинами різних органів певних типів ГАГ [187]. Гепарин синтезується тучними клітинами і, можливо, ендотелієм судин [299, 498]. Біосинтез ГАГ відбувається позаматрично в апараті Гольджи і цистернах ендоплазматичного ретикулула в результаті збалансованої роботи понад 20 ферментів [346].

ГАГ, будучи гетерополісахаридами, беруть участь в організації ПКМ, як основна речовина, і забезпечують міжклітинні комунікації. ГАГ, взаємодіючи з великою кількістю протеїнів (включаючи хемокіни, цитокіни, фактори росту, ферменти та адгезивні молекули), індукують запалення. Так, накопичені ГАГ запускають запальні процеси шляхом стимулювання прозапальних цитокінів, таких як TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  і транскрипційного фактора (NF $\kappa$ B), активації деструктивних ензимів (ММП-13, катепсинів) і NO, що призводить до апоптозу клітин [256].

Деградація полісахаридних ланцюгів здійснюється великою групою лізосомальних ферментів, що діють у різних точках ланцюга:  $\beta$ -глюкуронідазою,  $\beta$ -N-ацетілгексоамідиназою, гіалуронідазою, сульфоестеразою, сульфоамідазою,  $\alpha$ -ідуронідазою,  $\beta$ -галактозидазою [256]. Генетично обумовлена недостатність або порушення активності цих ферментів призводить до накопичення незруйнованих або частково зруйнованих ГАГ. Це призводить до виникнення низки захворювань, об'єднаних загальною назвою – мукополісахаридози [130].

Відомо, що в нормі активація toll-like рецепторів 4 (TLR4), TLR4-залежного сигнального шляху індукується дією ліпополісахаридів, що є основними компонентами клітинної стінки. Ліпополісахариди збільшують експресію генів, що кодують TLR4, за допомогою зв'язування і активації

генів LBP (lipopolysaccharide binding protein, ліпополісахарид-зв'язуючий білок), CD14 (мембранний глікозилфосфатиділінозитол-зв'язаний білок, компонент рецепторного комплексу CD14/TLR4/MD2, що розпізнає ліпополісахариди) і MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88, цитозольний адаптерний білок), що беруть участь у передачі сигналу від TLR [172]. Структурна схожість ендогенних фрагментів ГАГ, зокрема дерматан-сульфату, з ліпополісахаридами, призводить до активації TLR4-сигнального шляху. Причому дерматан-сульфат стимулює вивільнення NO зі здорових клітин в більшій мірі, ніж ліпополісахариди [327]. У дослідженнях M. Simonago (2010), проведених на щурах, було показано, що дерматан-сульфат, так само як і ліпополісахариди, може стимулювати вивільнення NO і, тим самим, викликати апоптоз хондроцитів [172].

Результатом активації TLR4 шляху є синтез та секреція запальних медіаторів, включаючи хемокіни (макрофагальний білок запалення 1- $\alpha$  (MIP1- $\alpha$ )), цитокіни (TNF- $\alpha$  і IL-1) і ММП. У свою чергу, ГАГ посилюють експресію генів CD14 і MyD88, що є достатнім для активації TLR4 сигналу. В експериментальних дослідженнях при інактивації TLR4 у мишей з мукополісахаридозом була відзначена позитивна динаміка щодо зростання і щільності кісткових пластинок і, найголовніше, відбувалася нормалізація рівня TNF- $\alpha$  [327].

У дослідженнях Wang (2002) було виявлено, що введення здоровим мишам ГАГ, таких як гіалуронова кислота, гепаран-сульфат, кератан-сульфат, індукує у них клініку запалення у вигляді артриту, тендосиновіїту, дерматиту і клітинну інфільтрацію в різні сполучнотканинні структури. Циркулюючі або локально звільнені ГАГ стимулюють клональну експансію різних клітин, включаючи Т-лімфоцити, В-лімфоцити і макрофаги. Ці дані вказують на запуск процесів імунізації проти власних антигенів, таких як ГАГ, що змінює в організмі імунну відповідь і викликає хронічний запальний процес [380].



Отже, ГАГ і протеоглікани, що входять до їх складу, відіграють важливу роль у забезпеченні різних функцій СТ. У здійсненні репаративної функції СТ, ГАГ і протеоглікани грають найважливішу роль, беручи участь у регуляції процесів росту та диференціювання клітин [185]. Кількісні та якісні особливості ГАГ, асоційованих з клітинними мембранами, а також тих, що містяться в ядрах клітин і органоїдах цитоплазми, є одним з факторів, що блокують або запускають механізми мітозу [484]. Їм надається велике значення в контактному інгібуванні, в захисті рецепторів на клітинній поверхні, перенесенні інших молекул до клітини [131].

Особливе значення у забезпеченні трофічної функції СТ має просторова будова великих протеїн-полісахаридних агрегатів, що утворюють своєрідне молекулярне сіто, регулюють дифузію води і низькомолекулярних продуктів обміну. В цілому трофічна функція СТ визначається присутністю її у всіх інших тканинах. У цьому процесі особливо активну участь беруть ГАГ, тучні клітини, макрофаги та фібробласти, що реалізують метаболізм тканини [351]. Яскравим вираженням порушень трофічної функції СТ є різноманітні дистрофічні процеси (мукоїдне набухання, фібриноїдні зміни, гіаліноз, кальциноз, амілоїдоз та ін.) [392, 471].

Захисна функція СТ проявляється як у створенні механічного бар'єру, так і у формуванні загальних механізмів відповідної реакції організму на пошкодження. Відомо, що відповідна реакція організму на пошкодження, викликане дією шкідливого чинника будь-якого генезу (фізичні, хімічні, радіаційні тощо), здійснюється за допомогою саморегульованої системи зі стереотипною динамікою. В літературі є відомості про участь СТ в розвитку стресорних реакцій та зв'язаних з ними адаптаційних процесах [54]. У розробленому Н. Selye уявленні про "місцевий адаптаційний синдром" провідна роль відводиться тучним клітинам СТ. Показаний вплив різних стресорів на метаболічну реакцію СТ, що проявилось порушенням метаболізму колагену, неколагенових білків, глікопротеїдів, протеогліканів [75, 232].

Для пристосування до тривалих або стресових впливів (імобілізація, голод, перевантаження, гіпоксія та ін.) потрібна тривала активація клітинних систем СТ. При тривалих або повторюваних патогенних впливах розгортається ланцюг послідовного включення механізмів реакції СТ (запальних, регенераторних і фібропластичних процесів), а через них або до гомеостазу, або до хронічної патології.

Захисна функція СТ проявляється як в реакціях мікросудин, макрофагів, фібробластів та ендотелію [234], так і в "імунному захисті" з участю макрофагів і лімфоцитів [219]. Трафаретною захисною реакцією СТ є запалення, якому належить важлива роль у комплексі компенсаторно-приспосувальних реакцій. Показано, що запальна реакція характеризується різким посиленням накопичення у вогнищі запалення макрофагів і Т-лімфоцитів [173, 335]. При цьому макрофаги набувають більш виражені антимікробні властивості, завдяки фагоцитозу антимікробних компонентів (мієлопероксидаза, катіонні білки) [186, 325], беруть участь у синтезі пускових протизапальних інтерлейкінів [90, 276]. В-лімфоцити утворюють клони антитілопродукуючих клітин, які секретують імуноглобуліни (IgM, IgG, IgA), здатні нейтралізувати бактеріальні антигени.

Розвиток запального процесу в значній мірі визначається взаємодією різних медіаторів запалення з компонентами ПКМ СТ, який як безперервний міжклітинний матеріал, служить середовищем для передачі тканинних повідомлень. Так, інтерлейкіни та фактори росту, які відіграють значну роль у посиленні та продовження запальної реакції, зв'язавшись з протеогліканами матриксу, можуть бути захищені від деградації, що має позитивні або негативні наслідки в залежності від напрямку запального процесу [38]. На думку Серова В.В., Шехтера А.Б. (1981) [515], різновиди запалення відображають насамперед реактивні можливості СТ.

Медіаторами, які забезпечують цю взаємодію, є гуморальні фактори, до яких належить система цитокінів і факторів росту. Показано, що у виникненні, протіканні та наслідках багатьох захворювань важлива роль

належить змінам гормонального і імуноцитокінового профілю [34, 57]. Тиреоїдні гормони впливають на ріст і диференціювання тканин, беруть участь у всіх видах обміну. Рецептори до тиреоїдних гормонів є на всіх клітинах організму. Кортизол пригнічує проліферацію, призводить до передчасної диференціації та дозрівання фібробластів, що супроводжується порушенням колагеногенезу [1].

Кінцевою метою запалення як відповідної реакції організму на пошкодження є його ліквідація, тобто максимальне анатомічне відновлення тканин з мінімальними в даних умовах функціональними втратами [174]. В основі репаративної функції СТ лежить її висока здатність до адаптації, СТ не тільки сама себе відтворює, але й бере участь у замісній регенерації інших органів [316].

Цілісна запально-репаративна реакція тісно пов'язана з імунітетом. Особливо чітко це проявляється при аналізі запалення, різні типи якого нерідко являють собою морфологічний прояв форм імунної відповіді: гіперчутливості негайного або сповільненого типу, гранульоматозного запалення [62, 134]. Доведена участь лімфоцитів у десмопластичній і десмолітичній дії фібробластів, що визначає ці процеси як імунологічні, діючі через ланцюжок лімфоцити (лімфокіни) – макрофаги (монокіни) – фібробласти – матрикс [332, 354]. Лімфокіни можуть і безпосередньо впливати на проліферативну, колагенсинтетичну і колагенолітичну функцію фібробластів. Регулюючий вплив на фібробласти Т-лімфоцити мають і шляхом перенесення до них "регенераційної інформації" – інтерферону (INF) та ІЛ-4 [372]. Зв'язок запалення з імунітетом і регенерацією підтверджує положення: імунологічний гомеостаз – це структурний гомеостаз.

Компоненти СТ відіграють важливу роль у функціонуванні паренхіматозних органів, судин, серця, шлунка, кишківника не тільки в якості структурного компонента, але і в якості носія одного з механізмів регуляції через загальні міжклітинні медіатори регуляції клітин СТ та інших клітин органів, клітин імунної системи і т.п. Реактивність СТ істотним чином

відбивається на розвитку запальних, деструктивних і захисних процесів при різних гострих і хронічних патологічних станах.

У патогенезі формування ряду патологій внутрішніх органів та систем значна роль відводиться неадекватній відповіді СТ на пошкоджуючий фактор, яка значною мірою реалізується за рахунок порушень регуляторної функції і дисбалансу в системі цитокінів.

Регуляція метаболізму системи СТ знаходиться під контролем цитокінів, які контролюють міжклітинні і міжсистемні взаємодії та їх узгодженість у нормальних умовах і у відповідь на патологічні впливи [46]. Багато цитокінів специфічно впливають на генну експресію компонентів СТ, наприклад, колагену I типу. Прозапальні цитокіни активують метаболізм СТ. На рівні організму цитокіни виконують зв'язки між імунною, нервовою, ендокринною, кровотворною та іншими системами і є тією організуючою системою, яка формує і регулює весь комплекс захисних реакцій організму при боротьбі із патогенами [76, 282].

Цитокіни розподіляють на декілька груп, найчисленнішою з яких є група інтерлейкінів – секреторних регуляторних білків імунної системи, які забезпечують медіаторні взаємодії в імунній системі та зв'язок її з іншими системами цитокінів [13, 83]. Ключовим цитокіном, який запускає процеси накопичення колагену вважають TGF- $\beta$ , який є домінуючим регулятором експресії ММП [33, 188, 393]. TNF- $\alpha$  і IL-1 також відіграють роль мітогенів і хемоатрактантів для клітин, що синтезують колаген. IL-6 бере участь у обміні колагену шляхом регуляції активності металопротеїназ.

IL-1 – імунорегуляторний медіатор, який виділяється при запальних реакціях (прозапальний цитокін), стимулює проліферацію і диференціювання різноманітних клітин і має системну дію [111, 395]. Основні його джерела – фагоцитуючі мононуклеари, однак, IL-1 активно продукується ендотеліоцитами, також здатність до його продукції мають Т- і В-лімфоцити, фібробласти, натуральні кілери (НК-клітини), кератиноцити та нейтрофіли [74, 363]. IL-1 є важливим медіатором у запальних реакціях [165, 233], він діє

у прозапальному напрямі і сприяє підвищенню секреції запальних білків – нейтральних протеаз (колагенази та еластази), що підтверджує участь СТ у запальних процесах [100, 269]. IL-1 являє собою систему з трьох молекул: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1RA (рецепторний антагоніст IL-1), провідною формою IL-1 є IL-1 $\beta$ , який виявляється в секреторній формі та діє як локально, так і системно [368].

Стимуляторами продукції IL-1 можуть бути компоненти клітинної стінки бактерій (зокрема ліпополісахариди), алергени, імунні комплекси, хімічні сполуки (наприклад, сапонін, декстран-сульфат), фізичні фактори (ультрафіолетове опромінення) та самі цитокіни (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , інтерферони, колонієстимулюючі фактори) [397]. Біологічними ефектами IL-1 є стимуляція Т- і В-лімфоцитів, збільшення продукції цитокінів Т-хелперами (зокрема, IL-2 та IL-4), стимуляція проліферації В-лімфоцитів, фагоцитозу і цитотоксичності макрофагів з одночасною стимуляцією продукції IL-1, IL-6, TNF, посилення цитотоксичності НК-клітин, збільшення проліферації фібробластів з активацією ними синтезу IL-6, індукція викиду гістаміну базофілами та тучними клітинами, збільшення числа циркулюючих нейтрофілів та їх дегрануляції, стимуляція проліферації ендотелію та інші. Крім участі в специфічній імунній відповіді IL-1 є одним з головних медіаторів неспецифічних форм захисту – формування місцевої запальної реакції гострофазової відповіді організму на інфекційну агресію [123, 204, 337].

До цитокінів системної дії, поряд з IL-1, відноситься IL-6, один із найбільш активних цитокінів, який бере участь у реалізації імунної відповіді та запальних реакціях [147, 302, 345]. Джерелами IL-6 можуть бути Т-хелпери, моноцити-макрофаги, фібробласти, гепатоцити, ендотеліальні клітини та інші [73]. IL-6 класифікується як про- та протизапальний цитокін [384], він грає роль у патогенезі багатьох патологічних станів, у тому числі недостатності та порушенні регенерації печінки, туберкульозу [307]. Після впливу на клітини різноманітних ендогенних та екзогенних факторів

(бактерій, вірусів, мітогенів) негайно починається синтез ІЛ-6, що має велике значення у швидкому формуванні відповіді організму на чужорідні патогени [48].

Біологічними ефектами ІЛ-6 є індукція кінцевого етапу диференціювання В-клітин і стимуляція продукції антитіл [356], посилення виробництва білків гострої фази клітинами печінки, збільшення проліферації ендотеліальних клітин та участь в диференціюванні цитотоксичних лімфоцитів (показником диференціювальної дії ІЛ-6 є збільшення рівня серинової естерази – маркера зрілих цитотоксичних лімфоцитів) [106, 152]. ІЛ-6 – профіброгенний цитокін. Він підвищує синтез фібробластами колагену в СТ, ГАГ і тканинного інгібітору МПП-1 [28].

Багатофункціональним цитокіном з прозапальними імунорегуляторними властивостями є TNF- $\alpha$ , який виробляється активованими моноцитами та макрофагами у відповідь на стимуляцію бактеріями або компонентами їх стінки, грибами, мікоплазмою, пухлинними клітинами, РНК і ДНК вірусів, цитокінами та ін. [203]. TNF- $\alpha$  продукується не тільки макрофагами, до синтезу цього цитокіну мають здатність фібробласти, НК-клітини, Т- і В-лімфоцити, гладком'язові, епітеліальні, тучні клітини, кератиноцити, астроцити, клітини пухлин різноманітного походження, кардіоміоцити та інші [12, 175].

TNF- $\alpha$  є одним з найбільш плеїотропних цитокінів. Він справляє масу біологічних ефектів на різноманітні клітини організму: інгібує ріст певних пухлинних клітин, стимулює синтез ІЛ-1 ендотеліальними клітинами і макрофагами, підсилює проліферацію фібробластів і синтез ними ІЛ-6, впливає на гемопоетичні клітини (супресує розподіл стовбурних клітин), остеобласти, адипоцити, гладком'язові клітини, ендокринну систему, систему згортання крові (прокоагуляційна активність) [211, 227, 273, 365].

TNF- $\alpha$  є ендогенним пірогеном і, діючи на гіпоталамус, викликає лихоманку. Пригнічуючи апетит і синтез ліпопротеїдліпази, необхідної для утворення жирних кислот із циркулюючих ліпопротеїнів, TNF- $\alpha$  сприяє

розвитку кахексії [109, 274]. Практично всі клітини організму мають рецептори до TNF- $\alpha$ , що і зумовлює широту його біологічних ефектів [352, 365].

TNF зараз розглядається як центральний медіатор широкого кола видів біологічної активності [223, 319]. Він здійснює імунорегуляцію, активуючи імунокомпетентні клітини, сприяючи стимуляції продукції цитокінів [15, 100]. TNF має прозапальну дію, бере участь в утворенні гранульом. Так, у хворих на туберкульоз, який належить до групи гранулематозів, недостатність фракції TNF- $\alpha$  супроводжується тяжким перебігом захворювання, а висока продукція його викликає виражені запальні зміни [3].

IL-8 відноситься до цитокінів прозапального каскаду, з яких він є самим раннім медіатором запалення (хемокіном). Основна роль IL-8 складається з хемотаксичного і активуючого впливу на нейтрофіли: дегрануляції і стимуляції лейкоцитів, а також посилення міграції фагоцитів в місце пошкодження та активації ними синтезу молекул адгезії [202]. Як і інші цитокіни, IL-8 є незмінною ланкою біологічної мультисистеми – цитокінової мережі, необхідної організму для здійснення міжклітинних взаємодій, що є основою підтримання клітинного гомеостазу. Показано, що цей хемокін відіграє важливу роль при різних запальних та інфекційних захворюваннях, наприклад при псоріазі, ревматоїдному артриті, респіраторному дистрес-синдромі, менінгіті, гострих формах некротичного панкреатиту [128]. Вважається, що визначення рівня IL-8 більш інформативно, ніж дослідження рівня С-реактивного білка, для прогнозування перебігу хвороби, так як пік його концентрації настає раніше, ніж у С-реактивного білка [278].

IL-17 відноситься до прозапальних цитокінів і бере участь у багатьох етапах імунної відповіді. Він стимулює продукцію хемокінів і, як наслідок, стимулює міграцію нейтрофілів до місця запалення. Одним з найважливіших біологічних ефектів IL-17, що мають значення для регуляції метаболізму СТ, є його здатність до продукції багатьох цитокінів і хемокінів, що володіють плейотропною дією на різні клітини – IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, а також

простагландин E2 (PGE2) [225]. IL-17 запускає широку тканинну реакцію, що приводить до міграції нейтрофілів в зону запалення. Він може вироблятися багатьма клітинами, проте найбільш виражену продукцію забезпечують Т-хелпери 17 типу (Th17) [389]. Th17-клітини відіграють ключову роль в імунопатогенезі широкого спектру імунозапальних захворювань. IL-17 синтезується широким спектром імунокomпетентних клітин, включаючи тучні клітини, нейтрофіли, дендритні клітини, макрофаги, НК-клітини. Мішенями для IL-17 є фібробласти, кератиноцити, синовіоцити, епітеліальні клітини. Активація цих клітин індукує синтез цитокінів, що посилюють рекрутування Th17-клітин (і нейтрофілів) у зону запалення [265, 479].

IL-2, здійснюючи вплив на Т- та В-клітини, є одним із центральних регуляторів імунної відповіді. Він відіграє протизапальну роль, стимулює CD<sub>4</sub> і сприяє виділенню з них INF- $\gamma$  [42, 91].

Важлива роль у протизапальних реакціях належить IL-4 [150, 386]. IL-4 розцінюється як протизапальний цитокін, він послаблює запальні функції моноцитів і макрофагів, здійснює профібротичну дію при формуванні фіброзу [100]. IL-4 інгібує деградацію протеогліканів в суглобовому хрящі, шляхом пригнічення секреції металопротеїназ [383]. Синтезується IL-4 активованими Т-хелперами 2 типу (Th2) (служить для Th2 аутокринним фактором росту), гладкими клітинами, базофілами, НК-клітинами [18, 164, 338]. Спочатку IL-4 був синтезований як В-клітинний ростовий фактор, що підсилює проліферацію і диференціювання В-лімфоцитів [27]. Трохи пізніше були виявлені його здатності підсилювати проліферацію різних популяцій Т-клітин [199].

Встановлено посилення продукції IL-4 при алергічних реакціях, участь його в протигельмінтному захисті [17, 61, 138], стимуляція ним експресії деяких молекул адгезії на ендотеліальних клітинах, що приводить до підвищеної фіксації на них лімфоцитів, моноцитів і, особливо, еозинофілів.

Описані факти, що підтверджують зростання активності IL-4 при завершенні запального процесу [206, 267] і перевазі аутоімунних реакцій



[158], а також здатність IL-4 інгібувати продукцію IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  у моноцитах і зменшувати цитотоксичні реакції [79, 308, 367]. Діючи на макрофаги, що беруть участь в запаленні, IL-4 індукує так звану альтернативну активацію макрофагів [212, 292].

IL-10 відноситься до числа протизапальних цитокінів. Його продуцентами можуть бути моноцити, макрофаги, активовані Т-хелпери. Звертає на себе увагу здатність самих макрофагів продукувати цей цитокін, який є для них сильним інгібітором. IL-10 інгібує: продукцію INF- $\gamma$  Т-лімфоцитами, продукцію всіх прозапальних цитокінів макрофагами [516]. Здатність IL-10 інгібувати продукцію IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  макрофагами пов'язана з його здатністю пригнічувати продукцію IL-12. Як правило, макрофаги продукують і секретують послідовно: прозапальні цитокіни, зокрема IL-12, а потім IL-10, але з переважанням IL-12. Однак іноді продукція IL-10 різко посилюється. Таку дію на макрофаги надають, наприклад, імунні комплекси. При цьому надлишок IL-10 веде до зниження протиінфекційного захисту і розвитку хронічних інфекцій [22].

Дія цитокінів реалізується за допомогою рецепторів, розташованих на поверхні клітин-мішеней [116]. Відсутність цитокінових рецепторів, як і недостатність самих цитокінів, приводить до розвитку патологічних процесів, що доводить важливість кожного цитокіну в забезпеченні життєдіяльності організму. Наявні знання про систему цитокінів дозволяють вважати їх учасниками взаємодій молекулярних факторів, завдяки яким регулюється і координується діяльність різних систем організму [283, 535].

Практично всі процеси, що відбуваються у організмі, контролюються комплексом міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодій, які регулюються різними сигнальними молекулами, у тому числі цитокінами. Цитокіни мають особливо важливе значення у підтримці гомеостазу та в ініціюванні, регулюванні та завершенні відповіді на пошкодження [402].

Цитокіни продукуються клітинами у відповідь на молекулярні стимули. Різні фагоцитарні рецептори викликають різні паттерни секреції

цитокінів, наприклад, у той час як фагоцитоз патогенів часто викликає запальну реакцію, фагоцитоз апоптотичних тіл ініціює протизапальні сигнали [90]. Є деякі набори цитокінів, які продукуються найчастіше у відповідь на усі патогенні мікроорганізми, але також існують деякі патоген-специфічні паттерни секреції цитокінів [66].

За Segel L.A. (2001) [320] цитокіни є "дифузною інформаційною мережею", у якій комбінації концентрацій цитокінів надають інформацію клітинам про поточний стан системи. Тобто продукція цитокінів пов'язана швидше з поточними умовами, ніж з бажаним майбутнім результатом [78, 334].

Досі невідомо, яку інформацію представляють цитокіни і як різні клітини реагують на неї, тому що важко розрізнити інформацію, яку можуть становити цитокіни, окремо від того ефекту, який вони чинять на клітини. Оскільки багато цитокінів діють локально, цитокіни у локалізованих мікрооточеннях тканини надають найбільш значний вплив на відповідь, яка розвивається [381]. Кожна клітина сприймає тільки цитокіни найближчого оточення, так що відстань, на якій цитокіни можуть здійснювати свій вплив, обмежена відстанню, на яку вони можуть переміщуватися, і швидкістю, з якою вони розпадаються або видаляються.

Оскільки цитокіни регулюють характер, глибину, тривалість запального процесу та імунної відповіді організму [191], зміни їх рівня є відображенням функціонування регуляторної системи організму, що здійснює вплив на основні ланки фізіологічних та патологічних процесів і таким чином бере участь у підтриманні гомеостазу [74].

Тому реакції організму при патології знаходять вираження у змінах рівнів цитокінів [404]. Вони є втіленням дій регуляторної системи, яка виводить порушений вихідний стан нормального організму з під негативного впливу патогенного агенту. Отже, для оцінки фізіологічного стану СТ важливе значення набувають молекулярні маркери – показники імуноцитокінового статусу, ферменти, гормони та інші.

Однак, існують також вихідні уроджені стани організму, які спочатку визначають збільшення діапазону коливань компенсаторно-приспосовних реакцій. У зв'язку з цим останні можуть бути недоцільними і не досягати тієї мети, до якої вони призначені. Тому захворювання, якщо розглядати його як виведення системи з вихідного стану для завершення нейтралізації патогенного впливу, не завершується ним, тому що з початкового невірно заданого рівня неможливо вийти на правильний рівень функціонування системи. І негативний вплив не тільки не елімінується, але й, навпаки, посилюється, і стан організму ускладнюється новими, ще більш важкими патологіями.

Морфологічна та функціональна цілісність організму визначається станом системи СТ. Її патологія веде до змін багатьох органів. Різноманітність патологічних проявів, обумовлених морфофункціональними порушеннями СТ, визначається високим ступенем розподілу її компонентів у різних органах, а отже визначальної ролі порушень її регуляторної функції в розвитку захворювань. Цим і зумовлюється широка залученість системи СТ у патологічний процес.

## **1.2 Порушення функціонального стану сполучної тканини як частина патологічного процесу**

СТ бере активну участь у розвитку патологічних процесів [171]. Важко назвати загальнопатологічний процес або нозологічну форму (не кажучи вже про загоєння ран, склеротичні процеси, ревматичні хвороби або кістково-суглобові захворювання), при яких зміни СТ не грали б тієї чи іншої ролі. На думку багатьох авторів, патологія органів і тканин не може розвиватися в організмі, в якому система СТ зберегла свою реактивність і функції [410].

Ріст СТ при різних патологічних процесах (рани шкіри, дефекти тканин і органів або розвиток склеротичних процесів) має загальні закономірності. Під впливом тих чи інших шкідливих впливів, у СТ відбуваються структурні

перебудови, спрямовані на збереження динамічної рівноваги тканинної системи [311, 385].

Цей процес складається зі стадій пошкодження, запалення, проліферації фібробластів і росту судин, аж до утворення грануляційної тканини, ремоделювання, інволюції або стабілізації фіброзної тканини. Для надлишкового (фіброз, склероз) або недостатнього розвитку СТ (незагойні рани і виразки) значення має активність проліферативної реакції і співвідношення біосинтезу та катаболізму колагену. Сполучання запалення, регенерації та фіброзу реалізується завдяки макрофагально-фібробластичній взаємодії, яка веде до міграції та прискореної проліферації фібробластів, їх диференціювання, синтезу і секреції колагену та інших компонентів матриксу, активного фібрилогенезу [484].

Для успішного завершення запалення необхідно згасання гострих альтеративних та ексудативних проявів. Це можливо за умови повної деструкції пошкодженої тканини або усунення пошкоджуючого агента. Другою необхідною умовою переходу до репаративних процесів є накопичення інгібіторів ексудації і літичних ферментів, інактиваторів прозапальних медіаторів, антикоагулянтів і фібринолітиків.

В подальшому, в залежності від ступеня й обсягу ураження, загоєння може йти за двома напрямками: регенерація і фіброплазія. На цій стадії запалення основну роль відіграють ростові фактори, основним джерелом яких є місцеві макрофаги. Хемотаксис, активація і проліферація головних «дійових осіб» фіброплазії – фібробластів, стимуляція синтезу ними складових ПКМ, пригнічення активності матрикс-руйнівних ферментів відбуваються під впливом FGF, TGF, IGF-1, IL-1 та ін. [538].

У регуляції росту СТ грають роль не тільки зовнішні впливи, але і внутрішні ауторегуляторні процеси. Серов В.В. і Шехтер А.Б. (1981) [515] запропонували гіпотезу про регулювання росту СТ на основі зворотного зв'язку між розпадом і синтезом колагену. Механізм ауторегуляції має стадійний характер. На першому етапі продукти руйнування колагену

(амінокислоти, пептиди) посилюють ріст і диференціювання фібробластів, продукцію колагену і фібрилогенез, пов'язують колагеназу макрофагів та інших клітин, що веде до переважання синтезу над катаболізмом і до накопичення колагену (тобто ріст СТ). На другому етапі функціонально-надлишкові волокна колагену, впливаючи на мембрану фібробластів, пригнічують біосинтез колагену і підсилюють фіброклазію, запобігаючи таким чином подальшому росту СТ, приводячи до її розбудови та інволюції.

Порушення цього ауторегуляторного механізму веде до патологічних процесів, найбільш яскраво представленим при склерозі. В основі розвитку склеротичних процесів може лежати порушення динамічної рівноваги між продукцією та розпадом колагену, в тому числі у внутрішніх органах.

Надмірність росту СТ є визначальним фактором патогенезу фіброзно-склеротичних процесів (нефросклероз і пов'язана з ним ниркова недостатність, гепатосклероз, кардіосклероз, пневмосклероз, контрактури суглобів, спайкова хвороба, келоїдні рубці), а недостатнє її утворення супроводжується неспроможністю швів, що є актуальною проблемою в хірургії [174].

Ця гіпотеза підтверджена подальшими дослідженнями, деградація знову синтезованого колагену відіграє головну роль у регуляції його утворення. Зміна структури ПКМ виникає при дисбалансі між швидкостями синтезу й розпаду білків. Фіброгенез – широко розповсюджений і універсальний процес, основу якого становить надлишкове накопичення протеїнів ПКМ і тканинних колагеназ. Зрушення між цими двома механізмами (синтез і розпад) регулюють збільшення або зменшення кількості колагену в осередку пошкодження [29, 51]. Основною патогенетичною ланкою фіброгенезу є активація клітин цитокінами, продукція і накопичення колагенів I і III типів. Підвищений під час запалення рівень медіаторів взаємозалежний зі ступенем виразності склеротичного процесу. Вплив на фіброгенез відзначено для різних вазоактивних субстанцій.

Тривалий безперервний вплив зовнішніх і внутрішніх факторів може призводити до виникнення дифузних ушкоджень паренхіми органів, перманентних дистрофічних процесів, розладів кровообігу, хронічного запалення, руйнуванню функціональних елементів і дезінтеграції паренхіматозно-стромальних взаємодій. Злам механізмів регуляції призводить до переважання синтезу колагену над його катаболізмом, отже до прогресування фіброзу і склерозу, які завершуються структурною перебудовою органу і порушенням функції [515].

Збільшений пул мезенхімальних клітин призводить до дисбалансу, і у фазу ремоделювання СТ продукція колагену починає перевищувати його розпад. Хоча прийнято вважати, що запалення зазвичай передує фіброзу, в результаті експериментальних досліджень показано, що фіброз не обов'язково слідує за запаленням у всіх випадках, і це дозволяє припустити, що механізми регуляції фіброгенезу відрізняються від таких при запаленні. Можливо, цим пояснюється недостатня ефективність протизапальної терапії в лікуванні фіброзних захворювань [305].

СТ – фізіологічна система, яка функціонує у єдності із іншими системами організму. Система СТ під контролем вищих регуляторних систем (нервової, ендокринної та імунної), виконує свої функції на основі кооперативної взаємодії клітин (фібробластів, макрофагів, лаброцитів, лімфоцитів, ендотеліоцитів) між собою, ПКМ та паренхіматозними клітинами органу, а також клітинами крові на основі зворотних зв'язків. Ауторегуляція відтворюється на різних структурних рівнях: від функціонального елемента до рівня організму [515].

В загальному процесі репаративної регенерації проявляється єдність запалення, регенерації і фіброзу, які по суті є нерозривними компонентами цілісної тканинної реакції на пошкодження [440]. Цей процес є стереотипним, адекватним процесом захисно-приспосувального характеру, тобто адаптивною регенерацією. Причому ця автоматична реакція

принципово не залежить від типу пошкоджуючого фактора, хоча він і визначає її деяку своєрідність [515].

В певних умовах ця адаптивна реакція може перейти в патологічний процес. Зрив гомеостатичних механізмів на різних рівнях регуляції (міжклітинні взаємодії, гуморальний, імунний, нейротрофічний) веде до перекручення стереотипної динаміки процесу, який втрачає адаптивний характер і для його характеристики вводиться поняття "дисрегенерація", головне в якому – поява нової якості у вигляді тканинної атипії [311, 385].

Функціонування СТ супроводжується постійним її відновленням. Нормальне ремоделювання компонентів, наприклад кісткової тканини, як і всіх інших видів СТ, забезпечується балансом двох процесів – синтезу і деградації тканинних структур. Модулюється цей баланс впливом цитокінів, ферментів, кофакторів, гормонів і факторів росту. Фізичний вплив, зокрема, механічна стимуляція, також впливає на ремоделювання СТ.

Структура колагенів кожного з типів незмінна протягом усього життя організму. Однак, їх співвідношення змінюється в процесі розвитку органів і тканин, а також при розвитку патологічних процесів. Із змінами колагену пов'язані різні фізіологічні та патологічні процеси. Відомий цілий ряд спадкових хвороб СТ, зумовлених порушеннями структури та метаболізму колагену [312].

У швидкозростаючих тканинах переважає синтез колагену III типу, що можливо пояснюється тим, що завдяки наявності в його молекулі цистину він утворює дисульфідні зв'язки і є центром агрегації молекул у фібрили [77]. Переважання колагену цього типу відзначається в експериментальних шкірних ранах [154], при наявності активного запального процесу різної етіології і розвитку грануляційної тканини [160, 251]. Незалежно від нозології головною особливістю будови ПКМ при запальних захворюваннях є постійна інверсія співвідношення колагенів I і III типів на користь III [189, 201].

При різних репаративних і склеротичних процесах (цироз печінки, нефросклероз, фіброз легенів, ревматоїдний артрит, склеродермія та ін.) в ранніх або гострих стадіях відзначається накопичення колагену III типу, який у міру дозрівання СТ змінюється на колаген I типу – процес типовий для інтерстиціального склерозу паренхіматозних органів [125, 423]. Неадекватна гістоархітектоніка може грати роль самостійного патогенетичного фактора у підтримці активності запального процесу, хронізації хвороби, визначаючи її прогноз. Так, ремоделювання інтерстиціального колагену є найважливішим чинником у розвитку фіброзу легенів, запальний компонент інтерстиціальних хвороб легенів є тригером фіброзної відповіді [399]. У розвитку фіброзу при артеріальній гіпертензії основну роль відводять підвищеному утворенню колагену I і III типів на тлі зниження їхньої деградації [442].

Дисрегуляція ремоделювання ПКМ СТ, що є наслідком нездатності відновлення ушкоджень, які були викликані хронічним запаленням, лежить в основі розвитку фіброзу паренхіматозних органів. Надмірна деградація може бути тригером нерегульованої продукції компонентів матриксу, що характеризує розвиток фіброзу [452].

Таким чином, стан СТ та її реакція на пошкодження відіграють ключову роль у реалізації стереотипної відповіді, підтриманні гомеостазу і формуванні резервів адаптації. У зв'язку з цим видається надзвичайно актуальною розробка методів оцінки резервів адаптації СТ. Можливо, вивчення причин переходу адаптивної регенерації в дисрегенерацію дозволить наблизитися до вирішення таких найважливіших загальнопатологічних проблем, як хронічні запальні і склеротичні процеси.

Особливості зміненої СТ призводять до більш частих інтра- і післяопераційних ускладнень, таких, як відносно велика крововтрата, схильність до підвищеної травматизації шкіри і підшкірної клітковини, поганого загоєння післяопераційних ран, формування атрофічних або келоїдних рубців, часте формування післяопераційних гриж, схильність до вивихів, захворювань дихальної і видільної систем.



У лабораторній оцінці патогенезу хронізації і прогресування захворювань внутрішніх органів важливим є визначення змін параметрів метаболізму ФССТ. Білковозв'язаний ОП є тонким індикатором колаген-синтетичних процесів, який визначає перебіг та кінець будь-якого хронічного запалення. На відміну від білковозв'язаного ОП, ГАГ можуть відображати як початкові, так і кінцеві фази запального процесу в ураженому органі. При хронізації процесу спостерігається гіперпродукція білкових і глікозаміногліканових елементів СТ, активізується колагенолітична і протеолітична активність плазми.

Особливе значення має поява атипових мінорних форм колагену, не характерних для даного органу чи тканини, що може порушувати організацію надмолекулярних структур та взаємодії колагену з іншими компонентами СТ. Такого роду порушення нерідко можуть бути первинною основою розвитку патологічних процесів різної етіології. Так, наприклад, фіброз печінки характеризується змінами ультраструктури колагену (наприклад, рівня гідроксилювання проліну і лізіну); глікопротеїнів (варіації в структурі вуглеводню), протеогліканів (рівня сульфатування бокових ланцюгів ГАГ) в поєднанні з варіантами з'єднання молекул ПКМ [408].

В ролі однієї з центральних фігур як завершення запалення, так і формування хронічного процесу розглядаються фібробласти. Оскільки фібробласт продукує цитокіни стимулюючої і гальмівної дії, його можна розглядати не тільки як ефекторну клітину репарації, синтезуючу колаген і протеоглікани ПКМ, але і як один із центральних елементів в регуляції репаративного процесу [59].

Накопичення колагену пов'язано з активізацією фібробластів, де відбувається його синтез. Є експериментальні дані про підвищення рівня синтезу у фіброзних фібробластів порівняно з нормальними. Встановлено, що колагени I, III, IV, V, VI типів виробляються також епітеліальними клітинами (печінки, легенів та інших органів), колагени IV і V типів – макрофагами, лімфоцитами і нейтрофілами [45].

При відповідних умовах в органі може відбуватися активація макрофагів і моноцитів, а також клітин даного органу, що є причиною підвищення концентрації прозапальних цитокінів і факторів росту. У відповідь на це підсилюється проліферація клітин і продукція ними колагену. У більшості випадків реакція СТ виглядає як агресивний фіброгенез паренхіматозних органів.

Ряд захворювань може бути пов'язаний з порушенням деградації колагену. Колагенолітична активність збільшується при запаленні, в пухлинах, ранах, що гояться, при ревматоїдному артриті [433, 439]. Інші захворювання (цироз печінки, легеневий фіброз, склеродермія) характеризуються недостатністю колагенолізу, що може вести до склерозу не менше, ніж посилений синтез колагену [515].

Виявлено, що ММП беруть участь у процесі ремоделювання СТ і розвитку фіброзу, пов'язаному з різними запальними станами [39]. Зміна активності ММП може відігравати істотну роль у зміні метаболізму колагену [200, 214]. Колагенази мають різну активність і профіль інгібування при фіброзі. Найважливішим у розвитку фіброзу паренхіматозних органів є ремоделювання інтерстиціального колагену. З 16 членів сімейства ММП, тільки три інтерстиціальні колагенази (ММП-1, -8 і -13) можуть каталізувати у нормі обмежений початковий етап деградації інтерстиціального колагену. Можливо, змінена продукція інших колагеназ також може вносити вклад в ініціювання ремоделювання колагену, наприклад, ММП-1 [333]. ММП-1 (колагеназа-1) деградує переважно колаген типу III. Вона виробляється фібробластами, ендотеліальними й епітеліальними клітинами і макрофагами [303].

ММП-8 (нейтрофільна колагеназа), виробляється нейтрофілами й у меншому ступені хондроцитами, синовіальними фібробластами, ендотеліальними, епітеліальними й плазматичними клітинами [213]. ММП-8 переважно деградує колаген типу I. ММП-3 (колагеназа-3), переважно деградує колаген типу II, але також ефективно деградує колаген типу I і III

[126]. Експресія ММП-3 спостерігається в різноманітних клітинах, включаючи макрофаги, Т-лімфоцити й плазматичні клітини [85].

Збільшена колагенолітична активність спостерігалась у пацієнтів з ідіопатичним легневим фіброзом і саркоїдозом [80, 215]. Показано, що дисбаланс продукції ММП-9 і тканинного інгібітору ММП-1 може бути пов'язаний з розвитком фіброзу підслизової основи дихальних шляхів при хронічній астмі, у пацієнтів із криптогенною пневмонією [163], є передумовою для прогресування процесів ремоделювання СТ міокарда [435, [537]. Коли інтерстиціальні колагенази здійснюють деградацію колагену, колаген стає сприйнятливим до подальшої деградації іншими ММП, особливо желатиназами ММП-2 і ММП-9, які залучені в розвиток фіброзу.

В літературі є дані про підвищену метаболічну активність колагену і ГАГ при цукровому діабеті, що супроводжується розвитком фіброзу та мікроангіопатій [485].

Вроджені та набуті дефекти біосинтезу і фібрилогенезу колагену ведуть до структурних дефектів у СТ, а отже до недостатності її функції. Невідповідність структури волокон і навантаження на них веде до поступової дезорганізації і колагенових волокон і фібрил, що в свою чергу посилює функціональну недостатність [515].

Подібне порочне коло лежить в основі цілого ряду захворювань. Прикладом може служити прогресуюча короткозорість, в розвитку якої грає роль недостатність проколагенпептидази, ведуча до недосконалого фібрилогенезу в склері (поява диспластичних фібрил) [467]. Подібний механізм, можливо, має місце при варикозному розширенні вен, більшості захворювань опорно-рухового апарату, обумовлених вродженою і набутою недостатністю СТ [405, 544].

Деструкція і зміна антигенної структури колагену можуть бути причиною аутоімунних реакцій, що визначають особливості патогенетичних механізмів як системних уражень СТ (системного червоного вовчака, системної склеродермії, дерматомиозиту, ревматоїдного артрити) [52, 421,

431], так і хронічних захворювань печінки, нирок [264, 463], прогресуючої міопії [429], дегенеративно-дістрофічних захворювань хребта (остеохондроз хребта, деформуючий артроз і ін.).

Активний фібрилогенез супроводжується накопиченням ГАГ (спочатку гіалуронової кислоти, а потім хондроїтинсульфатів), причому синтез полісахаридів випереджає активний біосинтез колагену [426]. Так, на ранніх стадіях нефросклерозу в тканині нирок спостерігається накопичення ГАГ, а по мірі дозрівання СТ їх вміст зменшується, ймовірно, за рахунок витрачання ГАГ у процесі формування колагенових волокон.

Зміни в обміні ГАГ можуть лежати в основі морфофункціональних розладів різних систем при стресогенних впливах. В експериментальних моделях стресу і діабету показано істотне порушення в обміні ГАГ в печінці, аорті, шкірі, хрящі, стінці шлунка [497].

Патогенез ендотеліальної дисфункції, типових порушень в судинно-тромбоцитарній ланці гемостазу тісно пов'язані з дефіцитом хондроїтин-4-сульфату і гепаран-сульфату в глікокаліксі ендотелію і міжворсинчатого простору. Дефіцит хондроїтин-4-сульфату глікокаліксу, порушення функції ендотелію і оголення субендотеліального шару судин веде до підвищення адгезії до ушкодженої стінки судини тромбоцитів, підвищення їх агрегаційної здатності завдяки контакту із субендотеліальним колагеном [462].

В гастроентерології існує проблема виразок, що довго не загоюються [456]. Уповільнення процесу рубцювання викликається декількома причинами, серед них: недостатнє утворення клітинами ГАГ і протеогліканів, порушення метаболізму колагену, наявність ендотеліальної дисфункції в стінці шлунка і кишківника. Але, як правило, спостерігається поєднання цих факторів [449]. Процес рубцювання виразкового дефекту супроводжується відновленням динамічної рівноваги між синтезом і деградацією колагену як основного механізму саногенезу. В основі хронічних ерозивно-виразкових процесів шлунково-кишкового тракту лежить порушення функцій

фібробластів [104, 409]. Є дані про підвищення вмісту вільного ОП в крові у осіб з виразковою патологією гастродуоденальної області порівняно з ерозивною, що вказує на високу активність метаболізму колагенвмісних структур СТ при виразковому дефекті. При цьому мали місце зміни цитокінового профілю (підвищення рівнів IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10 та TNF- $\alpha$ ) [477]. Тому у хворих із захворюваннями шлунково-кишкового тракту є доцільним вивчення метаболізму СТ.

Отже, стан СТ характеризується безліччю параметрів, об'єднаних у систему, що пояснює складність вичленовування кожного з них при дослідженні їхньої ролі в механізмах функціонування всієї системи.

Ведучий патогенетичний фактор різний для кожної патології. У зв'язку з цим варто вивчити різноманітні сторони механізму функціонування цілісної системи на прикладах прояву провідних факторів патогенезу при різних патологіях. Так, це може бути порушення балансу між синтезом і деградацією компонентів СТ, порушення гістоархітектоніки СТ (порушення співвідношення типів колагену, поява атипичних форм колагену). При іншій групі патологій провідним фактором є зміна імуноцитокінового статусу, наприклад, при захворюваннях гастродуоденальної зони.

Функціонування СТ як фізіологічної системи припускає існування певних параметрів норми й напруги механізмів адаптації. Те, які сторони метаболізму даної системи і яким чином залучені в забезпечення адаптації організму, є вирішальним у визначенні спрямованості подальшого протікання процесів, зокрема зриву механізмів адаптації.

Злам регуляторних механізмів призводить до порушення і викривлення стереотипної захисно-приспосувальної реакції, відокремленню запалення і регенерації. Відбувається порушення кінетики, тобто швидкості цих процесів. Неадекватність системної відповіді СТ може призводити до системних ускладнень, аж до поліорганної недостатності.

При лікуванні хронічних захворювань внутрішніх органів, що супроводжуються фіброзоутворенням, при хірургічних втручаннях постає

питання оцінки репаративної функції СТ. Для цього є необхідним визначення ступеню активності проліферативної реакції та співвідношення рівнів біосинтезу і катаболізму колагену. Надмірність цих сторін метаболізму СТ лежить в основі фіброзу та склерозу, недостатність обумовлює наявність ран та виразок, які не загоюються тривалий час.

Все це пояснює багаторічний інтерес до СТ представників різних медико-біологічних спеціальностей. Однак, в останні роки у зв'язку з розвитком нових методів дослідження з'явилися нові відомості про регуляцію СТ на молекулярному рівні. Методи молекулярної біології відкривають нові можливості для отримання принципово нових даних про метаболізм всіх складових елементів СТ та її роль у регуляції гомеостазу, що дало можливість зробити значні успіхи у вивченні проблем СТ в нормі і патології. Однак через відсутність узагальнюючих праць, нові відомості про регуляцію СТ на молекулярному рівні розрізнені й хаотичні, питання регуляції СТ як системи – не вивчені зовсім.

Останні роки також характеризуються інтенсивною теоретичною розробкою і впровадженням у науку і практику системного підходу, під яким розуміються основні принципи дослідження об'єктів, що представляють собою складні системи, що розвиваються. Такі системи розглядаються як сукупність компонентів, взаємодія яких породжує нові якості, не притаманні самим компонентам.

Найважливішими властивостями складних систем є: ієрархічність організації, цілеспрямованість функціонування, велика кількість різноманітних елементів, наявність інформаційного зв'язку між елементами, наявність взаємодії між ними на основі прямих і зворотних зв'язків. Всі ці властивості в повній мірі притаманні СТ як фізіологічній системі. У зв'язку з цим є актуальним вивчення реакцій СТ організму при різноманітних порушеннях саме рівні СТ як системи.

### **1.3 Особливості участі фізіологічної системи сполучної тканини в розвитку різних патологічних станів**

Нерозривними компонентами цілісної адаптивної реакції СТ на пошкодження є запалення, регенерація та склероз, що представляють собою фази причинно-наслідкового ланцюга, кожна з яких готує і «запускає» наступну, визначаючи інтенсивність і поширеність її реалізації.

Одними з найбільш адекватних моделей для вивчення ролі адаптаційних резервів СТ у формуванні та прогресуванні патологічного процесу можуть бути хронічний пієлонефрит (ХП) і хронічний гепатит (ХГ). Відомо, що морфологічним еквівалентом прогресування ХП та ХГ є розвиток і прогресування склеротичних процесів в нирках і печінці з результатом в нефро- і гепатосклероз, які клінічно проявляються нирковою та печінковою недостатністю [207, 450]. Тривалий перебіг хронічного процесу супроводжується поступовою загибеллю функціонально активних структур із заміщенням ушкодженої паренхіми СТ. Тривалий вплив численних патогенних факторів, включаючи всі відомі механізми розвитку і прогресування ХП та ХГ, безсумнівно, можна розглядати як тривалий стресовий вплив, що вимагає тривалої активації клітинних систем СТ.

За даними епідеміологічних досліджень останніх років, приблизно 10% населення планети страждає хронічною хворобою нирок (ХНН) [26, 401, 418]. Вона є однією з головних чинників смертності [418, 500]. ХНН характеризується неухильно прогресуючим перебігом із поступовою втратою нефронів і розвитком ХНН. Причому початкові ознаки ХНН розвиваються тільки при склерозуванні більше 75% ниркової тканини. В нашій країні 90% захворювань нирок діагностуються несвоєчасно, в той час як лікування ХНН залежить від терміну виявлення патології [432].

Найбільш частою причиною розвитку ХНН є ХП. На думку Б.І. Шулутко (2002) [543] ХП це: "генетично обумовлене інфекційно-індуковане імунне ушкодження ниркової тканини з ініціальним переважним ураженням ниркового інтерстиція з подальшим залученням в патологічний процес усіх

структур нирки, що характеризується рецидивуючим перебігом, результатом якого є нефросклероз". За останні роки ХП став об'єктом численних досліджень і суджень. Однак, визнаючи певні досягнення у вивченні етіології і патогенезу ХП, слід зазначити, що однією з найскладніших проблем нефрології є рецидивування захворювання, яке в останні роки досягає 50% [406]. Тому проблема ХП, з'ясування механізмів прискорення темпів прогресування склеротичного процесу продовжує залишатися актуальною.

Прогресування всіх ниркових хвороб характеризує одна загальна риса – клітинна проліферація з подальшим накопиченням ПКМ СТ і зморщуванням тканини. При цьому гломерулосклероз і фіброз інтерстиція є ключовими елементами у розвитку термінальної стадії ниркової недостатності. Дослідження останніх років вказують на можливість впливу ряду факторів (гуморальних і клітинних) на процес фіброгенезу. Згідно законам загальної патології у відповідь на пошкодження (механічне або інфекційне) клітини виробляють комплекс вазоактивних, про- та протизапальних, просклеротичних і проапоптозних медіаторів. Результати численних досліджень, свідчать про існування механізмів інтеграції комплексу медіаторів запалення, дисбаланс яких обумовлює розвиток фіброзу в пошкоджених тканинах [496].

При тривалому пошкодженні тканини нирок відбувається значне накопичення в крові агресивних сполук (гуморальних медіаторів запалення), які надають вплив як безпосередньо на клітини органа-мішені, так і на основні клітинні елементи запалення, залучаючи їх у вогнище альтерації. У нирці вони представлені мезангіальними, проксимальними тубулярними клітинами, а також макрофагами (моноцитами), фібробластими і міофібробластими [443].

В літературі є численні, але досить розрізнені дані про динаміку окремих показників цитокінового статусу у хворих із захворюваннями нирок. Встановлено, що ІЛ-1 впливає не тільки на прогресування гломерулопатій, стимулюючи синтез молекул міжклітинної адгезії, але і на розвиток фіброзу



ниркового інтерстиція. При цьому він підсилює проліферацію фібробластів з нетиповим цитокіновим профілем (відповідаючих на дії IL-1, а не FGF, як повинно бути в нормі). Тому призначення препаратів, які пригнічують вплив IL-1 на клітини-мішені (фібробласти або мезангіальні клітини), може сповільнювати прогресування нефропатій. Дія його відрізняється синергізмом з TNF- $\alpha$  [453].

Ряд клінічних досліджень вказує на провідну роль IL-6 у розвитку нефропатій [101, 496]. Показано, що визначення рівня сироваткового IL-6 та аналіз його динаміки може бути використаний для оцінки ефективності терапії ХП [458]. Є думка, що рівень IL-6 є більш чутливим тестом, ніж С-реактивний білок, особливо на ранніх стадіях запального процесу [88]. Підвищення рівня IL-6 в крові та сечі спостерігалось у хворих з гломерулонефритами [370]. Виявлена кореляція між рівнем IL-6 в сечі і стадією гломерулонефриту. Збільшення його концентрації в плазмі крові при пієлонефриті поєднувалося з генералізованим ушкодженням ендотелію [417], що запускає основні ланки патогенезу цього захворювання: переважання синтезу ендотелієм вазоконстрикторних речовин, збільшення проникності судинної стінки, активацію згортальної системи крові, порушення мікроциркуляції. Визначення вмісту IL-6 в добовій сечі запропоновано в якості неінвазивного методу діагностики нефросклерозу при міхурово-сечовідному рефлюксі [496].

Експериментальні дослідження L. Hang із співавт. (2000) [168] встановили провідну роль IL-8-рецепторів у розвитку фіброзу ниркового інтерстиція при гострому пієлонефриті. Дисфункція зазначених структур призводила до порушення трансепітеліальної міграції нейтрофілів і формування ділянок нефросклерозу.

ХХН запускає складний комплекс патологічних реакцій, що призводять до порушень кісткового метаболізму [194]. Дисбаланс процесів ремоделювання кісткової тканини виникає вже на ранніх етапах розвитку ХХН, ускладнення призводять до формування ренальної остеодистрофії

[500]. Гіпероксипролінурія може відображати не тільки стан нефросклеротичних уражень, але й є маркером резорбції кісток [403]. У розвитку фіброзу при артеріальній гіпертензії основну роль відводять підвищеному утворенню колагену на фоні зниження його деградації. Виявлені зміни екскреції ОП з сечею та співвідношення його фракцій при захворюваннях нирок, що супроводжуються порушенням метаболізму колагену [451].

Проведені дослідження свідчать про існування механізмів інтеграції численних медіаторів запалення і продуктів обміну СТ, дисбаланс яких обумовлює розвиток фіброзу. Безсумнівно, дослідження в галузі патофізіології нефросклерозу відкривають широкі можливості для попередження, прогнозування перебігу, результату ХХН і вибору патогенетично обумовленого лікування.

Пильна увага багатьох вчених прикута сьогодні до проблем ХГ у зв'язку з їх широкою розповсюдженістю та розвитком важких ускладнень у вигляді послідовних стадій фіброзу з формуванням у підсумку цирозу і раку печінки, що вимагає своєчасної діагностики і моніторингу етапів розвитку для раннього втручання та корекції протоколу лікування [87, 419, 492].

Фіброгенез в печінці – універсальний патофізіологічний процес у відповідь на її пошкодження, що характеризується надлишковим відкладенням ПКМ СТ в результаті збільшення синтезу його компонентів і скорочення швидкості їх руйнування. Його основу становить надмірне накопичення білків ПКМ і підвищення активності тканинних колагеназ, основним джерелом яких є зірчасті клітини печінки.

Розвиток фіброзу печінки супроводжується накопиченням і відкладенням колагену I, III, IV типів, ламініну, фібронектину, протеогліканів, еластину і т.д. в просторі Діссе, що призводить до утворення сполучнотканинної мембрани в стінці внутрішньодолькових венозних капілярів. Порушення процесів обміну між кров'ю, що надходить через систему воротної вени, і гепатоцитами призводить до розвитку гіпоксії та

залученню гепатоцитів в процес фіброгенезу. При подальшому прогресуванні відбувається перебудова архітекtonіки печінкової тканини, розвивається цироз печінки [419, 492, 493] - кінцева стадія фіброзу, яка проявляється розвитком печінкової недостатності і супроводжується портальною гіпертензією [373, 523].

Актуальною проблемою для сучасної медицини є можливість оцінки в динаміці процесів фіброгенезу та факторів, що на них впливають. За останні кілька десятиліть накопичена значна інформація про фіброз печінки і механізми його прогресування [25, 119, 120]. Однак, на сучасному етапі різні клінічні і лабораторні та інструментальні методи дослідження дозволяють виявити пацієнтів з цирозом печінки, але діагностика менш виражених стадій фіброзу печінки як і раніше ускладнена і триває пошук більш чутливих маркерів [452].

Слід зазначити, що фіброз печінки є типовою реакцією [531], яка може служити прикладом різноманітних склеротичних процесів у паренхіматозних органах. При всьому розмаїтті патогенетичних факторів, механізм склерозу представлений однаковими патогенетичними ланками: пошкодження – запалення – репаративний (заміщувальний) склероз.

Після дії провокуючого фактора паренхіматозні клітини починають регенерувати і замінювати некротизовані або зазналі апоптозу гепатоцити. Цей процес протікає паралельно з запальною відповіддю і обмеженим накопиченням білків ПКМ. У разі персистенції пошкоджуючого фактора регенерація сповільнюється, і гепатоцити замінюються надмірною кількістю білків ПКМ, включаючи фібрилярний колаген, розподіл якого залежить від пошкоджуючого фактора [504].

Незважаючи на велику кількість досліджень, присвячених морфологічним аспектам регенерації печінки, проблема регуляції регенерації ще далека від вирішення. Пов'язано це в першу чергу з браком відомостей про глибинні механізми регенерації у фізіологічних умовах і при патологічних впливах. Успіхи останніх десятиліть в області молекулярної

біології і фундаментальної імунології дали потужний поштовх у вивченні регуляції регенерації на молекулярному рівні. У першу чергу це відноситься до цитокінів. В літературі є велике число робіт, присвячених ролі цитокінів у розвитку фіброгенезу печінки.

Аналіз літературних даних показав, що велику роль у розвитку та прогресуванні ХГ відіграють такі цитокіни, як TNF- $\alpha$  та IL-6. Зміна їх вмісту на фоні комбінованої противірусної терапії може відображати деякі механізми противірусної дії противірусних препаратів на HCV-інфекцію [96]. Існують роботи, що підтверджують роль даних цитокінів у формуванні фіброзу печінки [506], однак їх результати суперечливі.

Ряд дослідників вважає, що серед факторів росту ключовим медіатором у фіброгенезі печінки є TGF- $\beta$ 1 [25, 119], в той час як IL-10 та INF- $\gamma$  надають протилежний ефект [110, 119, 314]. TGF- $\beta$ 1 сприяє синтезу ПКМ, трансформації зірчастих клітин печінки в міофібробластоподібні клітини. Різні способи, що інгібують синтез TGF- $\beta$ 1 або сигнальні шляхи, які реалізуються за допомогою цього фактора, істотно знижують фіброзні зміни в експериментальних моделях [6].

Цікавим є також питання про взаємовідносини ФССТ з тромбоцитами у фібротичних процесах. Тромбоцити є учасниками першої фази запально-репаративної реакції при ушкодженні, безпосередньо виконуючи процеси згортання і відокремлення осередку пошкодження шляхом утворення тромбу. При цьому відбувається викидання з гранул тромбоцитів медіаторів запалення, серед яких речовини, що здійснюють прямий стимулюючий вплив на колагенсинтезуючі клітини, – PDGF, TGF- $\beta$ , ендотеліальний фактор росту, фактор росту гепатоцитів (HGF) та ін. [132]. PDGF є найбільш потужним мітогеном зірчастих клітин печінки, стимуляція його експресії призводить до порушення регуляторних процесів в печінці.

Однак незважаючи на розширення технічного арсеналу досліджень, проблема залишається невирішеною. Розуміння суті молекулярних основ фіброгенезу дає підстави для розробки простих і надійних неінвазивних

маркерів фіброзу паренхіматозних органів, ефективних антифіброзних препаратів.

Крім того, важливими окремими випадками вивчення ролі системи СТ як морфофункціонального субстрату здійснення компенсаторно-приспосовних реакцій організму є обструктивні стани органів панкреатодуоденальної зони (ПДЗ) та сечовивідних шляхів. Важливе місце серед ускладнень холелітіазу посідає папілостеноз, зумовлений фіброзом [520]. Достатньо частим захворюванням нирок, що потребують оперативного втручання є гідронефротична трансформація, що спричинена стриктурою мисково-сечовідного сегменту і сечоводу [529].

Виділення інформативних прогностичних факторів ризику розвитку післяопераційних ускладнень, асоційованих з порушеннями імунологічної регуляції системи СТ, безсумнівно, є актуальною задачею. В останні роки приділяється увага вивченню стану гомеостазу, імунологічного статусу та морфофункціонального стану СТ до, під час і після оперативних втручань, що дозволить виробити патогенетично обґрунтовану корекцію заздалегідь прогнозованих ускладнень [428]. Алгоритм диференційованого підходу до вибору методу хірургічного втручання та оцінки ступеня ризику розвитку післяопераційних ускладнень запального, деструктивного, системного і поліорганного характеру може бути заснований в тому числі і на лабораторних методах оцінки функціонального стану СТ [520].

Одним з проявів морфофункціональної патології СТ є патологія кісткової тканини – остеопороз. Небезпеку представляють ускладнення даної патології, значне погіршення якості життя, інвалідізація та смертність [2,139, 297, 340]. Найважчим ускладненням остеопорозу є остеопоротичні переломи проксимального відділу стегнової кістки [231, 285, 434]. У перший рік після перелому вмирає 30 % чоловіків і 20 % жінок [221].

Останніми роками актуальною науковою та практичною проблемою залишаються молекулярні механізми патогенезу остеопорозу. Міжклітинні медіатори посідають важливе місце у дослідженнях на цю тему, бо

відіграють ключову роль у функціонуванні процесів ремоделювання кісткової тканини. У основі цього багатофакторного системного захворювання полягають процеси порушення кісткового ремоделювання у бік переважання процесів резорбції кісткової тканини [84].

Під кістковим ремоделюванням розуміють збалансований перебіг процесів утворення кістки та її резорбції, безпосередніми учасниками якого виступають два типи клітин – остеобласти та остеокласти [280, 328, 366,]. Основу нормального метаболізму кісткової тканини складає збалансоване функціонування двох різноспрямованих процесів – остеосинтезу та резорбції кістки. Хоча вважається, що за утворення кісткової тканини відповідають остеобласти, а за її руйнування – остеокласти, у межах організму всі ці процеси виявляються набагато складнішими за рахунок тих міжклітинних медіаторів, які пов'язують ці клітини [343]. При клітинних взаємодіях виділяється низка біологічно активних речовин, які здійснюють впливи різних напрямків, завдяки чому відбувається регуляція і модуляція кісткового ремоделювання. Діяльність остеобластів і остеокластів регулюється багатьма з розчинних медіаторів імунних клітин, у тому числі цитокінами, хемокінами і факторами росту. Взаємовідносини між кістковою та імунною системами характеризуються роботою механізмів регуляції, які перекриваються між собою [192, 257, 383].

Основою міжклітинних взаємодій в процесах ремоделювання є такий їх стан, при якому остеобласти синтезують та виділяють RANKL. Останній активує RANK – рецептор-активатор ядерного фактора- $\kappa$ B, який знаходиться на остеокластах, і при надходженні RANKL остеокласти починають процеси резорбції кістки [284]. У межах цієї системи функціонує також і OPG, який є рецептором-пасткою для RANKL [379].

Також у цій схемі задіяно M-CSF (фактор, що стимулює утворення колоній макрофагів), стимулюючий проліферацію та диференціацію попередників остеобластів [315]. Цей фактор, як продукт діяльності остеобластів (а також стоволових клітин), піддається впливам різних факторів,

наприклад, паратиреоїдного гормону, вітаміну D3, IL-1, TNF, а також зворотну дію на нього здійснюють естрогени та OPG [362, 366].

Процеси резорбції у кістковій тканині починають переважати при набутті остеокластами надлишкової активності. Остеокластогенез контролюється ліганд-рецепторною системою цитокінів: RANK-RANKL-OPG [261, 310, 362, 379]. Пермисивну дію при цьому здійснюють M-CSF, RANK, який експресується на поверхні гемопоетичних клітин-попередників остеокластів [98]. RANKL експресується на остеобластах і стромальних клітинах, а також Т-лімфоцитах та інших клітинах, у відповідь на остеокластогенні фактори, такі як 1,25- дигідроксिवітамін D3 (1,25(OH)2D3), PGE2 та паратиреоїдний гормон. Ліганд, встановивши зв'язок з рецептором, стимулює диференціювання і активність остеокластів, інгібує апоптоз остеокластів. OPG – розчинний, «несправжній», рецептор RANKL, конкурентно гальмує зв'язування, блокуючи утворення остеокластів, підвищує масу кістки [151, 190].

RANKL, як фактор диференціювання остеокластів, експресується Т-клітинами на своїй мембрані для стимуляції дендритних клітин. Крім того, Т-клітини також вивільнюють його у вигляді розчинної форми. Миші з відсутнім геном RANKL мають дефект розвитку вторинних лімфоїдних органів (відсутність лімфовузлів і аномалії селезінки) і молочних залоз.

OPG широко експресується у більшості тканин людини, у тому числі на остеобластах кістки, а також ендотеліальних та гладком'язових клітинах судинної стінки [82]. OPG здатен зв'язувати TNF-зв'язаний ліганд, що індукує апоптоз, який експресується Т-лімфоцитами, ендотеліальними та гладком'язовими клітинами та здійснює захисну дію із запобігання апоптозу у клітинах інфільтрату при атеросклерозі та серцево-судинних захворюваннях [329, 360].

Тісний зв'язок між патологією кісток та атеросклерозом стимулював систематичне дослідження для виявлення загальних молекулярних медіаторів, які пов'язують скелетну та судинну системи [360]. У цьому

аспекті було показано декілька регуляторів обміну кісткової тканини та структурних білків, у тому числі OPG та RANKL, які експресуються у атеросклеротичних бляшках. Нещодавно на тваринних моделях було отримано істотні докази того, що OPG може відігравати захисну роль від патологічного звапніння судин, будучи потенціальним маркером початку атеросклерозу [259, 260, 304].

Примітно, що декілька клінічних досліджень показали тісний зв'язок між підвищенням рівню OPG та серцево-судинними захворюваннями, у тому числі ішемічною хворобою серця, захворюваннями периферичних артерій, гострим інфарктом міокарду, серцевою недостатністю, аневризмою черевної аорти, кальцифікацією судин та інсультом [249]. Підвищення рівня циркулюючого та тканинного OPG було пов'язано з ехогенністю бляшки сонної артерії та неврологічною симптоматикою [258]. Є дані, що сироватковий рівень OPG був позитивно зв'язаний з товщиною інтими у жінок із гестаційним діабетом [323].

У розвитку остеопорозу, який виникає перш за все за рахунок дефіциту естрогенів та вторинного гіперпаратиреозу, все більш чіткою стає роль імунної системи. Тобто, гострий чи хронічний дисбаланс у системі через інфекцію або запалення може сприяти системній (або локальній) втраті кісткової маси та підвищенню ризику переломів [65].

Паратиреоїдний гормон та IGF-1 мають синергізм у впливі на кісткову тканину і частково анаболічний ефект паратиреоїдного гормону опосередкований локальною продукцією IGF-1. За наявності підвищеного рівня IGF-1, паратиреоїдний гормон може здійснювати анаболічну відповідь у кістці навіть при повній відсутності тканинного IGF-1. Підвищення в сироватці рівня IGF-1 виявляється синергічним із дією паратиреоїдного гормону на кістку, тільки у випадку цілісності осі тканинного IGF-1. Таким чином, посилення анаболічної дії паратиреоїдного гормону є залежним від тканинного IGF-1 [50]. Одним з генів-кандидатів постменопаузального остеопорозу є ген кальцитоніну (CALCA) [407]. Поліморфні варіанти гену



CALCA і рецептору кальцитоніну асоційовані з рівнем мінеральної щільності кістки та ризиком розвитку переломів [124].

Естрогени, взаємодіючи із внутрішньоклітинними рецепторами остеобластів, підвищують проліферативну та функціональну активність клітин, одночасно знижуючи функцію остеокластів, стимулюючи продукцію остеобластами OPG. Серед різних видів плейотропних дій, які здійснюються естрогенами, – антиапоптотичний, протизапальний, судиннорозширюючий ефекти [50, 238]. Нещодавно були ідентифіковані взаємодії між 17 $\beta$ -естрадіолом і NF $\kappa$ B. Тривала активація NF $\kappa$ B пов'язана з численними запальними патологічними станами [326, 330, 364]. Його активація веде до клітинної проліферації шляхом індукції безлічі антиапоптотичних білків та пригніченню інших стрес-каскадів [235]. Одночасно можуть ініціюватися запальні реакції шляхом залучення і активації ефektorних клітин імунної системи [140], експресії прозапальних цитокінів.

Доведено, що естрогени запобігають втраті кісткової маси, регулюючи функції T-клітин та імунних взаємодій кісткових клітин [382]. Ключовими кроками у втраті кісткової маси, керованої дефіцитом естрогенів, є активація і розповсюдження TNF-продукуючих T-клітин. TNF- $\alpha$  підсилює формування остеокластів і резорбцію кісткової тканини як безпосередньо, так і шляхом збільшення чутливості дозріваючих остеобластів до есенціального остеокластогенного фактору RANKL [382].

Роль INF- $\gamma$  у патогенезі захворювань кісткової тканини багато в чому суперечлива [286, 388]. Є дані, що миші із дефіцитом INF- $\gamma$  або його рецептору виявляють посилену втрату кісткової маси, пов'язану з колаген-індукованим артритом [105]. INF- $\gamma$  є II типом інтерферону, який інгібує резорбцію кісткової тканини в результаті його впливу на попередники остеокластів, гальмує передачу сигналу RANK шляхом прискорення убіквітин / протеасома-опосередкованої деградації TRAF6 (фактор 6, асоційований з рецептором TNF) [388]. INF- $\gamma$  також стимулює резорбцію шляхом збільшення продукції RANKL і TNF- $\alpha$  в T-лімфоцитах. Більше того,

він пригнічує проліферацію остеобластів і має різноспрямований вплив на їх диференціацію.

Хронічні запальні захворювання впливають на кістковий метаболізм і часто пов'язані з наявністю остеопорозу [489]. Втрата кісткової маси регулюється різними медіаторами імунної системи, такими як прозапальні цитокіни: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, або INF- $\gamma$  [486]. TNF- $\alpha$ , головний цитокін при запальних захворюваннях кишківника людини, викликає ерозії кістки в експериментальних моделях і такий же вплив завдають остеокласти [195].

Інші цитокіни сімейства TNF, такі як RANK, його ліганд RANKL і OPG є важливими посередниками при запальних процесах в кишківнику і критично необхідними учасниками патофізіологічних процесів втрати кісткової маси [336]. Інформованість і рання діагностика остеопорозу при станах хронічного запалення, разом з вживаними методами лікування, такими як бісфосфонати, можуть бути корисні при остеопорозі, пов'язаному із запаленням. Хоча деякі механізми можуть сприяти остеопорозу у пацієнтів із запальними захворюваннями кишківника і целиакією, при яких запалення як важливий фактор досі не брали до уваги. Оскільки ключові медіатори запалення, такі як TNF- $\alpha$ , залучені в патологічний процес як в кишківнику, так і у кістці, вважають, що нейтралізація TNF- $\alpha$  може виявитися ефективною стратегією в лікуванні пов'язаного із запаленням остеопорозу в майбутньому [136].

RANKL має ряд властивостей, що мають відношення до атерогенезу, таких, як сприяння запальним відповідям у Т-клітинах і дендритних клітинах, індукція хемотаксичних властивостей моноцитів, індукування діяльності ММП у гладком'язових клітинах судин. Також було встановлено, що RANKL має протромботичні властивості. Підвищені рівні циркулюючого OPG були пов'язані з поширеністю і тяжкістю захворювання коронарних артерій, цереброваскулярних захворювань і захворювань периферичних судин [47].

Шлях OPG-RANK-RANKL був ідентифікований експериментальними даними як кандидат до системи, яка модулює ремоделювання судин і є компонентом механізму патогенезу серцево-судинних захворювань [37].

Експериментальними даними було підтверджено роль OPG як маркера фактора ризику і предиктору серцево-судинних захворювань і смертності в популяції [254]. Кальцифікація судин, яка є предиктором серцево-судинної смертності, поширена серед пацієнтів з атеросклерозом і ХНН. Процес кальцифікації нагадує скелетний остеогенез, в кальцифікованих артеріях локалізовані фактори, зв'язані з кістковою тканиною, що беруть участь як у формуванні, так і в резорбції кістки.

За даними W. Tseng (2010) [271] клітини аорти піддаються остеобластній диференціації та матриксній кальцифікації як спонтанно, так і у відповідь на агоністи протеїнкінази А. Було показано, що сигнальний шлях протеїнкінази А також бере участь у регуляції кісткової резорбції за допомогою стимуляції продукції остеобластами цитокінів, які регулюють активність остеокластів, у тому числі RANKL і інтерлейкінів. Таким чином, було досліджено, чи регулюють активатори протеїнкінази-А остеокластогенез у гладком'язових клітинах аорти. Обробка гладком'язових клітин мишей агоністом протеїнкінази-А – форсколином стимулювала експресію RANKL на рівнях матричної РНК і білка. Форсколин також стимулював експресію IL-6, але не OPG, інгібітору RANKL. Відповідно з цими результатами, диференціація остеокластів викликала в разі спільного культивування моноцитарних преостеокластів з обробленими форсколином гладком'язовими клітинами аорти. Окислені фосфоліпіди також в деякій мірі індукували експресію RANKL в Т-лімфоцитах, ще одному потенційному джерелі RANKL в судинній мережі. Оскільки попередні дослідження показали, що одна тільки обробка RANKL викликає матриксну кальцифікацію клітин клапану і судинних клітин, далі було з'ясовано, чи опосередковує RANKL форсколин-індуковану матриксну кальцифікацію гладком'язовими клітинами аорти. RANKL інгібування за допомогою OPG не

мало практично ніякого впливу на диференціацію остеобластів і матриксну кальцифікацію гладком'язових клітин аорти. Ці результати показують, що, як і у кістковій тканині, активація протеїнкази А індукує фактори резорбції кістки в судинній мережі і що кальцифікація гладком'язових клітин аорти, специфічно індукована протеїнказою-А, і не опосередкована RANKL.

Зараз у світі підвищено увагу до проблеми загальних патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань і порушень у кістковій тканині у літніх пацієнтів [208, 466, 507]. В основі цих процесів лежать порушення кальцієвого гомеостазу. Підтримання стабільного рівня кальцію в циркуляції забезпечується динамічною рівновагою кальцію кісткової тканини з кальцієм кровеносної системи. Кальцій є одним з найважливіших компонентів системи гемостазу.

Існують дослідження системи гемостазу, ліпідного та мінерального обміну у осіб старших вікових груп, що страждають ішемічною хворобою серця на тлі інволютивного остеопорозу. В роботі А.Г. Шехтман із співав. (2004) [541] було надано різносторонньої оцінки взаємозв'язку остеопенічного синдрому різного ступеню вираженості і показників агрегатного стану крові, ліпідного та мінерального обміну. Показано, що обумовлена віком втрата кісткової маси, зміни кальцієвого гомеостазу, функціональної активності тромбоцитів і ліпідного обміну, виявлені у пацієнтів старечого віку, є взаємопов'язаними процесами.

Брилякова С.Н. із співав. (2005) [413] встановили, що підвищення агрегаційної здатності тромбоцитів у хворих старечого віку, при значному зниженні мінеральної щільності кісткової тканини, є фактором ризику несприятливого перебігу і прогнозу ішемічної хвороби серця. У зв'язку з цим існує необхідність раннього виявлення остеопорозу у осіб старших вікових груп, адекватне лікування остеопенічного синдрому і корекція агрегаційної функції тромбоцитів. Авторами дослідження рекомендовано використовувати АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів, як параметр,

найбільш залежний від рівня мінеральної щільності кісткової тканини, для оцінки стану судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу.

У складні процеси керування ремоделюванням кісткової тканини залучені також адипокіни. Найвідоміша їх функція – регуляція прийому їжі та енергетичного обміну. Найбільш досліджений адипокін, лептин, сприяє насиченню та витратам енергії. Його циркулюючий рівень пропорційний жировій масі [295]. Деякі дані дозволяють припустити участь лептину у процесах регуляції кісткової маси. Наприклад, жінки з ожирінням у постменопаузі з підвищеним рівнем циркулюючого лептину та резистентністю до лептину, можливо, захищені від розвитку остеопорозу. Крім того, миші із гіпогонадізмом та ожирінням, які мають генетичний дефіцит лептину, демонстрували зниження об'єму трабекул у довгих кістках, але підвищену кісткову масу хребців, яка знижувалася при використанні лептину [229].

Адипонектин регулює ремоделювання кісткової тканини шляхом підвищення експресії RANKL та репресії OPG [10]. Підвищення рівня адипонектину може здійснювати руйнівний вплив на кістку шляхом підвищення рівня RANKL та інгібування продукції OPG, що підсилює кісткову резорбцію [8]. Тому агенти, здатні підвищувати рівень циркулюючого адипонектину, можуть покращувати не тільки енергетичний метаболізм або стан при атеросклерозі, але й також кістковий метаболізм. Встановлено значущий зв'язок між рівнем адипонектину в сироватці та маркерами кісткового метаболізму.

Деякі дослідження показали значне зворотне відношення між адипонектином та мінеральною кістковою щільністю, не залежною від маси тіла [306, 355]. Відзначена тенденція, при якій у пацієнтів з остеопорозом рівні адипонектину були вище, а також значний негативний зв'язок між адипонектином та мінеральною кістковою щільністю, значний позитивний взаємозв'язок між рівнями адипонектину та уринарного N-тілопептиду. Однак, як і у випадку з лептином, цей зв'язок не залежав від маси тіла.

Лептин знижує в сироватці рівень кальцію, фосфору та утворення активного  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Більш того, лептин, як виявилось, стимулює диференціацію васкулярних гладком'язових клітин і таким чином може здійснювати внесок до судинної кальцифікації, стимульованої гіперфосфатемією при ХНН [5, 19]. У пацієнтів з ХНН рівень адипонектину зворотно корелює з інтегральною та кортикальною об'ємною кістковою мінеральною щільністю, а рівень остеокальцину позитивно корелює з рівнем адипонектину [349].

Рівень адипонектину має позитивну кореляцію з рівнями кісткової специфічної лужної фосфатази та кісткових перехресно-зв'язаних N-тілопептидів колагену [294].

Адипонектин у сироватці пропорційний рівню остеокальцину [321, 349]. Також показано, що загальний рівень адипонектину має прямий зв'язок з рівнем кісткових перехресно-зв'язаних N-тілопептидів колагену та остеокальцину у чоловіків з діабетом та жінок у постменопаузальному періоді відповідно. Ці клінічні дані відповідають експериментальним даним про те, що остеокальцин підвищує експресію адипонектину в адипоцитах [102]. Виходячи з цього, адипонектин може прискорювати обмін у кістковій тканині, знижувати ламкість кісток, пов'язану з низьким кістковим обміном, що є типовим для пацієнтів із діабетом [301].

В деяких з досліджень була визначена негативна кореляція між рівнем адипонектину в сироватці і мінеральною кістковою щільністю у чоловіків при діабеті. Це деяким чином суперечить даним про стимулюючу дію адипонектину на остеобластогенез та формування кістки у експериментах *in vivo* та *in vitro* [7, 9].

Одним з можливих пояснень може бути те, що рівень адипонектину у пацієнтів з остеопорозом реактивно підвищується через стимуляцію його синтезу і секреції для захисту кісткової тканини від остеопенії. Це пояснення підтримується спостереженням про те, що рівень OPG у сироватці також негативно корелює з мінеральною кістковою щільністю, не дивлячись на те,

що він діє як рецепторна «пастка» для RANKL і захищає кістку від остеопенії шляхом інгібування активності остеокластів [159].

У патогенезі остеопорозу важливу роль відіграє ІЛ-17, який є продуцентом Th17-клітин – Т-лімфоцитів CD4+ [176, 342]. Він сприяє втраті маси кісткової тканини при колаген-індукованому артриті у мишей. Блокування дії ІЛ-17 у моделі ревматоїдного артриту миші зменшує симптоми захворювання. Ці спостереження вказують, що Th17-клітини можуть бути залучені до патогенезу втрати кісткової маси.

Тим не менш, роль Th17-клітин при викликаній дефіцитом 17 $\beta$ -естрадіолу втраті кісткової тканини досі не дуже зрозуміла. При дослідженні впливу 17 $\beta$ -естрадіолу на диференціювання Th17 у природних умовах та ІЛ-17-опосередкованій регуляції остеокластів і диференціації остеобластів виявлено, що у клітинах кісткового мозку миші 17 $\beta$ -естрадіол пригнічує опосередковану ІЛ-17 диференціацію остеокластів. ІЛ-17 інгібує утворення мінералізованих вузликів у остеобластах і цей ефект пригнічується 17 $\beta$ -естрадіолом.

Збільшення продукції ІЛ-17 індукує втрату кісткової маси за рахунок збільшення проостеокластогенних цитокінів, включаючи TNF- $\alpha$ , ІЛ-6 та RANKL остеобластів [166]. Функціональне блокування ІЛ-17 запобігає втраті кісткової маси. ІЛ-17, таким чином, відіграє важливу причинну роль у втраті кісткової маси і може розглядатися як потенціальна терапевтична мішень у патогенезі постменопаузального остеопорозу [107, 277].

Прикладом хронічного порушення регуляторної рівноваги СТ можна вважати синдромальні і позасиндромні форми дисплазії СТ (ДСТ). Під терміном ДСТ мається на увазі аномалія тканинної структури, що виявляється у зниженні вмісту окремих видів колагену або порушенню їх співвідношення. Це веде до розвитку "слабкості" (weakness) СТ і порушенню функції багатьох органів і систем [547].

ДСТ проявляється як вісцеральними порушеннями формоутворення органів і тканин, так і скелетопатіями, пов'язаними з генетично

детермінованою модифікацією СТ, наслідком якої є різні за ступенем вираженості і локалізації клінічні фенотипічні ознаки і синдроми.

Велика кількість захворювань розглядається як прояв ДСТ: аномалії шкіри, грижі, варикозне розширення вен [536], міопія, аномалії хребта, синдром ДСТ серця (пролабування мітрального клапана) [509], нирок [468] та інші.

Крім того, ДСТ дуже часто поєднуються з виникненням дефектів кровотворення (в тому числі тромбоцитопеніями і тромбоцитопатіями) та імунітету [424]. Для мезенхімальних дисплазій характерні недостатній розвиток колагенових структур та їх дезорганізація, слабкість зв'язкового апарату, аномалії скелета, структурні порушення в сполучнотканинному каркасі як великих, так і дрібних судин, неповноцінність ендотелію, дисфункція тромбоцитів [524]. Відзначено зв'язок деяких дисплазій (вроджені вади серця, синдром Елерса-Данло, Марфана та інші з розвитком геморагічного синдрому. Показано, що порушення в різних ланках системи гемостазу при мезенхімальних дисплазіях часті і закономірні [457].

ДСТ приділяється особлива увага в сучасній педіатрії. ДСТ розглядається як фон, що визначає особливості перебігу асоційованої патології з тенденцією до частого рецидивування і хронізації, меншою ефективністю традиційних схем лікування [465, 481].

В літературі є дані про високу поширеність ДСТ в дитячій популяції екологічно неблагополучного регіону [430], що значною мірою може визначати високу захворюваність у регіоні.

Недиференційовані форми ДСТ достатньо широко розповсюджені в популяції, з частотою за даними різних авторів від 14 до 85% [114, 162, 226]. При цьому стані із-за генетичних дефектів колагену, еластину, фібриліну або асоційованих з ними білків виникають порушення упаковки і зберігання ряду цитокінів, що веде до дисбалансу їх системної дії.

В роботі Муджикової О. М. із співавт. (2009) [478] виявлені порушення цитокинового профілю, в тому числі TGF- $\beta$ , при найбільш поширених



недиференційованих формах ДСТ. Показано, що хронічний надлишок TGF- $\beta$  і лептину у таких індивідів вступає в конфлікт із системними формами біорегуляції, диктує формування марфаноїдного габітусу і численні системні імунонейроендокринні порушення, включаючи хронічний аутоімунний тиреоїдит.

Зміни активності різних компонентів сигнального шляху TGF- $\beta$  пов'язані з цілою низкою спадкових порушень розвитку СТ, таких як синдром Марфана, синдром Льюїса-Дитца та ін. [287].

Регуляція морфогенезу тканин здійснюється під контролем білків ПКМ: численні фактори росту, їх рецептори, специфічні транскрипційні фактори [14]. В даний час мутації в 19 генах трансформуючих і фібробластних факторів росту асоційовані з 52 спадковими захворюваннями. Визначальна роль у морфогенезі хрящової і кісткової тканини належить суперсемеїству трансформуючих факторів росту- $\beta$ . Фактор TGF- $\beta$  є найсильнішим стимулятором експресії гена, що керує синтезом інтерстиціального колагену. Система TGF- $\beta$  контролює різноманітні клітинні процеси і грає важливу роль в розвитку тканин, гомеостазу і різних патологічних станів, таких, як аутоімунні та судинні захворювання, фіброз, неопластична трансформація [133]. Порушення системи під час ембріогенезу при закладці органів призводить до вроджених вад серця. Подовження і потовщення стулок мітрального клапану можуть бути викликані підвищеною активацією TGF- $\beta$ 1,2,3,4 [361].

Тому не дивно, що клінічні прояви захворювань, що обумовлені порушеннями морфогенезу СТ, перекриваються з клінікою спадкових колагенопатій. Білок FBN1 (ген, що кодує білок фібрилін-1) взаємодіє з TGF- $\beta$ , їх рецепторами і антагоністами внаслідок схожості будови фібриліну з прихованими TGF- $\beta$ -зв'язуючими білками [49].

Отже ДСТ є одним з таких станів, при якому уроджені розлади сполучнотканинного гомеостазу на молекулярному, тканинному та органному рівнях відбуваються за рахунок зміни стану та взаємозв'язків

регуляторних систем, зокрема системи цитокінів. При системних ДСТ має місце хронічний конфлікт місцевої і системної нейроендокринної регуляції, коли надлишок деяких цитокінів веде до мультиорганних аномалій, включаючи імунонейроендокринні порушення [538].

Значний інтерес спеціалістів викликає синдром ДСТ серця. Це пов'язано як зі збільшенням його частоти у дитячій популяції, поліпшенням діагностики за допомогою ультразвукового дослідження, так і з ризиком розвитку ускладнень. Приводяться дані про такі ускладнення, як важка мітральна регургітація, інфекційний ендокардит, тромбоемболія з міксоматозно змінених стулок клапана, порушення ритму і провідності серця та раптова смерть, найчастіше аритмічного генезу, що й визначає прогноз захворювання [81, 438, 530].

Незважаючи на те, що сьогодні описано не менше тридцяти малих аномалій розвитку серця, увага дослідників в основному повернута до пролапсу мітрального клапана і аномально розташованих хорд лівого шлуночка [4, 243, 425].

Так, встановлений вплив TGF- $\beta$ 1/2 на формування пролапсу мітрального клапана. Ступінь підвищення концентрації TGF- $\beta$ 1/2 корелювала з товщиною його задньої стулки ( $r=0,67$ ;  $p=0,016$ ), резидуальним прогином стулок ( $r=0,68$ ;  $p=0,007$ ) і ступенем резидуальної мітральної регургітації ( $r=0,56$ ;  $p=0,01$ ) [509]. У пацієнтів з високим вмістом TGF- $\beta$ 1/2 у сироватці крові спостерігалось достовірне зниження продольної систолічної і діастолічної деформації міокарда порівняно з такими у пацієнтів з нормальним вмістом TGF- $\beta$ 1/2. Таким чином, TGF- $\beta$  робить істотний вплив на прогресування міксоматозних змін мітрального клапану. Висока активність сигнального шляху TGF- $\beta$  поєднується зі зниженням скоротливої здатності лівого шлуночка, що зумовлено, ймовірно, його профібротичною активністю.

В літературі є дані про залежність продукції TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  від ступеня тяжкості недиференційованої ДСТ і виду вади органів сечової системи [469].

На думку авторів, при обструктивних видах пороку органів сечової системи середня і важка ступінь тяжкості недиференційованої ДСТ відповідальні за підвищену продукцію обох цитокінів і за темпи формування вторинних ускладнень. Виявлено зв'язок гіперцитокінемії з формуванням нефросклерозу на тлі різних ступенів тяжкості недиференційованої ДСТ. Показано, що TNF- $\alpha$  більшою мірою причетний до розвитку і прогресування інтерстиціального нефросклерозу при гідронефрозі, а IL-1 $\beta$  визначає рецидивуючий характер інфекційно-запального процесу. Оцінка впливу комплексної терапії пієлонефриту на продукцію TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  при різних ступенях тяжкості недиференційованої ДСТ показала збереження високих концентрацій цих цитокінів при середній/важкій ступені тяжкості, незважаючи на позитивний клінічний і лабораторний ефект терапії.

Є дані про зв'язок захворювань шлунково-кишкового тракту з різними проявами недиференційованої ДСТ [216]. Відомо, що функціональна недостатність фібробластів також складає основу хронічних ерозивно-виразкових процесів, фібробласти і інші клітинні елементи СТ служать джерелом ряду прозапальних цитокінів [511].

У той же час в основі імунопатогенезу ерозивно-виразкових уражень шлунка та дванадцятипалої кишки лежать зміни функціональної активності імунокомпетентних клітин, що супроводжуються дисфункціями продукції про- і протизапальних цитокінів. Так, наприклад, IL-1 $\beta$ , стимулюючи метаболізм СТ, викид із синовіальних клітин колагенази, одночасно є інгібітором синтезу і секреції HCl [464]. Крім цього, IL-1 $\beta$ , IL-6 та TNF- $\alpha$  регулюють синтез колагену, ріст, проліферацію і диференціювання фібробластів, функціональна активність яких визначає структурну характеристику поствиразкового рубця, орієнтування і щільність розташування колагенових фібрил [43].

Показано, що у хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки з недиференційованою ДСТ у фазі клініко-ендоскопічної ремісії зберігалися

більш високі рівні прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-8 та TNF- $\alpha$ ), що стимулюють метаболізм СТ, порівняно з хворими без ДСТ [511].

Отже, стан системи СТ має вирішальне значення у розробці нових алгоритмів оптимізації лікування великої кількості захворювань. Від механізмів реакцій, які в ній відбуваються, залежать особливості перебігу захворювань. Результати фундаментальних досліджень у цій сфері застосовуються у клінічній практиці недостатньо. Невирішеним завданням на цей час залишається необхідність на основі управління стереотипними реакціями СТ з урахуванням особливостей, властивих для конкретної патології, домогтися поліпшення діагностики та лікування. Тобто потрібно знайти ту ланку у вищезазначеному механізмі, яка найбільш страждає при даній патології, з метою її компенсації та виведення процесів репарації на рівень норми для загального одужання організму.

Розкриття механізмів патогенезу захворювань в теперішній час є можливим тільки при використанні системного підходу з урахуванням багатофакторності патогенетичних впливів. Комплексне дослідження коморбідного перебігу патологічних процесів може допомогти вирішити багато питань, що стоять зараз перед медичною наукою.

Особливо актуальною є розробка критеріальної бази для оцінки функціонального стану СТ. Найбільш перспективним напрямком у цих дослідженнях є активне використання досягнень медико-біологічних, фізико-хімічних та інших базових наук з його поглибленням до молекулярного рівня.

Останнім часом з'явилося достатньо інформації що до регулюючої дії молекулярних міжклітинних медіаторів, однак процеси регулювання на рівні ФССТ залишаються не вивченими. Враховуючи взаємодію регуляторних механізмів на всіх рівнях будови СТ, найбільш ефективно їх вивчення на моделі патологічних процесів паренхіматозних органів.

РОЗДІЛ 2  
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Експериментальні дослідження**

Дослідження проведено на 450 білих статевозрілих щурах (нелінійних щурах-самцях, щурах-самицях віком 6 місяців з масою тіла  $240 \pm 20$  г, щурах-самицях популяції Вістар у віці 3-3,5 місяці масою  $220 \pm 30$  г). Розподіл лабораторних тварин за серіями експериментів згідно із завданнями дослідження наведено в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин за серіями експериментів

№ з/п	Серії експерименту	Кількість та вид тварин
1	2	3
1.	Створення моделі експериментального порушення метаболізму кісткової тканини глюкокортикоїдами (ГК)	50 щурів
2.	Створення моделі експериментального порушення стану нирок – хронічної ниркової недостатності (ХНН)	50 щурів
3.	Створення моделі поєданого впливу ХНН та глюкокортикоїдів (ХНН+ГК)	50 щурів
4.	Створення моделі експериментального порушення метаболізму кісткової тканини під впливом іммобілізаційного стресу та запалення (ІС+З)	50 щурів
5.	Створення моделі експериментальної патології органів ПДЗ введенням жовчі	50 щурів
6.	Створення моделі експериментальної патології органів ПДЗ при гострій хірургічній патології	50 щурів
7.	Створення моделі експериментального фіброзу печінки інтрагастральним введенням розчину $CCl_4$	50 щурів

## Продовження таблиці 2.1

1	2	3
8.	Створення моделі експериментального фіброзу печінки інтраперитонеальним введенням розчину $CCl_4$	50 щурів
9.	Контрольна група	50 щурів

Експериментальну глюкокортикоїдну модель порушення метаболізму кісткової тканини здійснювали шляхом введення 7,5 мг/кг дексаметазону фосфату внутрішньом'язово двічі на тиждень протягом місяця за модифікованою нами методикою створення моделі глюкокортикоїдного остеопорозу [505].

Модель експериментального порушення ремоделювання СТ внаслідок ХНН здійснювали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 50% розчину гліцерину в дозі 10 мл/кг маси тіла тварини [473].

Методика для моделі з ХНН вибиралася з урахуванням наступних вимог: індукція ХНН повинна здійснюватися шляхом одноразового впливу високої інтенсивності, чому відповідає створення гострого пошкодження нирок; фактор, що створює гостре пошкодження нирок, повинен мати неінфекційну природу і повністю усуватися з плином часу; ХНН повинна розвиватися навіть після усунення первинного впливу, який його викликав. Усім цим умовам відповідає модель індукції ХНН розчином гліцерину [455]. При створенні даної експериментальної моделі через 8 тижнів після ін'єкції гліцерину формується хронічне порушення видільної функції нирок. Основою гострого пошкодження нирок є дистрофічні і некротичні процеси в епітелії проксимальних та дистальних каналців, а перехід в стадію ХНН (через 32 тижні після введення гліцерину) характеризується формуванням інтерстиціального нефриту і нефросклерозу. Розвиток ХНН контролювали згідно з методикою авторів моделі.

Група щурів з поєднанням ХНН і глюкокортикоїдного впливу піддавалася спочатку ін'єкції 50% розчину гліцерину і через 1 місяць після цього – введенню дексаметазону фосфату протягом місяця.

Імобілізаційний стрес створювали висадкою тварин в тісні пенали на 4 години щодня протягом місяця за методикою І.А. Коломейцевої (1988) [454] зі змінами. Модель хронічного запалення відтворювали 10 ін'єкціями по 0,5 мл суміші жовчі великої рогатої худоби та свиней (жовч медична консервована виробництва України) внутрішньочеревно в проекції печінки щодня. Запалення починали викликати через місяць від початку створення імобілізаційного стресу.

Експериментальну патологію органів ПДЗ моделювали шляхом введення в проекцію даної області 50% розчину консервованої медичної жовчі по 0,1 мл для кожного щура 2 рази на тиждень протягом 4 місяців (всього 30 ін'єкцій) [21]. Дослідження показників метаболізму СТ проводилося у динаміці: через 1, 2, 3 та 4 місяці після початку ін'єкцій жовчі. Через 3 місяці частині експериментальних тварин з лікувальною метою для зниження токсичного ефекту було проведено серію ін'єкцій пентоксифіліну. Тваринам, яким ін'єкції пентоксифіліну не проводили склали 1 підгрупу даної моделі експерименту (25 щурів), 2 підгрупу склали тварини, які отримували ін'єкції пентоксифіліну з лікувальною метою (25 щурів).

Гостру хірургічну патологію органів ПДЗ створювали шляхом серединної лапаротомії [422], яку виконували в умовах операційної віварію Центральної науково-дослідної лабораторії Харківської медичної академії післядипломної освіти під внутрішньовенним кетаміновим наркозом, дотримуючись «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які співпадають з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Мікроскопічне дослідження зразків печінки і підшлункової залози проводили через 1 та 4 місяці після операції.

Експериментальний фіброз печінки моделювали шляхом інтрагастрального введення 40% олійного розчину  $\text{CCl}_4$  з розрахунку 0,3 мл на 100 г ваги тварини двічі на тиждень протягом 2 місяців [141]. Дослідження показників метаболізму СТ проводилося через 4, 5, та 8 тижнів після початку експерименту.

При інтраперитонеальному способі моделювання експериментального фіброзу печінки ін'єкції 40% олійного розчину  $\text{CCl}_4$  проводили один раз на тиждень. При цьому способі введення  $\text{CCl}_4$  досліджувані періоди були зрушені на більш пізній час – через 2 і 2,5 міс після початку експерименту.

Контрольна група – інтактні тварини.

Рівень інтерлейкінів у крові визначали після закінчення моделювання порушень СТ. Кров для дослідження тварин брали із серця. Для знеболювання використовували хлороформ.

Порушення ремоделювання кісткової тканини контролювали за допомогою прямого вимірювання щільності кістки, яку розраховували як відношення маси кістки до обсягу даної кістки ( $\text{cm}^3$ ) [501]. Обсяг кістки визначали за об'ємом витісненої рідини.

***Джерело отримання тварин, їх утримування та спосіб умертвіння.***

Лабораторні тварини вирощені у розпліднику віварію Центральної науково-дослідної лабораторії Харківської медичної академії післядипломної освіти. Всі маніпуляції з тваринами проводили згідно з міжнародними вимогами про гуманне ставлення до тварин та з дотриманням вимог директиви 86/609/ЕЕС з питань захисту тварин, а також «Методичними рекомендаціями по виведенню лабораторних тварин з експерименту», відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та «Загальними принципами експериментів на тваринах», схвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [483].

Усі маніпуляції, які можуть завдати болю, проведені під внутрішньовенним кетаміновим наркозом. Щури утримувались на



звичайному харчовому та водному раціоні, по 10-15 голів у стандартних пластикових клітках. Комітетом з біоетики Харківської медичної академії післядипломної освіти (протокол № 3 від 21 березня 2013 року) встановлено, що проведені дослідження не суперечать загальноприйнятим біоетичним нормам з дотримання відповідних міжнародних положень стосовно проведення експериментальних досліджень. Дослідження проводили в Центральній науково-дослідній лабораторії Харківської медичної академії післядипломної освіти, яка атестована ГОМС МОЗ України (Свідоцтва про атестацію № 002220 від 07 липня 2005 р., №000953 від 12 листопада 2008 р., № 009/11 від 18 жовтня 2011 р., №095/15 від 08 грудня 2015 р.).

### **Клінічні дослідження**

**Характеристика хворих на гідронефроз.** Нами були досліджені показники стану ФССТ та цитокіновий статус у 174 хворих на гідронефроз II-III стадій, що був зумовлений обструкцією верхніх сечовивідних шляхів різної етіології та мав різний перебіг. Усі пацієнти знаходились на лікуванні та були прооперовані в умовах стаціонару КЗОЗ «Обласний клінічний центр урології та нефрології ім. В.І. Шаповала» і Центру малоінвазивних технологій та серцево-судинної хірургії Харківського національного медичного університету. Серед хворих домінували жінки – 103 (59,2 %), а чоловіків було 71 (40,8 %), середній вік становив  $38,4 \pm 3,8$  року.

Всі хворі були розподілені на чотири групи. Групи були репрезентативні за віком, статтю, підходами до оперативного втручання і характеристикою післяопераційного періоду.

1 групу формували 52 хворих (29,9 %) на гідронефроз II-III стадій, що був зумовлений вродженими обструкціями, які протягом 4,5 років після оперативного втручання не мали рецидивів захворювання.

2 групу становила 51 особа (29,3 %), що була хвора на гідронефроз II-III стадій, зумовлений вродженими обструкціями, у яких протягом

досліджуваного періоду після оперативного лікування спостерігався рецидив захворювання.

3 групу склали 50 хворих (28,7 %) на гідронефроз II-III стадії, зумовлений набутими обструкціями, які протягом 4,5 років після оперативного втручання не мали рецидивів захворювання.

4 групу формувала 21 особа (12,1 %), що була хвора на гідронефроз II-III стадій, зумовлений набутими обструкціями, у якої протягом досліджуваного періоду спостерігався рецидив захворювання.

Контрольна група – 30 здорових осіб, репрезентативних за віком і статтю.

**Характеристики хворих з обструктивними захворюваннями панкреатодуоденальної зони.** Нами були досліджені показники стану ФССТ та цитокіновий статус у 133 хворих з обструктивними захворюваннями ПДЗ. Усі хворі проходили обстеження і лікування та були прооперовані на базі Харківської медичної академії післядипломної освіти. Серед хворих переважали чоловіки – 101 особа (75,9%), жінок було значно менше – 32 людини (24,1%). До 45 років було 11 хворих (8,3%), від 45 до 65 років – 53 хворих (39,9%) і старше 65 років – 69 хворих (51,8%).

У дослідження включалися всі хворі з обструктивними процесами у ПДЗ, з попередньо оціненим хірургічним ризиком, незалежно від конкретної причини обструкції. Причиною обструкції ПДЗ з'явилися: рак головки ПЗ – 45,1%, хронічний панкреатит – 22,1%, стенозуючий папіліт – у 12,5%, рак фатерова соска – у 11,8%, рак холедоха – у 4,3%, стриктура холедоха – у 3,9%, рак дванадцятипалої кишки – у 0,3% хворих. Оскільки хворі не виключалися з дослідження залежно від виду патології, наша вибірка є репрезентативною для всієї популяції хворих з гострою обструктивною патологією ПДЗ. Надалі всі хворі були розділені на три групи в залежності від наявності та тяжкості післяопераційних ускладнень. 1 групу з відсутністю або мінімальною тяжкістю ускладнень склали 66 (49,6%) хворих, 2 групу з ускладненнями середньої тяжкості (панкреатит, холангіт, гепатит, гастро-

дуоденостаз, пневмонія) – 52 (39,1%) хворих, 3 групи з тяжкими системними ускладненнями (гостра печінкова недостатність, поліорганна недостатність, гостра шлунково-кишкова кровотеча, внутрішньочеревна кровотеча) або летальним результатом – 15 (11,3%) хворих. Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб відповідного віку та статі.

***Характеристики хворих на хронічний пієлонефрит, хронічну хворобу нирок та остеодистрофію.*** Хворі з захворюваннями нирок перебували на лікуванні в 26-ій клінічній лікарні м. Харкова на базі Харківської медичної академії післядипломної освіти, КЗОЗ «Обласний клінічний центр урології та нефрології ім. В.І. Шаповала» і Центру малоінвазивних технологій та серцево-судинної хірургії Харківського національного медичного університету.

Досліджували біологічний матеріал 120 хворих на ХП. Залежно від ступеня вираженості склеротичних змін ниркової тканини, що проявилися розвитком ниркової недостатності, у відповідності з клінічним діагнозом, рівнем креатинінемії і швидкості клубочкової фільтрації [94, 230], виділені дві групи хворих: 1 групу склали 72 хворих на ХП без ХНН, 2 групу склали 48 хворих на ХП з ХНН I-II стадій. Групи обстежуваних формувалися з урахуванням вікової стабілізації обміну колагену. Більшість склали особи молодого (близько 35%) та зрілого віку (близько 40%) (відповідно до класифікації ВОЗ), серед них близько 25% чоловіків і близько 75% жінок в кожній з груп.

Для вивчення діагностичного значення показників ФССТ у додіалізних хворих на ХХН I-III стадії різного етіологічного походження (пієлонефрит (46 %), гломерулонефрит (42 %), діабетична нефропатія (12 %)) досліджували біологічний матеріал у 65 пацієнтів з ХХН віком від 22 до 60 років, серед них 42 жінки (65 %) та 23 чоловіка (35 %). Розподіл пацієнтів відбувався в залежності від стадії ХХН. Пацієнтів з ХХН I стадії було 33 хворих (1 група), з ХХН II стадії – 18 хворих (2 група), з ХХН III стадії – 14 хворих (3 група).

В залежності від наявності та відсутності артеріальної гіпертензії хворі були розподілені на дві групи: 34 пацієнти з ХХН та артеріальною гіпертензією (1 група), 31 пацієнт з ХХН без артеріальної гіпертензії (2 група). Критеріями виключення із дослідження були хворі старше 60 років та пацієнти із супутньою патологією кістково-хрящової системи.

Досліджували біологічний матеріал 96 хворих з остеодистрофією внаслідок ХНН у віці від 19 до 65 років. Серед них 34 чоловіки та 62 жінки. Причиною розвитку ХНН у 50 з них був ХП, у 46 – хронічний гломерулонефрит. У відповідності з клінічним діагнозом, рівнем креатинінемії і швидкості клубочкової фільтрації виділені 3 групи хворих. Першу групу склали 54 хворих з ХНН I стадії (креатинін крові 0,17-0,44 ммоль/л). Другу групу – 26 хворих з ХНН II стадії (креатинін крові 0,44-0,88 ммоль/л). Третю групу – 16 хворих з ХНН III стадії (креатинін крові більше 0,88 ммоль/л), з них 8 хворих отримували лікування гемодіалізом. Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб, порівнянних за статтю і віком із групами спостереження.

Прогресування захворювання нирок визначали як зниження ниркової функції, оціненої за допомогою визначення швидкості клубочкової фільтрації, кліренсу ендogenous креатиніну або креатиніну сироватки (вище 0,2 ммоль/л) [543], у пацієнтів, які були обстежені у динамиці вірогідними і порівнянними методами, або за початком ниркової недостатності, що визначався початком нирково-замісної терапії або симптомами чи ускладненнями зниженої функції нирок [242]. При розподілу на групи критерієм визначення ХХН вважали зниження швидкості клубочкової фільтрації на 25% або більше порівняно з вихідним за Клінічними практичними настановами KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes, 2012) [181].

Для вивчення ролі міжклітинних медіаторів у метаболізмі СТ досліджували їх рівні у дітей з кардіопатією та остеопенією на тлі недиференційованої ДСТ з вісцеральними проявами. Обстежено 80 дітей з

кардіопатією та остеопенією, які проходили обстеження та лікування на базі Харківської медичної академії післядипломної освіти (досліджувана група). Діти були віком від 8 до 14 років. Хлопчиків – 42, дівчаток – 38. Контрольну групу склали 30 здорових дітей аналогічного віку. Діагноз встановлювали згідно з результатами клініко-анамнестичних та лабораторно-інструментальних досліджень.

**Характеристики хворих на хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту.** Показники обміну СТ вивчали у 200 осіб із захворюваннями шлунка різної тяжкості у віці від 25 до 63 років, серед них 144 чоловіки і 56 жінок. Хворі були розділені на 4 груп по 50 осіб кожна. Групи були сформовані таким чином, щоб тяжкість патологічного процесу в шлунку і ризику для здоров'я зростали від групи 1 до групи 4. До 1 групи були віднесені особи, які страждають хронічним гастритом (нормацидним, гіпоацидним), тривалість захворювання у яких складала 1-2 роки, а спеціалізоване лікування давало швидкий ефект. До групи 2 були віднесені хворі, які страждають більше 2-х років вищезазначеним видом патології, а також виразковою хворобою шлунка з частими загостреннями і з недостатньо ефективними результатами лікування. До групи 3 були віднесені особи з аналогічними видами патології (виразкова хвороба шлунка, гастрит), при цьому перебіг захворювання носив тривалий і виражений сезонний характер, а також хворі з кальозними виразками шлунка, поодинокими поліпами і поліпозом шлунка. При цьому консервативна терапія була малоефективною. Група 4 була представлена хворими з онкопатологією шлунка IB (pT<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) та II (pT<sub>2</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>, pT<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) стадій, пухлини локалізувалися в тілі, проксимальному і антральному відділі шлунка. У 74,1% хворих виявлена аденокарцинома, у 25,9% – перстневідноклітинний рак шлунка. У 7,4% пухлина була високого ступеня диференціювання (G1), у 25,9% – помірною (G2), у 66,7% – низькою (G3). Контрольна група складалася з 50 практично здорових осіб, у яких на момент обстеження не було виявлено захворювань шлунково-кишкового тракту.

Досліджували біологічний матеріал 70 підлітків (юнаків – 42, дівчат – 28) у віці 15-18 років, які страждають на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки. Тривалість захворювання – від 1 до 3 років. Діагноз верифікований на підставі клініко-анамнестичного, ендоскопічного та морфологічного дослідження. Контрольну групу склали 30 здорових підлітків відповідного віку та статі. Всі хворі проходили обстеження та лікування на базі Харківської медичної академії післядипломної освіти.

**Екологічні дослідження.** Дослідження проводилися в однорідних групах (зіставні вибірки). Групи формувалися з практично здорових осіб, не зв'язаних із шкідливими умовами на виробництві і в побуті з урахуванням статевовікового складу. Показники ФССТ досліджували у 102 практично здорових осіб віком від 20 до 52 років (62 % жінок і 38 % чоловіків), жителів м. Харкова, які проживають в районах міста з різним екологічним навантаженням: 51 службовця 11-ї поліклініки Московського району м. Харкова як умовно «чистого» та 51 службовця 24-ої поліклініки Жовтневого району м. Харкова як умовно «брудного». Для виявлення ступеня екологічного навантаження і виділення «чистого» і «брудного» районів була проведена комплексна гігієнічна оцінка стану навколишнього середовища, що включає оцінку забруднення повітря, ґрунту і водних джерел в м. Харкові і Харківській області.

В якості контингенту для дослідження біологічного матеріалу були обрані практично здорові люди, які на момент обстеження виконували повний обсяг своїх професійних обов'язків і вели звичний для них спосіб життя. Частина з них (41 % від усіх обстежених) за вибраними клінічними критеріями була "абсолютно" здорова, частина (59 %) протягом останніх трьох років до моменту обстеження мали рецидиви хронічних захворювань і перебували у стадії повної клінічної ремісії. Показники аналізувалися в 4-х групах обстежених осіб:

1 група об'єднувала всіх обстежених умовно «чистого» району, включаючи осіб з наявністю в анамнезі хронічних захворювань;

2 група включала всіх обстежених умовно «брудного» району, включаючи осіб з наявністю в анамнезі хронічних захворювань;

3 і 4 групи – це практично здорові люди відповідно «чистого» та «брудного» районів, в анамнезі яких були відсутні хронічні, а також гострі захворювання під час обстеження.

### **Методики дослідження**

**Інтерлейкін-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )** визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-1 $\beta$ -ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для імуноферментного визначення концентрації IL-1 $\beta$  в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до IL-1 $\beta$ . Набір розрахований на визначення в діапазоні концентрації 0-250 пг/мл. Мінімальна достовірно визначаєма набором концентрація не перевищує 1 пг/мл.

**Інтерлейкін-1RA (IL-1RA)** визначали по набору реагентів «РА Інтерлейкіну-1-ІФА-БЕСТ (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до IL-1RA. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-3000 пг/мл, чутливість аналізу 10 пг/мл.

**Інтерлейкін-2 (IL-2)** визначали по набору реагентів ProCon IL-2 (Росія), призначеному для кількісного визначення IL-2 в біологічних рідинах в інтервалі концентрацій 0-1000 пг/мл. Метод визначення заснований на твердофазному імуноферментному аналізі із застосуванням пероксидази хрому в якості індикаторного ферменту. Один тип антитіл мобілізують на внутрішніх поверхнях лунок. Інший тип антитіл – поліклональні антитіла до молекули IL-2, знаходяться в наборі у вигляді розчину. Індикаторним компонентом є кон'югат пероксидази хрому з антивидовими поліклональними антитілами. Після інкубацій і промивок в лунки вносять кон'югат пероксидази, знову інкубують, промивають, вносять субстрат і

вимірюють активність зв'язаної пероксидази з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів при 450 нм.

***Інтерлейкін-4 (ІЛ-4)*** визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-4-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-4. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-400 пг/мл, чутливість аналізу 2 пг/мл.

***Інтерлейкін-6 (ІЛ-6)*** визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-6-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-6. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-300 пг/мл, чутливість аналізу 0,5 пг/мл.

***Інтерлейкін-8 (ІЛ-8)*** визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-8-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-8. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-250 пг/мл, чутливість аналізу 2 пг/мл.

***Інтерлейкін-10 (ІЛ-10)*** визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-10-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-10. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-500 пг/мл, чутливість аналізу 1 пг/мл.

***Інтерлейкін-17 (ІЛ-17)*** визначали по набору реагентів «Інтерлейкін-17-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія) для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із



застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-17. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-500 пг/мл, чутливість аналізу 2 пг/мл.

**Фактор некрозу пухлини (TNF- $\alpha$ )** визначали по набору «альфа-ФНП-ІФА-БЕСТ» (ВЕКТОР-БЕСТ, Росія). Набір призначений для кількісного визначення TNF- $\alpha$  в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод визначення заснований на твердофазному «сандвіч» - варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до TNF- $\alpha$ . Діапазон вимірюваних концентрацій 0-250 пг/мл. Мінімально визначаєма концентрація не перевищує 2 пг/мл. На першій стадії аналізу досліджувані і контрольні зразки інкубували в лунках з іммобілізованими антитілами. Наявні в зразках інтерлейкіни зв'язувалися з іммобілізованими антитілами. Матеріал, який не зв'язався, видалявся відмиванням. Зв'язавшийся інтерлейкін взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до будь-якого з інтерлейкінів з біотином). Незв'язавшийся кон'югат видаляли відмиванням. На третій стадії зв'язавшийся кон'югат №1 взаємодіяв при інкубації з кон'югатом № 2 (стрептавідин з пероксидазою хрому). Після третього відмивання кількість зв'язавшогося кон'югата №2 визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому – перекису водню і хромогена – тетраметілбензидина. Реакцію зупиняли додаванням стоп-реагенту і вимірювали оптичну щільність (ОЩ) розчинів в лунках при довжині хвилі 450 нм. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна концентрації, що міститься в зразку інтерлейкіну. На підставі калібрувального графіка розраховували концентрацію інтерлейкіну в аналізованому зразку.

**Ampli-sRANKL** визначали по набору «ampli-sRANKL human» (BIOMEDICA, Австрія), призначеного для кількісного визначення ampli-sRANKL в людській сироватці, плазмі, супернатанті клітинних культур методом імуноферментного аналізу. Набір розрахований на визначення в діапазоні 0-2 пмоль/л. Чутливість набору 0,02 пмоль/л. На поверхню лунок стрипів попередньо нанесений рекомбінантний OPG. У відповідні лунки

вносили стандарти, контролі або досліджувані зразки, а потім біотиніліровані анти-sRANKL антитіла. Стрипи заклеювали та інкубували добу при кімнатній температурі і струшуванні. Після закінчення часу інкубації компоненти, що не зв'язалися, видаляли і промивали лунки. Потім вносили кон'югат – стрептавідин лужну фосфатазу і знову інкубували. Стрипи промивали і вносили спочатку Amplifier A (органічна сіль і буферний розчин ферменту з тетразолієм фіолетовим) а потім Amplifier (стабілізований розчин NADPH). Плашку інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Зупиняли реакцію внесенням у всі лунки стоп-реагенту і відразу ж вимірювали ОЩ розчинів в лунках при 490 нм. За отриманими даними будували калібрувальний графік і по ньому визначали концентрацію ampli-sRANKL в зразках.

**Остеопротегерин (OPG)** визначали по набору «Human Osteoprotegerin Instant ELISA» (Bioscience, Австрія). Набір призначений для кількісного визначення в біологічних рідинах і культуральних середовищах. Метод визначення заснований на твердофазному варіанті імуноферментного аналізу з використанням поліклональних антитіл до людського OPG. Діапазон вимірюваних концентрацій 0-1000 пг/мл. Мінімально визначаєма концентрація не перевищує 2,5 пг/мл. На поверхні лунок адсорбовані антитіла до OPG. При додаванні в лунки планшета досліджуваних зразків відбувалося зв'язування антитіл до OPG з людським OPG. Потім відбувалося зв'язування з розташованим там же на поверхні лунок біотиновим і стрептавідиновим кон'югатами. Лунки планшета заклеювали і інкубували протягом 3-х годин при кімнатній температурі і легкому струшуванні. Після інкубації біотиновий і стрептавідиновий кон'югати, що не зв'язалися, видаляли промиванням лунок. У всі лунки вносили розчин субстрату – пероксидазу хрому з тетраметілбензидином. Фарбування розчину в лунках пропорційно вмісту в них OPG. Реакцію зупиняли внесенням кислоти. Вимірювали ОЩ лунок при 450 нм. За калібрувальним графіком,

побудованим в логарифмічному форматі, визначали концентрацію OPG в досліджуваних зразках.

**Трансформуючий фактор росту –  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ )** визначали набором «TGF- $\beta 1$ ELISA» (DRG, Німеччина), призначеним для кількісного визначення TGF- $\beta 1$  методом «сандвіч»-варіанту твердофазного імуноферментного аналізу в сироватці, плазмі крові або супернатанті клітинних культур. Набір розрахований на визначення TGF- $\beta 1$  у діапазоні 0-600 пг/мл, мінімально виявляема концентрація TGF- $\beta 1$  даними набором становить 1,9 пг/мл. Перед тестуванням стандартів і зразків їх розводили у буфері для аналізу, підкислювали HCl, а потім нейтралізували NaOH. Потім нейтралізовані стандарти і зразки вносили у лунки, вкриті поліклональними антитілами, заклеювали плашку і інкубували протягом 8-16 годин у холодильнику при 4°C. Після інкубації матеріал, що не зв'язався видаляли промиванням. Потім вносили у всі лунки антисироватки (моноклональні мишачі антитіла до TGF- $\beta 1$ , заклеювали і знову інкубували протягом 2-х годин при кімнатній температурі. Матеріал, що не зв'язався, видаляли промиванням. Вносили у всі лунки ензимний кон'югат (антимишиний біотин). Інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Знову видаляли промиванням матеріал, що не зв'язався, і вносили у всі лунки ензимний комплекс (стрептавідин - пероксидаза хрому). Інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Видаляли незв'язаний матеріал і вносили розчин тетраметілбензидина. Інкубували в темному місці 15 хвилин. Фарбування в лунках прямо пропорційно концентрації TGF- $\beta 1$  в досліджуваних зразках. Реакцію зупиняли внесеним у всі лунки розчину кислоти – стоп-реагенту. Вимірювали OЩ лунок при 450 нм. Будували калібрувальний графік і по ньому визначали концентрацію TGF- $\beta 1$  у зразках.

**Адипонектин** визначали по набору «Human Adiponectin ELISA» (BioVendor, Чехія). Набір призначений для кількісного визначення адипонектину в сироватці або плазмі крові методом імуноферментного аналізу. Діапазон визначуваних концентрацій 0-10 мкг/мл, чутливість набору

становить 0,026 мкг/мл. В ході аналізу передбачається одночасне інкубування стандартів, контролів та зразків в лунках планшета, попередньо покритих рекомбінантним адипонектином та внесеним туди ж кон'югатом, що складається з поліклональних антитіл проти людських антитіл адипонектину, кон'югованих з пероксидазою хрому. Планшет заклеювали та інкубували 2 години при кімнатній температурі і легкому струшуванні. Потім видаляли компоненти, що не зв'язалися, промиванням і вносили у всі лунки субстрат і знову інкубували в темному місці. Стежили за розвитком фарбування в лунках – чим вище концентрація, тим нижче ОЩ. Зупиняли реакцію внесенням розчину кислоти. Вимірювали ОЩ розчинів в лунках при 450 нм. За отриманими даними будували калібрувальний графік в логарифмічному масштабі і визначали концентрацію адипонектину в пробі за калібрувальним графіком.

**Вісфатин** визначали по набору «Human /Mouse/ Rat Visfatin Enzyme Immunoassay Kit» (RayBio, США), призначеного для кількісного визначення вісфатина методом конкурентного імуноферментного аналізу в сироватці і плазмі крові. Діапазон визначуваних концентрацій 0,1-1000 нг/мл Чутливість набору становить 0,379 нг/мл. Перед початком аналізу розводили зразки, стандарти і контролі додаванням до кожного біотинілірованого вісфатина в певній концентрації. Хід дослідження починали внесенням у всі лунки антивісфатинових антитіл і інкубуванням плашки протягом 1,5 годин при кімнатній температурі при обережному струшуванні планшета. Після закінчення інкубації видаляли промиванням компоненти, що не зв'язалися. Вносили стандарти, контроль і зразки, попередньо підготовлені, як зазначено вище. Плашку заклеювали та інкубували 2,5 години при кімнатній температурі і легкому струшуванні. Потім знову видаляли промиванням компоненти, що не зв'язалися. Вносили у всі лунки стрептавідин-HRP, заклеювали і знову інкубували 45 хвилин. Незв'язавшийся стрептавідин-HRP видаляли промиванням і вносили у всі лунки субстрат тетраметілбензидина і стежили за розвитком забарвлення. Фарбування розчинів в лунках зворотно

пропорційно вісфатину, що міститься в лунках. Чим нижче концентрація вісфатину, тим інтенсивніше забарвлення в лунці. Зупиняли реакцію внесенням розчину кислоти і виміряли ОЩ лунок при 450 нм. За отриманими даними будували калібрувальний графік в логарифмічному масштабі. За калібрувальним графіком визначали концентрацію вісфатина в пробі.

**РЕА (Раково-ембріональний антиген)** визначали за допомогою набору, призначеного для кількісного визначення РЕА в сироватці крові методом імуноферментного аналізу на основі моноклональних антитіл і рекомбінантних антигенів, виробництва СП "ДИАплюс" і концерну «Hoffmann-La Roche» (Швейцарія).

**Рівень антитіл до атипових форм колагену (АТАФК (IgG))** у сироватці крові визначали за допомогою методики, заснованої на тому, що в нормі (типові форми колагену) колаген не є імуногенними [490]. Зразок сорбували на антигенах патологічно зміненого міжхребцевого диска, іммобілізованого на твердій фазі.

**Визначення антитіл до тканини підшлункової залози** в сироватці крові проводили за допомогою набору інгредієнтів (ООО «Навина», г.Москва) для визначення антитіл до органоспецифічних антигенів гормонпродукуючих органів (ряд F – підшлункова залоза – цитоплазматична фракція) з використанням імуноферментного аналізу. Визначення проводилося за рахунок специфічної взаємодії тканинних антигенів, сорбованих на планшеті, з антитілами до них, що містяться в сироватці крові. Утворившийся комплекс «антиген-антитіло» виявляли за допомогою кон'югату, пероксидаза якого каталізує розщеплення субстрату (перекису водню), що викликає зміну забарвлення хромогена. Реєстрацію проводили на вертикальному спектрофотометрі типу «Multiskan» при довжині хвилі 492 нм. Для кожної випробуваної сироватки обчислювали середнє значення ОЩ. Від цього значення віднімали середнє значення ОЩ. «К-» (негативна сироватка – сироватка крові людини, що містить антитіла до тканинних антигенів нижче діагностичного рівня). Якщо отримана різниця ( $\Delta$  ОЩ)

більше або дорівнює величині 0,20, результат дослідження вважають позитивним. Чим вище значення  $\Delta$  ОЩ, тим активніше патологічний процес.

**Паратиреоїдний гормон** визначали за допомогою набору «PTG Intact» (DRG, США). Набір призначений для кількісного визначення інтактного паратиреоїдного гормону в сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу в діапазоні 0-700 пг/мл. Чутливість набору становить 1,57 пг/мл. Калібратори, контролю або зразки одночасно інкубували в лунках, покритих стрептавідином. Туди ж вносили біотиніліровані антитіла, а потім пероксидазу, мічену антитілами. Стрипи заклеювали та інкубували при кімнатній температурі і легкому струшуванні протягом 3 годин. В кінці інкубації стрипи промивали для видалення незв'язаних компонентів. Тверду фазу інкубували із субстратом – тетраметілбензидином. Зупиняли реакцію внесенням кислоти. Інтенсивність жовтого кольору прямо пропорційна концентрації інтактного паратиреоїдного гормону у зразку. Вимірювали ОЩ розчинів в лунках при 450 нм (для побудови калібрувального графіка і визначення концентрації в лунках в діапазоні 0-200 пг/мл) і 405 нм (для підвищення аналітичної точності набору в діапазоні концентрацій 200-700 пг/мл). За отриманими даними будували калібрувальні графіки для довжин хвиль 450 і 405 нм. Визначали концентрацію в лунках за калібрувальним графіком, в залежності від ОЩ розчинів.

**Кальцитонін** визначали по набору «Calcitonin ELISA» (DRG, США). Набір призначений для кількісного визначення концентрації кальцитоніну в сироватці крові людини методом твердофазного імуноферментного аналізу. Діапазон визначуваних концентрацій 0-1000 пг/мл. Чутливість набору 1 пг/мл. Хід дослідження такий самий, як і для визначення паратиреоїдного гормону. Наприкінці дослідження виміряли ОЩ лунок при двох довжинах хвиль – 450 нм (для побудови калібрувального графіка і визначення концентрації кальцитоніну в діапазоні 0-300 пг/мл) і 405 нм (для підвищення аналітичної точності набору в діапазоні визначуваних концентрацій 300-1000 пг/мл). Далі будували два калібрувальних графіка для двох довжин хвиль.

Якщо ймовірна концентрація кальцитоніну в пробі менше 300 пг/мл, то визначали концентрацію по калібрувальному графіку, побудованому при 450 нм. Якщо більше 300 пг/мл, то за графіком для 405 нм.

**Естрадіол** визначали за допомогою набору Estradiol ELISA (DRG, Німеччина) призначеному для кількісного визначення естрадіолу в сироватці або плазмі крові методом твердофазного імуноферментного аналізу. Принцип роботи набору заснований на конкурентному зв'язуванні. Поверхня лунок покрита поліклональними кролячими антитілами проти естрадіолу. Ендогенний естрадіол із зразків пацієнтів конкурує з кон'югатом пероксидази хрому. Після інкубації незв'язаний кон'югат вимивали. Кількість зв'язаної пероксидази зворотно пропорційна концентрації естрадіолу в зразку. А після додавання розчину субстрату, вимірювали ОЩ лунок при 450 нм, інтенсивність забарвлення розчинів у лунках зворотно пропорційна концентрації естрадіолу в зразках пацієнтів. Набір розрахований на визначення естрадіолу в діапазоні 0-2000 пг/мл. Мінімумально визначаєма за допомогою цього набору концентрація естрадіолу становить 9,714 пг/мл.

**Оксипролін.** Визначення загального, вільного та зв'язаного ОП у сечі і сироватці крові проводили згідно з методикою П.Н. Шараєва (1990) [539, 540], яка базується на визначенні ОЩ червоного хромогена, одержуваного в результаті окислення молекули ОП хлораміном Б і конденсації продуктів його окислення з парадіметиламінобензальдегідом. Використовували реактиви кваліфікації х.ч. і ч.д.а. Приготування калібрувального розчину ОП здійснювали реактивами Pierce (Голландія). Вміст ОП в сечі виражали в мг/добу, в сироватці крові в мкмоль/л.

**Глікозаміноглікани.** Визначення ГАГ у сечі проводили карбазоловим методом за глюкуроновою кислотою [461]. Для аналізу використовували добову сечу. Для приготування калібрувального розчину використовували реактиви фірми "Pierce" (Голландія). Отримані результати виражали в мг/добу.

**Фракції глікозаміноглікансульфатів (ГАГс)** у сироватці крові визначали за методом М. Р. Штерн [400], що ґрунтується на їх осадженні резохіном з подальшим вимірюванням помутніння проби. Метод дозволяє визначати загальний вміст сульфатованих ГАГ, а також наступні фракції: I фракція – розчинні сульфоглікани (хондроїтин-6-сульфат), II – середньорозчинні з'єднання (хондроїтин-4-сульфат, дерматан-сульфат), III – важкорозчинні компоненти (сума залишкових фосфогліканів).

**Агрегація тромбоцитів.** Індукована агрегація тромбоцитів досліджувалася з використанням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів «SOLAR 2110» (Білорусь) за раніше описаною методикою [491]. В якості індуктора використовували аденозиндифосфат (АДФ) в концентрації 2,5, 5,0 і 10,0 мкмоль /л. Запис агрегатограм проводився при 37°C протягом 10 хвилин. Подальший аналіз агрегаційної кривої включав в себе визначення наступних показників: 1) ступеня агрегації – максимального % світлопропускання плазми, 2) часу досягнення максимальної швидкості агрегації – часу досягнення максимального % світло пропускання, 3) швидкості агрегації, яка розраховувалася через 30 секунд після початку агрегації тромбоцитів.

**Рівень загального білка** у сечі визначали по набору «Загальний білок-УЛ» (Філісіт-Діагностика, Україна), призначеному для визначення загального білка в сечі та лікворі колориметричним методом з пірогалоловим червоним. Принцип дії набору заснований на взаємодії білка в зразку з пірогалоловим червоним і молібдатом натрію, утворюючи забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації білка в пробі. Діапазон визначуваних концентрацій за допомогою цього набору становить 50-2000 мг/л. Коефіцієнт варіації визначення не більше 5 %.

**Рівень екскреції альбуміну** з сечею визначали за допомогою набору ІмуноФА-Мікроальбумін (ЗАТ «НВТ Імунотех», Росія), призначеного для кількісного визначення вмісту мікрокількостей альбуміну (мікроальбумінурії) в сечі методом конкурентного твердофазного



імуноферментного аналізу. Принцип методу заснований на конкуренції альбуміну з вимірюваної проби і альбуміну, міченого пероксидазою, через центри зв'язування специфічних до альбуміну антитіл, іммобілізованих на поверхні лунок полістиролового планшета. Кількість кон'югату, що зв'язався, виявляли за допомогою субстрату 3,3',3,5'-тетраметілбензидина. Інтенсивність забарвлення продуктів ферментативної реакції окислення субстрату зворотно пропорційна концентрації альбуміну, що міститься в аналізованому зразку. Концентрацію альбуміну в аналізованих пробах визначали за калібрувальним графіком залежності ОЩ від вмісту альбуміну в каліброваних пробах. Залежність концентрації альбуміну в зразках сечі при розведенні їх сечею, яка не містить альбумін, має лінійний характер у діапазоні концентрацій 5,0 - 250 мг/л і становить 90-110%.

**Креатинін** визначали за допомогою біохімічного набору Creatinine Iquicolor (HUMAN, Німеччина), призначеному для визначення креатиніну кінетичним методом Jaffe з лужним пікратом. Сечу перед дослідженням розводили дистильованою водою у 50 разів. Креатинін із зразка реагує з пікратом в лужному середовищі, формуючи забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації креатиніну в зразку, інтенсивність забарвлення вимірювали при 500 нм, залежність лінійна до концентрації креатиніну 300 мг/дл.

**Сечовину** визначали за допомогою набору UREA Iquicolor (HUMAN, Німеччина). Набір призначений для колориметричного ферментативного визначення сечовини в сироватці, плазмі або сечі. Сечу перед дослідженням розводили в 101 раз дистильованою водою. В ході визначення сечовина із зразків гідролізується уреазою до амонію і двоокису вуглецю. У присутності гіпохлориту і саліцилату амоній дає зелене забарвлення. Поглинання при 578 нм пропорційно концентрації сечовини в зразку, залежність лінійна до концентрації сечовини в сечі 6600 ммоль/л.

**Світлова мікроскопія.** Зразки тканин підшлункової залози і печінки фіксували в 10 % нейтральному формаліні, зневоднювали в спиртах

зростаючої концентрації, проводили через хлороформ, хлороформ-парафін і заливали в парафін. Зрізи товщиною 4-6 мкм, були виготовлені на санному мікротомі і забарвлені гематоксилін-еозином, а також пікрофуксином за Ван-Гізоном [513].

**Гістохімічні дослідження.** Для оцінки накопичення та визначення типу колагену в зразках тканини використовували гістохімічну реакцію з пікросіріусом червоним [177]. Вивчення колагену було проведено в поляризованому світлі на мікроскопі "Polmu-A" [196].

Для виявлення ліпідів у клітинах підшлункової залози і печінки використовували фарбування суданом чорним В та червоним ІV. Забарвлення проводилося за методом Меркулова Р. А. (1969) [472]. З цією метою виготовляли заморожені зрізи, які фіксували у формаліні, фарбували суданом, приготованому на спирті і укладали в гліцерин. При фарбуванні суданом червоним ІV, зрізи, виготовлені на кріостаті, промивали 70° спиртом, потім фарбували. Зрізи укладали в гуміарабік. Фотографування матеріалу проводили за допомогою цифрової камери «Canon».

**Електронна мікроскопія.** Ультраструктурну організацію клітин печінки і підшлункової залози вивчали за допомогою електронного мікроскопа ЕМВ-100 [117]. Відбір і фіксацію матеріалу для електронної мікроскопії здійснювали згідно з методикою Б. Уіклі (1975) [527], А.А. Миронова (1994) [476]. Для цього досліджувані фрагменти фіксували в 4% розчині глютаральдегіда, потім декальцинували в розчині трилона Б, дофіксували в розчині осмієвої кислоти, зневоднювали в спиртах зростаючої міцності та ацетоні і укладали в епон-аралдит. Полутонкі і ультратонкі зрізи виготовляли на мікротомі УМТП-3М. Забарвлення полутонких зрізів проводили толуїдиновим синім і основним фуксином, ультратонкі зрізи були контрастовані за E.S. Reynolds (1963) [298].

**Забезпечення контролю якості.** Оскільки метою роботи є виявлення механізмів загальних, стереотипних реакцій ФССТ, дизайн роботи

передбачає порівняння механізмів регуляції на різних моделях, при різних впливах. Для спільного аналізу таких даних необхідно забезпечити єдність вимірювань, їх порівнянність для всіх моделей дослідження. Це забезпечувалося ретельним урахуванням можливих похибок, які можуть бути внесені на всіх етапах роботи.

Були проаналізовані можливі джерела похибок на преаналітичному етапі, включаючи стандартизацію забору, обробки і зберігання матеріалу. Були оптимізовані методи внутрішньолабораторного контролю якості, перш за все використання контрольних матеріалів, як провідного чинника в забезпеченні єдності вимірювань. Вжитими заходами була забезпечена мінімізація відносних похибок вимірювання.

Для виключення можливих систематичних похибок вимірювання ми активно приймали участь в програмах міжлабораторного контролю якості, що впроваджені Українським референт-центром МОЗ України, в усіх напрямках тестування лабораторій, включаючи програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань за напрямками «Гемостаз», «Клінічна біохімія в клінічній лабораторній діагностиці», «Імунохімія» та інші.

За участю в «Програмі міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань» було отримано 100% задовільних результатів, що підтверджено довідками: довідка № 28/10 від 22.11.2010 р. про участь у першому етапі раунду 1-К Програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань «Гемостаз»; довідка № 92/10 від 17.12.2010 р. про участь у першому та третьому етапах раунду 4-Б програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань «Клінічна біохімія в клінічній лабораторній діагностиці», код лабораторії 313; довідка № 232/12 від 27.11.2012 р. про участь у першому етапі раунду 3-К програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань «Гемостаз», код лабораторії 201; довідка № 344/12 від 17.12.2012 р. про участь у другому етапі раунду 4-ІМХ програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань «Імунохімія», код лабораторії 201.

Та інші: довідка № 554/12 від 19.12.2012 р. про участь у другому етапі раунду 6-Б; довідка № 189/13 від 09.12.2013 р. про участь у першому етапі раунду 7-Б; довідка № 616/14 від 18.12.2014 р. про участь у другому етапі раунду 8-Б; довідка № 374/15 від 10.12.2015 р. про участь у другому етапі раунду 9-Б.

На рис.2.1, 2.2, 2.3 показано результати тестування вимірювань у графічному вигляді. Вгору на вниз від горизонтальної лінії, що відповідає істинному рівню вимірюваного аналіту, позначені відхилення вимірювань, що були виконані в різних лабораторіях України. Вимірювання, що були виконані нами, позначені номером «313».



Рис. 2.1 – Результати програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань за напрямком «Гемостаз»

Результати вимірювань того ж раунду за напрямком «Біохімія» показані на рис.2.3, відносна похибка була 0,34%, Z показник був 0,03. В кожному раунді міжлабораторних порівнянь було протестовано до 15 аналітів. Як можна бачити на рис.2.1, 2.2, було досягнуто рівня відносної похибки вимірювання 0,00%. Це найкращий результат серед усіх лабораторій, що приймали участь у програмі.

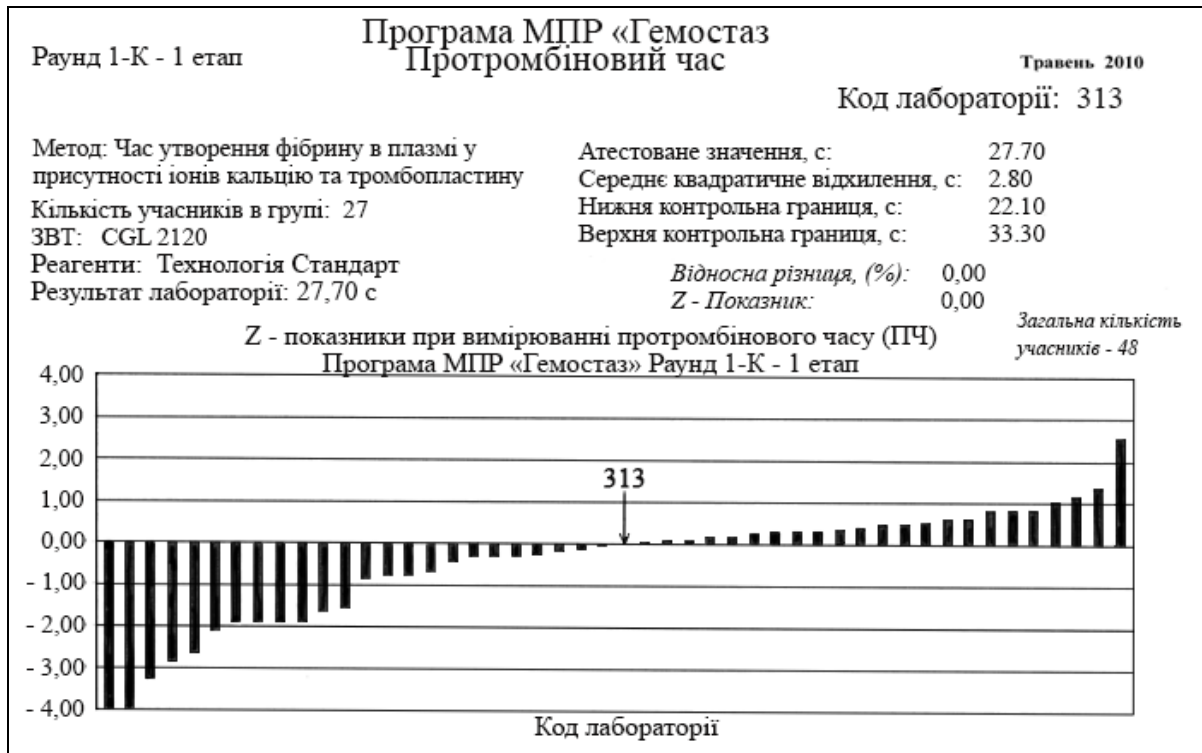


Рис. 2.2 – Результати програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань за напрямком «Гемостаз»

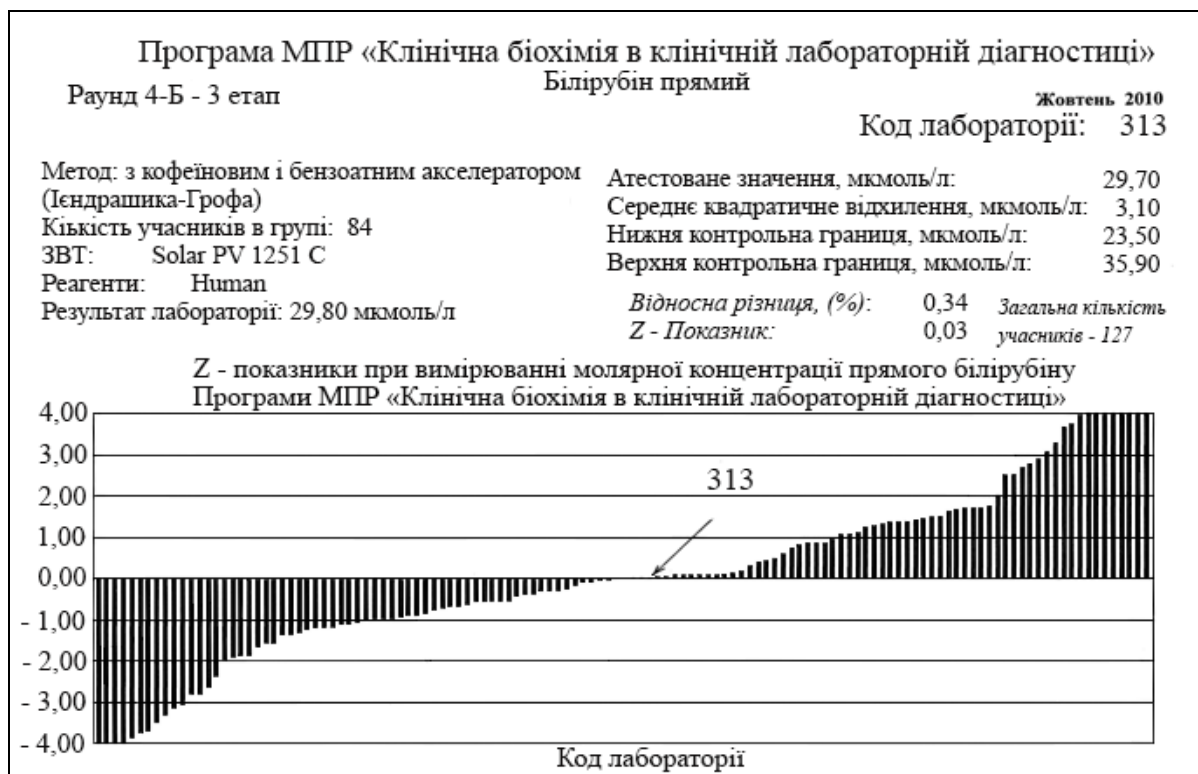


Рис. 2.3 – Результати програми міжлабораторних порівнянь результатів вимірювань за напрямком «Біохімія»

Таким чином точність вимірювання на аналітичному етапі була щонайменше у 10 разів вища ніж біологічна варіація вимірюваних показників, що цілком забезпечує достовірність отриманих результатів, можливість сумісної адекватної статистичній обробки спільно усіх показників в усіх моделях експерименту та клінічних даних.

**Статистична обробка** проводилася в пакеті статистичних програм Statistica 6.0 (AX509B705309AR15). На першому етапі виконувався аналіз кривих розподілу. Додаткова оцінка розподілу проводилася в блоці порівняння розподілів пакету Statistica 6.0. З урахуванням результату для подальшої обробки використовували параметричні або непараметричні методи обробки та подання даних. Для аналізу статистичної достовірності відмінностей між групами статистичну обробку результатів досліджень проводили залежно від характеру розподілу даних таким чином: якщо розподіл був близьким до нормального, аналіз проводився з використанням методів варіаційної статистики, пакету програм Statistica 6.0 – статистичного методу one-way ANOVA (Fisher LCD post-hoc test), якщо він значно відрізнявся від нормального відмінності між групами визначали за методом «Kruskal-Wallis ANOVA and median test». Кореляційний аналіз проводився в тому ж пакеті Statistica 6.0, за допомогою параметричних та непараметричних методів, в залежності від характеру розподілу. Факторний аналіз проводився в тому ж пакеті. На першому етапі виявлялось найбільш імовірна кількість факторів, на наступному проводилось обертання за алгоритмом «Varimax normalized».

### РОЗДІЛ 3

## МЕХАНІЗМИ УЧАСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В РОЗВИТКУ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ТА РЕМОДЕЛЮВАННІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

### **3.1 Дослідження рівнів та взаємозв'язків міжклітинних медіаторів при експериментальному моделюванні ураження нирок та кісткової тканини**

Основою реалізації функцій як сечовивідної, так і кісткової системи є стан СТ, що має свої морфологічні особливості у кожному конкретному випадку, які залежать від виконуваної функції. Під впливом ушкоджуючих факторів СТ як у нирці, так і у кістці, крім стереотипних реакцій, обумовлених спільністю походження, проявляє свої особливості реагування, а також реалізує як прямі, так і непрямі взаємодії між двома цими системами. Зміни параметрів однієї з цих систем тягнуть за собою зміни в іншій та змінюють сам організм як систему найвищого рівня. Актуальність дослідження такої коморбідної ситуації обумовлена взаємним посиленням тяжкості порушень в обох системах – видільній і кістковій. Причому порушення стану ФССТ є одночасно чинниками ризику розвитку як, склерозування нирки так і остеопорозу. У зв'язку з цим важливим видається вивчення патологічних процесів у нирковій і кістковій тканинах.

Порушення ремоделювання СТ є провідною ланкою формування нефросклерозу та ХНН та наступного розвитку остеопорозу, який в свою чергу тісно пов'язаний у своєму патогенезі з нирковою недостатністю [58, 122, 263, 344]. Порушення гомеостазу, які відбуваються при ХНН, поглиблюються за принципом зворотного зв'язку і виходять на системний рівень, зачіпаючи кісткову тканину, що стає причиною втрати кісткової маси [137, 224, 284]. Також загальними для розвитку цих двох патологій є порушення механізмів регуляції за допомогою паратиреоїдного гормону, кальцитоніну, вітаміну Д [146, 378], а також порушення водно-сольового

обміну [2]. Важливу роль у цьому процесі відіграє неухильно прогресуючий склероз нирки. Склероз носить вторинний заміщувальний характер і є наслідком періодичної реактивації запального процесу в нирці, який може мати, наприклад, інфекційний характер [180, 401]. Відомо також, що ХНН може розвиватися після гострого первинного інфекційного процесу на тлі відсутності реінфікування [58, 263]. При цьому вирішальну роль відіграє збереження адаптаційних механізмів і інтенсивність первинного процесу, а не його природа [197]. Хронічне прогресуюче захворювання нирок носить хвилеподібний характер, що, ймовірно, відбувається внаслідок порушень механізмів стереотипної відповіді на ушкодження.

Механізми реалізації такого роду зворотних зв'язків стали прояснюватися лише після відкриття клітинних медіаторів – інтерлейкінів, факторів росту та ін. [24, 222, 296]. Тому вивчення взаємозв'язку між нирковою та кістковою тканинами за допомогою цитокінів представляє безперечний інтерес. Оскільки метою даної роботи є виявлення закономірностей на рівні ФССТ, основним підходом до аналізу є направлення від часткового до загального. Це обумовлює необхідність спільного аналізу даних, отриманих при поєднаннях впливу різних факторів, з подальшим виявленням загальних закономірностей і тенденцій, що відбивають універсальну, стереотипну відповідь СТ на пошкодження. Ми провели спільний аналіз даних, отриманих при вивченні порушень стану СТ на наступних моделях (див. розділ 2).

Відомо, що глюкокортикоїди здійснюють катаболічний вплив на білковий обмін, викликаючи розпад білків. У СТ уповільнюються процеси синтезу колагену та відбуваються процеси його деградації, що має своїм наслідком остеопороз, що і було використано для створення глюкокортикоїдної моделі порушення метаболізму кісткової тканини. У моделі з ХНН використовували феномен розвитку дистрофічно-некротичних змін у каналцевому апараті нирки та нефросклерозу внаслідок дії гліцерину.



Модель порушень у СТ, що виникають внаслідок поєднання обох вищевказаних явищ – ниркової недостатності та глюкокортикоїдного впливу, передбачала посилений та більш глибокий патологічний вплив на кісткову тканину і, відповідно, порушення механізмів гомеостазу одночасно з двох позицій, більш швидкого зриву адаптаційних механізмів. Модель поєднання іммобілізаційного стресу та запалення передбачала більш легкий ступінь навантаження на адаптаційні механізми організму, але, по суті, слугувала відтворенням ситуації з впливом ендогенних глюкокортикоїдів на СТ.

Результати вимірювання вмісту ІЛ-4 та ІЛ-6 у щурів модельних груп представлені в табл.3.1.1.

Таблиця 3.1.1

Рівень ІЛ-4 та ІЛ-6 в крові щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Групи	ІЛ-4, пг/мл	ІЛ-6, пг/мл
ГК	5,79 ± 0,54* **	2,50 ± 0,17**
ХНН	3,63 ± 0,82**	2,33 ± 0,67**
ХНН+ГК	7,6 ± 1,61*	0,58 ± 0,19*
ІС+З	5,14 ± 0,55**	2,03 ± 0,25**
К	3,83 ± 0,34	2,18 ± 0,20

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем (p<0,05)

\*\* – відмінності достовірні порівняно з ХНН+ГК (p<0,05)

У групах щурів із глюкокортикоїдною моделлю та з ХНН та глюкокортикоїдним впливом виявилось, що рівень ІЛ-4 був достовірно вищим, ніж у контрольній групі (p<0,05). У щурів експериментальних груп з ХНН та з іммобілізаційним стресом, поєднаним з запальним процесом, рівень вмісту ІЛ-4 достовірно не відрізнявся від рівня тварин контрольної групи.

При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що середні рівні ІЛ-4 у групах з порушенням ремоделювання СТ за допомогою глюкокортикоїдів та в групі щурів з іммобілізаційним стресом

та запаленням не відрізнялись за своїми значеннями. У групі з глюкокортикоїдною моделлю рівень IL-4 був вищим за такий у групі щурів з ХНН ( $p < 0,05$ ) і нижчим, ніж у групі щурів з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). Середній рівень IL-4 у групі щурів з моделлю іммобілізаційного стресу та запалення не відрізнявся від цього параметра групи щурів з ХНН, і був нижчим за такий у групі тварин з ХНН та поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ). Також група щурів з ХНН відрізнялася за рівнем IL-4 від групи з поєднанням ХНН та впливу глюкокортикоїдів, у останній групі рівень цього міжклітинного медіатора був вищим ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, при дослідженні рівня IL-4 було виявлено, що у щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушень він був вищим за контрольну групу в 1,5 рази, а у щурів з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу – майже в 2 рази ( $p < 0,05$ ) (табл.3.1.1). У тварин з ХНН середній рівень IL-4 не відрізнявся від рівня контрольних щурів, у тварин з іммобілізаційним стресом та запаленням мав тенденцію до збільшення. Відповідно, у щурів з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу середній рівень IL-4 був більш ніж у 2 рази вищим за такий у групі з ХНН, і на 30 % більшим, ніж у групах із глюкокортикоїдним впливом та з поєднанням іммобілізаційного стресу та запалення ( $p < 0,05$ ).

З усіх груп з моделями порушень обміну СТ рівень IL-6 відрізнявся від рівня контрольної групи тільки у щурів з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу ( $p < 0,05$ ) (табл.3.1.1), його середнє значення було меншим на 74 %. Приблизно на стільки ж воно було нижчим порівняно з іншими моделями порушень сполучнотканинного ремоделювання, оскільки у них рівень IL-6 практично не відрізнявся від рівня контрольної групи.

При порівнянні даних рівня IL-6 поміж експериментальними групами виявилось, що в групі з глюкокортикоїдним впливом результат був вищим, ніж у групах щурів з ХНН, поєднаною з глюкокортикоїдним впливом та з іммобілізаційним стресом і запаленням ( $p < 0,05$ ) та не відрізнявся від такого у

щурів з ХНН. Рівень ІЛ-6 у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням був достовірно вищим за такий у щурів групи з ХНН, поєднаною з глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ). Крім того, рівень ІЛ-6 у щурів з ХНН теж був достовірно вищим за рівень цього міжклітинного медіатора у щурів з ХНН, поєднаною з глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, у групі щурів з моделлю, яка поєднує ХНН та глюкокортикоїдний вплив відзначено знижений рівень прозапального цитокіну ІЛ-6. У цій же модельній групі відзначалося найвище значення рівня протизапального цитокіну ІЛ-4. Ймовірно, у щурів даної модельної групи при розгортанні процесів запалення після моделювання ХНН, рівень ІЛ-6 знизився завдяки дії глюкокортикоїдів, що супроводжувалося підвищенням рівня протизапального цитокіну ІЛ-4.

Важливо враховувати, що ІЛ-6 - профіброгенний цитокін. Він підвищує синтез фібробластами колагену, ГАГ та тканинного інгібітору ММП-1 [28]. При низькому рівні ІЛ-6 у СТ не відбувається достатньої стимуляції синтезу колагену, яка повинна бути за умови нормального рівня ІЛ-6. Відповідно, СТ втрачає колагеновий матрикс і не відновлює його шляхом активації синтетичних процесів. Це тягне за собою порушення її ремоделювання.

Зазвичай рівень прозапальних цитокінів відображає ступінь активності запалення та важкості патологічного процесу. Варто відзначити, що низький рівень ІЛ-6, можливо, свідчить про початок порушень механізмів підтримки гомеостазу та вихід адаптаційних механізмів за межі їх можливостей.

Підвищений рівень ІЛ-4 на тлі зниження рівня ІЛ-6 у групі тварин з ХНН та глюкокортикоїдним впливом може свідчити про реалізацію патологічної відповіді організму на пошкодження. І, можливо, на цьому етапі зустрівся той стан, коли відбулося перенапруження фізіологічних механізмів адаптації, і пул прозапального цитокіну вже виснажився. У цитокіновій системі виник дисбаланс. Рівень протизапального цитокіну ще високий, але знаходиться вже у стадії, що передує моменту виснаження. Можливо, при створенні глюкокортикоїдної моделі рівень ІЛ-4 підвищувався

компенсаторно у зв'язку з запаленням, що захоплювало велику масу кісткової тканини, незважаючи на протизапальний ефект глюкокортикоїдів. При поєднанні ХНН та глюкокортикоїдного впливу рівень ІЛ-4 зростав ще більше, а при ізольованій ХНН він не підвищувався порівняно з контрольною групою.

Встановлений факт підвищення рівня ІЛ-4 в даному дослідженні відповідає даним літератури про його високі рівні у пацієнтів з хронічними запальними захворюваннями, де він може грати важливу роль в прогресуванні патології [516]. Така ситуація може відображати вихід адаптаційних механізмів організму з режиму нормального функціонування, задіяння додаткових резервів адаптації та наближення його до рівня їх виснаження. Нормальний перебіг процесів відновлення гомеостазу ФССТ порушений, і організму доводиться працювати на межі адаптаційних можливостей, відбувається порушення нормальної реактивності.

Результати дослідження вмісту ІЛ-1RA та TGF- $\beta$ 1 у щурів модельних груп представлені в таблиці 3.1.2.

Таблиця 3.1.2

Рівень ІЛ-1RA та TGF- $\beta$ 1 в крові щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Групи	ІЛ-1RA, пг/мл	TGF- $\beta$ 1, нг/мл
ГК	2,90 $\pm$ 0,32**	26,0 $\pm$ 0,75**
ХНН	4,21 $\pm$ 0,55*	22,9 $\pm$ 0,56*
ХНН+ГК	3,49 $\pm$ 0,20*	24,9 $\pm$ 0,65**
ІС+З	3,77 $\pm$ 0,24*	24,5 $\pm$ 0,55*
К	2,53 $\pm$ 0,13	26,3 $\pm$ 0,62

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою з ХНН ( $p < 0,05$ )

При дослідженні рівня рецепторного антагоністу ІЛ-1 (ІЛ-1RA) у щурів із глюкокортикоїдною моделлю виявилось, що його середній рівень не

відрізнявся від рівня у тварин контрольної групи. У щурів інших експериментальних груп середній рівень вмісту IL-1RA був вищим, ніж у інтактних тварин ( $p < 0,05$ ). При цьому у щурів із глюкокортикоїдним впливом він був достовірно нижчим порівняно з таким при ХНН ( $p < 0,05$ ).

Рівні TGF- $\beta$ 1 у сироватці крові щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини та з ХНН та глюкокортикоїдним впливом суттєво не відрізнялись від значень контрольної групи (табл.3.1.2). Середні рівні вмісту TGF- $\beta$ 1 у групі щурів з ХНН та з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запальним процесом були достовірно нижчими, ніж у контрольній групі. При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що рівень TGF- $\beta$ 1 у щурів у групах з порушенням ремоделювання кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів та у щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом був вищим, ніж у групі з ХНН ( $p < 0,05$ ).

Результати вимірювання вмісту IL-17 у щурів модельних груп представлені в таблиці 3.1.3. Рівень IL-17 був статистично достовірно вищим у всіх модельних групах порівняно з контролем, за виключенням групи з експериментальним порушенням стану кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів, у якої він не відрізнявся від рівня тварин контрольної групи.

При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що рівень IL-17 у щурів з порушенням ремоделювання кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів був нижчим, ніж у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням, з ХНН та з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). Рівень IL-17 у щурів з моделлю іммобілізаційного стресу та запалення був нижчим за такий у тварин з ХНН та поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ). Також група щурів з ХНН відрізнялася за рівнем IL-17 від групи з поєднанням ХНН та впливу глюкокортикоїдів, у щурів останньої групи рівень цього міжклітинного медіатору був вищим ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.1.3

Значення середніх рівнів ІЛ-17 у крові щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Групи	ІЛ-17, пг/мл
ГК	28,8±0,68***
ХНН	33,9±0,94*' **' ***
ХНН+ГК	37,1±1,01*' **
ІС+З	33,1±0,99*' **' ***
К	28,2±0,53

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою із глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ )

\*\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою з ХНН та глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ )

При дослідженні рівнів RANKL та OPG в крові щурів модельних груп встановлені наступні закономірності (табл.3.1.4). Встановлено, що середній рівень вмісту RANKL у щурів групи з іммобілізаційним стресом та запаленням був нижчим, ніж у щурів контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Рівні вмісту RANKL у щурів із глюкокортикоїдною моделлю, з ХНН, з ХНН та глюкокортикоїдним впливом характеризувалися несуттєвими відмінностями у значеннях, що статистично не відрізнявся від рівня в контрольній групі.

При порівнянні його між групами з'ясувалося, що рівень RANKL у щурів з глюкокортикоїдним впливом був вищим за рівень цього цитокіну у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням ( $p < 0,05$ ). Рівень RANKL у щурів з моделлю іммобілізаційного стресу та запалення був нижчим, ніж у групі з ХНН та в групі тварин з ХНН та поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.1.4

Значення середніх рівнів RANKL та OPG в крові щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Групи	RANKL, пмоль/л	OPG, пг/мл
ГК	0,17±0,05	51,6±17,7*
ХНН	0,18±0,07 ****	28,3±2,38*' **' ***
ХНН+ГК	0,16±0,06	16,6±2,27**' ****
ІС+З	0,07±0,02*' **' ***	28,9±3,50**' ***
К	0,13±0,03	21,6±2,02

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою з глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ )

\*\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою із нирковою недостатністю та глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ )

\*\*\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою з іммобілізаційним стресом та запаленням ( $p < 0,05$ )

При дослідженні рівня OPG встановлено його достовірне підвищення порівняно з контролем у щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини та з ХНН. Група щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом характеризувалася дещо зниженим середнім рівнем вмісту OPG порівняно з контрольною групою. Середній рівень вмісту OPG у групі щурів з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запальним процесом, дещо підвищувався, але достовірно не відрізнявся від такого в контрольній групі (табл.3.1.4).

При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що рівень OPG у групі з порушенням ремоделювання СТ за допомогою глюкокортикоїдів був вищим, ніж у групі з іммобілізаційним стресом та запаленням, з ХНН та з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). У групі з іммобілізаційним стресом та

запаленням рівень OPG був вищим за такий у групі з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ), а в останній був нижчим за групу з ХНН ( $p < 0,05$ ).

При дослідженні вмісту адипонектину та вісфатину у щурів модельних груп встановлено наступне (табл. 3.1.5).

Таблиця 3.1.5

Значення середніх рівнів адипонектину та вісфатину в крові щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Групи	Адипонектин, мкг/мл	Вісфатин, нг/мл
ГК	0,63±0,01*' **' ***	133±10,3**' ***
ХНН	0,77±0,01*	279±10,2*
ХНН+ГК	0,74±0,01*	172±9,87*' **
ІС+З	0,66±0,02**' ***	134±8,77**' ***
К	0,66±0,01	142±8,69

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою із нирковою недостатністю ( $p < 0,05$ )

\*\*\* – відмінності достовірні порівняно з групою із нирковою недостатністю та глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ )

При дослідженні рівня адипонектину у щурів із глюкокортикоїдною моделлю виявилось, що його рівень був нижчим, ніж у тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ). У щурів з ХНН та з ХХН та глюкокортикоїдним впливом рівень адипонектину мав достовірно підвищені значення, а у щурів з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запальним процесом, не відрізнявся від такого контрольної групи.

При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що рівень адипонектину у щурів групи з глюкокортикоїдним впливом був нижчим за такий у щурів з ХНН ( $p < 0,05$ ) та з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). Рівень адипонектину у щурів з моделлю



порушення ремоделювання СТ за допомогою іммобілізаційного стресу та запалення був нижчим за такий параметр щурів з ХНН ( $p < 0,05$ ) та тварин з ХНН та поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ).

Участь адипонектину у метаболізмі СТ обговорюється вже деякий час, але характер цієї участі досить складний та неоднозначний [293, 322, 348, 350, 355]. Підвищені рівні адипонектину можуть здійснювати руйнівний вплив на кісткову тканину шляхом підвищення рівня RANKL та інгібування продукції OPG, що підсилює кісткову резорбцію [7, 161, 229]. Деякі дослідження показали значне зворотне відношення між адипонектином та мінеральною кістковою щільністю, незалежне від маси тіла [306, 355]. Встановлено, що остеобласти мають адипокінові рецептори, адипонектин посилює процеси проліферації, диференціації та мінералізації остеобластів [7].

У даному дослідженні знижений рівень адипонектину у щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушень кісткового метаболізму може бути пояснений прямим впливом глюкокортикоїдів на загальний енергетичний метаболізм [68], який складними взаємозв'язками комплексно регулює процеси ремоделювання СТ. При надмірному тривалому надходженні глюкокортикоїдів до організму регуляторні механізми вичерпують адаптаційні резерви, знижується рівень адипонектину і його активуючий вплив на фібробласти. Відбувається посилення процесів резорбції сполучнотканинних структур.

При дослідженні рівня вісфатину встановлено, що порівняно з контролем він достовірно підвищувався в експериментальних групах з ХНН і ХНН з глюкокортикоїдним впливом. Рівні вмісту вісфатину у щурів з глюкокортикоїдним впливом і з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запальним процесом, достовірно не відрізнялись від такого в контрольній групі (табл.3.1.5).

При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою встановлено, що у щурів з глюкокортикоїдним впливом рівень вісфатину був

нижчим, ніж у щурів з ХНН і з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). У щурів з моделлю іммобілізаційного стресу та запалення він був нижчим, ніж у групах з ХНН, та з ХНН у поєднанні з глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ). Також група щурів з ХНН відрізнялася за рівнем вісфатину від групи з поєднанням ХНН з впливом глюкокортикоїдів, у останній групі рівень цього міжклітинного медіатора був нижчим ( $p < 0,05$ ).

Зміни рівня вісфатину можуть свідчити про складність та неоднозначність його ролі у регуляції метаболізму СТ. Подальші дослідження мають визначити ступінь участі у регуляторних взаємодіях сполучнотканинного та енергетичного метаболізму як кожного окремого адипокіну, так і з урахуванням їх взаємозв'язків.

Таким чином, при аналізі змін цитокінового профілю у тварин експериментальної групи з ХНН (рис.3.1.1) встановлено, що показники вмісту в крові цитокінів IL-1RA ( $4,21 \pm 0,55$  пг/мл) та IL-17 ( $33,9 \pm 0,94$  пг/мл) були достовірно вищими, ніж у інтактних тварин ( $2,53 \pm 0,13$  пг/мл і  $28,2 \pm 0,53$  пг/мл відповідно) ( $p < 0,05$ ).

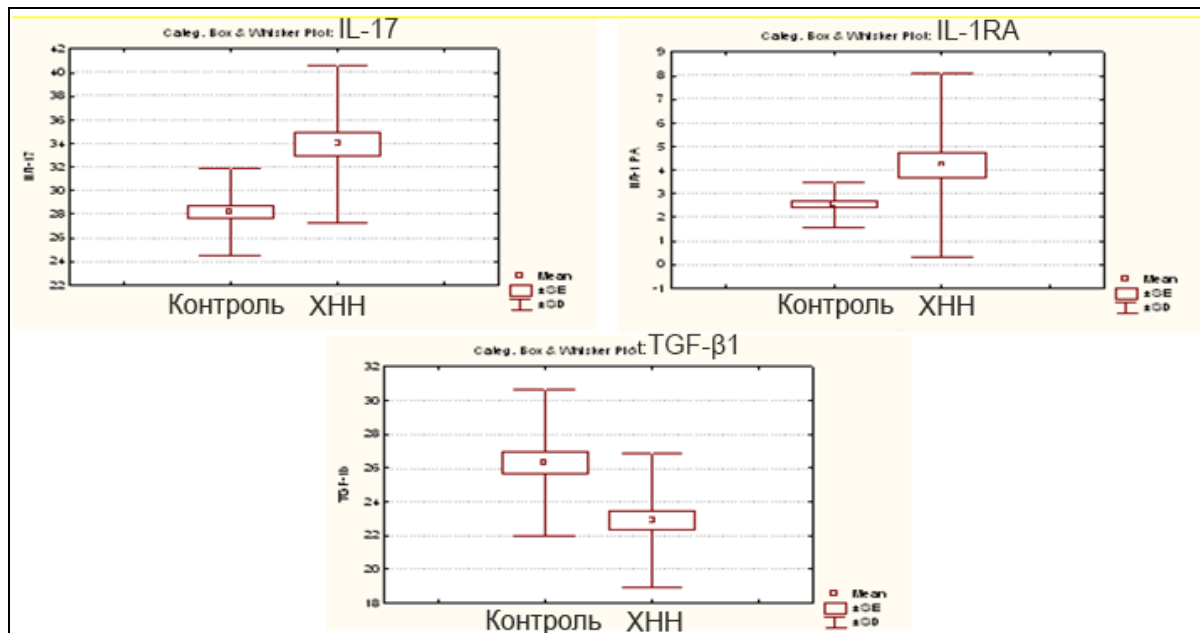


Рис. 3.1.1 – Рівні цитокінів IL-1RA, IL-17 і TGF-β1 в контрольній та експериментальній групі з ХНН

Рівень TGF- $\beta$ 1 ( $22,9 \pm 0,56$  нг/мл) був достовірно нижчим за показники тварин з контрольної групи ( $26,31 \pm 0,62$  нг/мл). З цих цитокінів найменш значним було збільшення рівня IL-17, всього на 21 %. Вміст IL-1RA підвищувався на 66 %, TGF- $\beta$ 1 – зменшувався на 13 %. Найбільш значним було збільшення вмісту протизапального цитокіну IL-1RA, який синтезується для запобігання запальних реакцій, опосередкованих IL-1. Одночасно з цим зростала концентрація прозапального IL-17, який стимулює продукцію багатьох цитокінів, у тому числі і IL-1. Такий дисбаланс у вмісті про- і протизапальних цитокінів у групі тварин з ХНН характерний для зрушень в системі Т-клітинної імунної відповіді, що, у свою чергу, свідчить про хронізацію запалення [17].

Дані літератури свідчать про підвищений вміст у сироватці крові хворих на ХНН TGF- $\beta$ 1, як основного чинника, стимулюючого колаген-продукуючу активність фібробластів, що є одним з факторів прогресування захворювань нирок [290]. На початкових етапах запалення посилення продукції TGF- $\beta$ 1 веде до відновлення структури пошкодженого органу, забезпечуючи швидку диференціацію клітин і ремоделювання СТ. Результатом тривалого синтезу TGF- $\beta$ 1 є гіперпроліферація фібробластів і розвиток профібротичних ефектів [313]. У нашому випадку в групі тварин з ХНН спостерігалось зниження рівня цього цитокіну. Ймовірно, це пов'язано з тривалим періодом формування порушень в експериментальній моделі. Зниження концентрації TGF- $\beta$ 1, можливо, є наслідком зменшення кількості клітин, інфільтруючих інтерстицій нирки, зменшенням функціонуючих структур органу, здатних експресувати TGF- $\beta$ 1. Подібні зміни є несприятливою прогностичною ознакою і свідчать про зменшення функціонуючих структур органу, здатних експресувати TGF- $\beta$ 1.

При проведенні кореляційного аналізу досліджених параметрів експериментальної групи тварин з ХНН було виявлено 5 значущих кореляцій ( $p < 0,05$ ) (табл.3.1.6). З них показників з дуже високою ( $r > 0,8$ ) і високою ( $0,8 > r > 0,6$ ) кореляцією не було; середні кореляції ( $0,6 > r > 0,4$ ) встановлені між

рівнями IL-17 та IL-1RA в контрольній та експериментальній групах, причому в першому випадку залежність була прямою, а в другому – зворотною. Рівень IL-1RA корелював з рівнем TGF- $\beta$ 1 у контрольній групі і в групі з ХНН, причому коефіцієнт кореляції також був позитивним у першому випадку і негативним у другому. Коефіцієнт кореляції інших показників був низьким.

Таблиця 3.1.6

Кореляції між вмістом IL-1RA, TGF- $\beta$ 1 та IL-17 в крові щурів контрольної та експериментальної групи з ХНН

Групи	Контрольна група		Група з ХНН	
	IL-17	IL-1RA	IL-17	IL-1RA
IL-1RA	0,41*		- 0,58*	
TGF- $\beta$ 1	0,06	0,42*	0,29*	- 0,53*

\* – кореляції статистично значущі ( $p < 0,05$ )

Розглядаючи зміну напрямків кореляцій між рівнями цитокінів IL-1RA та IL-17 у контрольній та експериментальній групах, можна припустити, що кореляція в групі з ХНН відображає взаємодію цитокінів при розвитку хронічного запалення. Цей етап характеризується активністю прозапальних цитокінів і недостатньою дією їх інгібіторів і антагоністів, що знаходить підтвердження в нашому випадку, де присутня зворотна кореляція між прозапальним IL-17 і протизапальним IL-1RA. При цьому середні рівні цих цитокінів в експериментальній групі зростають. Ймовірно, зміна напрямку кореляції між вмістом IL-1RA і TGF- $\beta$ 1 в експериментальній групі щурів пов'язана з тим, що хронічне запалення, яке перейшло в компенсаторну фазу на рівні ФССТ, виступає як фактор, що викликає підвищення рівня протизапального цитокіну IL-1RA та інгібування TGF- $\beta$ 1. При цьому баланс між рівнями цитокінів IL-1RA і TGF- $\beta$ 1 у контрольній групі зміщується у бік збільшення рівня IL-1RA і зниження рівня TGF- $\beta$ 1 у групі тварин з ХНН.

Кореляції рівнів цитокінів у тварин обох груп демонструють регуляторні взаємозв'язки у ФССТ. Поява нових взаємозв'язків між парами цитокінів, а також зміна їх напрямів свідчить про порушення в роботі регуляторних механізмів при ХНН. Оскільки міжклітинні медіатори відіграють важливу роль у ремоделюванні СТ і склерозуванні нирки [159, 271], можна припустити, що між порушеннями кісткового метаболізму і нирковою патологією існує механізм зворотного зв'язку, який реалізується за допомогою цитокінів.

При дослідженні рівня OPG у тварин експериментальної групи з ХНН встановлено, що середній рівень OPG ( $28,3 \pm 2,38$  пг/мл) був достовірно вищим, ніж у тварин контрольної групи ( $21,6 \pm 2,02$  пг/мл) (рис.3.1.2).

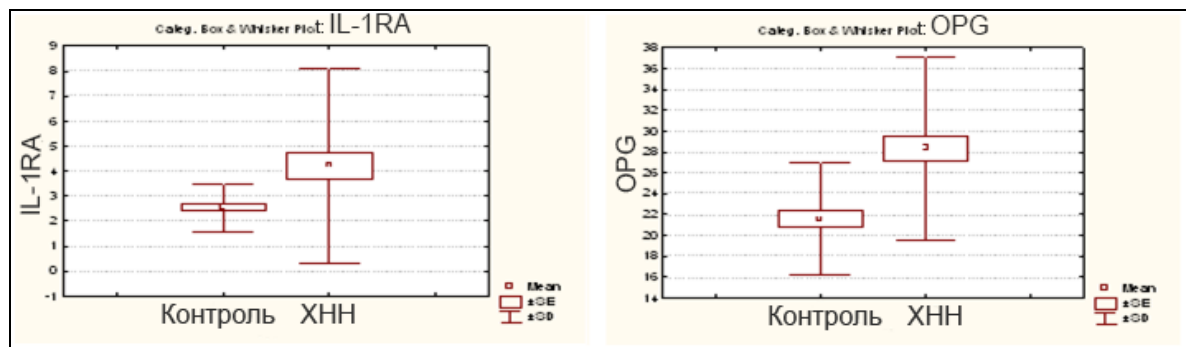


Рис. 3.1.2 – Рівні IL-1RA і OPG у групі щурів з ХНН та контролю

При проведенні кореляційного аналізу було виявлено, що рівень IL-1RA негативно корелював з рівнем OPG в контрольній групі і в групі з ХНН, однак кореляція в контрольній групі не була значущою (табл.3.1.7).

Таблиця 3.1.7

Кореляції між вмістом IL-1RA і OPG в крові щурів контрольної та експериментальної групи з ХНН

Групи	Контрольна група	Група з ХНН
Цитокіни	IL-1RA	IL-1RA
OPG	- 0,25	- 0,31*

\* – кореляції статистично значущі ( $p < 0,05$ )

Наші дослідження показали збільшення сироваткового рівня OPG у групі тварин з ХНН, що підтверджено зниженням мінеральної щільності кістки. Часто феномен підвищення OPG при ХНН пояснюють редукцією величини швидкості клубочкової фільтрації, тобто вміст OPG в сироватці крові негативно корелює зі швидкістю клубочкової фільтрації [155]. Можна також припустити, що підвищення рівня OPG являє собою гомеостатичну відповідь на запалення при ХНН, і таким чином регулює рівень кісткової маси. Крім того, підвищення рівня OPG у групі з ХНН може свідчити про активацію Т-клітин.

Ці припущення підтверджуються дослідженнями ряду авторів, які надали докази зв'язку між OPG і кістковими порушеннями в умовах хронічного запалення [47, 99, 136]. Таким чином, збільшення вмісту OPG в сироватці крові тварин групи з ХНН можна розглядати як компенсаторну реакцію на підвищення активності остеокластів, а також як Т-клітинну імунну відповідь на запалення, що також підтверджується негативною кореляцією рівня OPG з рівнем протизапального цитокіну IL-1RA.

Важливу роль при цьому можуть відігравати порушення з боку ФССТ, всі елементи якої перебувають у тісному взаємозв'язку і взаємозалежності, а зміни будь-якого компонента цієї системи відображаються на інших, приводячи до зміни всієї системи в цілому. Можна припустити, що після повного усунення пошкоджуючих факторів, патологічний процес продовжує розвиватися і поглиблюватися, замикаючи ланцюги зворотного зв'язку і втягуючи в себе нові компоненти ФССТ. Таким чином, ХНН призводить до порушень кісткового метаболізму, що характеризується дисбалансом в механізмах ремоделювання кісткової тканини, які, в свою чергу, можуть призводити до розвитку склерозу нирки, строма якої також є частиною ФССТ.

Таким чином, патологічні процеси, що лежать в основі ХНН, супроводжуються порушенням балансу між про- та протизапальними

цитокинами, що відбивається на всій ФССТ, в тому числі і на метаболічних процесах в нирковій тканині.

### **3.2 Дослідження показників метаболізму та морфологічного стану сполучної тканини при експериментальному моделюванні ураження нирок та кісткової тканини**

Для біохімічної характеристики метаболізму СТ традиційно використовується визначення кількості колагену за ОП – амінокислотою, що не зустрічається в інших білках [539]. Визначення вмісту ОП є лабораторним діагностичним маркером функціонального стану і спрямованості метаболічних процесів у СТ [262]. Близько 20% оксипролінвмісних пептидів, які вивільняються з колагенових молекул, екскретується з сечею. Тільки 1% ОП сечі знаходиться у вільному вигляді, решта 99% є компонентами пептидів. При порушеннях синтезу колагену зменшуються поперечні зв'язки в фібрилах колагену, що призводить до зростання вмісту легкорозчинного колагену.

Тому у хворих з порушенням метаболізму СТ збільшується екскреція ОП з сечею, вміст його вільної фракції і зменшується вміст зв'язаної фракції, при цьому вираженість біохімічних змін корелює з тяжкістю патологічного процесу [477].

При дослідженні екскреції ОП з сечею у тварин контрольної групи та тварин із глюкокортикоїдним впливом встановлено, що рівні загального, вільного та зв'язаного ОП у щурів цих груп не відрізнялись. У тварин групи з ХНН достовірно підвищилися усі фракції ОП порівняно зі щурами контрольної групи ( $p < 0,05$ ) (рис.3.2.1). Вміст загального ОП в сечі щурів з гострим пошкодженням нирок склав  $0,28 \pm 0,08$  мг/добу і практично не відрізнявся від контрольного рівня ( $0,20 \pm 0,04$  мг/добу) (рис.3.2.2). Цей же показник у групі тварин з ХНН виріс до  $0,81 \pm 0,16$  мг/добу ( $p < 0,05$ ). При гострому пошкодженні нирок відзначена тенденція до збільшення фракції вільного ОП –  $0,10 \pm 0,03$  мг/добу (при контрольному рівні  $0,06 \pm 0,01$  мг/добу),

а при хронізації процесу його вміст значно підвищився –  $0,24 \pm 0,04$  мг/добу ( $p < 0,05$  порівняно з контролем). Спостерігалася також тенденція до збільшення фракції зв'язаного ОП –  $0,17 \pm 0,05$  мг/добу – в групі з гострим пошкодженням нирок (при контрольному рівні  $0,14 \pm 0,03$  мг/добу) і значне підвищення в групі з ХНН –  $0,57 \pm 0,12$  мг/добу ( $p < 0,05$ ).

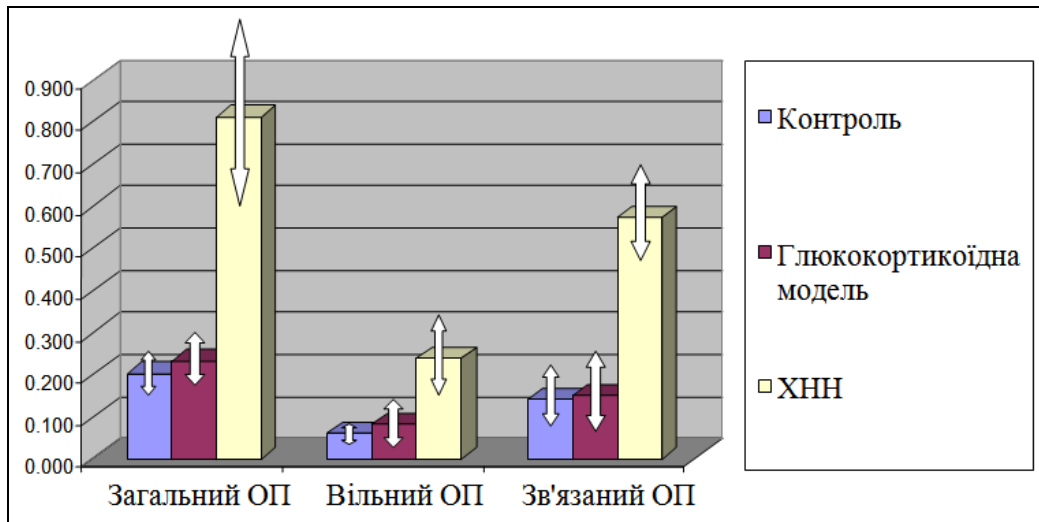


Рис. 3.2.1 – Рівні оксипроліну в сечі щурів з глюкокортикоїдною моделлю та моделлю з ХНН (мг/добу)

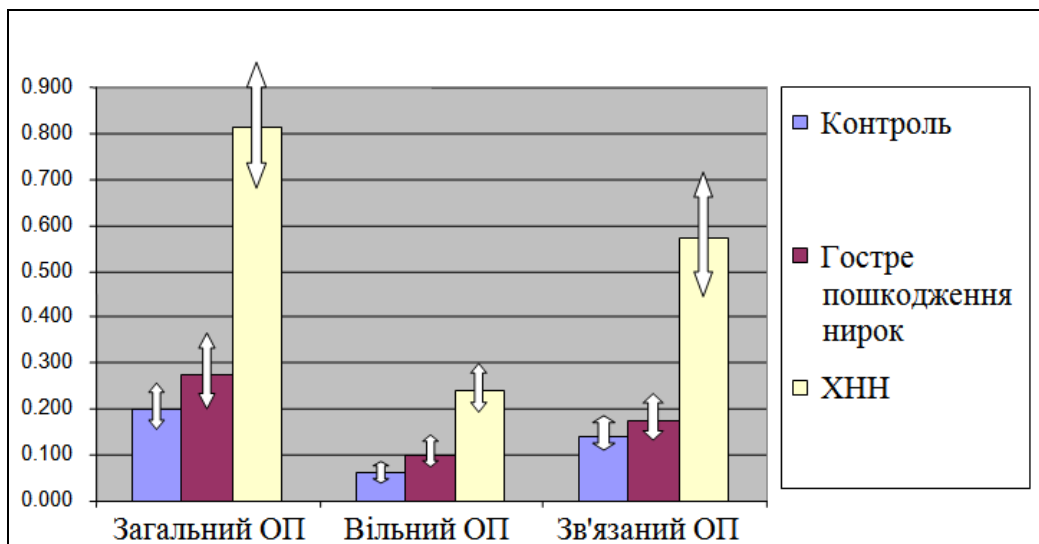


Рис. 3.2.2 – Рівень оксипроліну в сечі щурів з гострим пошкодженням нирок та з ХНН (мг/добу)

ХНН розглядається як істотний фактор ризику виникнення остеопоротичних змін [349]. Однак подальший розвиток патологічного процесу, ймовірно, залежить від ступеня первинних порушень. Якщо сила



впливу виходить за межі можливостей адаптації, то можливий її зрив, в результаті якого замикається петля позитивного зворотного зв'язку патологічного процесу, що проявляється підвищенням екскреції ОП з сечею. Ймовірно, ініційований нирковою недостатністю патологічний процес в СТ триває у віддаленому періоді і веде до розвитку нефросклерозу та втрати кісткової тканини.

У щурів з ХНН спостерігається порушення балансу процесів синтезу та розпаду колагену, про що свідчить зростання рівня усіх фракцій маркера метаболізму СТ – ОП в сечі. При цьому більш виражене збільшення рівня зв'язаного ОП на відміну від вільного, говорить про компенсаторну гіперактивність синтетичних процесів, яку можна розглядати як фактор ризику розвитку нефросклерозу і одночасно як фактор зниження ризику розвитку остеопорозу.

При цьому поряд із зростанням рівня вільного ОП, що свідчить про розпад СТ, спостерігалось зростання вмісту зв'язаного ОП, який є індикатором синтетичних процесів в ФССТ. Цей факт може відображати як відновні процеси в кістковій тканині, так і посилення синтезу колагену в нирках у зв'язку з розвитком нефросклерозу. Вірогідність цього процесу може зростати внаслідок синергізму запального процесу в нирках на тлі напруження механізмів адаптації в ФССТ.

При дослідженні рівнів паратиреоїдного гормону і кальцитоніну у крові щурів експериментальних груп виявлені наступні закономірності (табл.3.2.1).

Таблиця 3.2.1

Рівень паратиреоїдного гормону і кальцитоніну в крові щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Групи	Паратиреоїдний гормон	Кальцитонін
1	2	3
ГК	4,48±0,68* **	10,8±1,44

Продовження таблиці 3.2.1

1	2	3
ХНН	11,3±3,12	9,18±0,51
ХНН+ГК	14,2±7,51*	8,38±1,03
ІС+З	5,42±1,82**	13,9±1,96* **
Контроль	7,85±1,03	8,81±0,85

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з ХНН+ГК ( $p < 0,05$ )

Встановлено достовірне підвищення рівня паратиреоїдного гормону у щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом відносно контролю (у 1,8 раза). Рівень паратиреоїдного гормону в модельній групі щурів з ХНН теж був вищим за контроль (у 1,4 раза), але відмінності не були достовірними. В модельній групі з глюкокортикоїдним впливом рівень цього гормону знижувався відносно контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

При порівнянні рівнів паратиреоїдного гормону у тварин експериментальних груп між собою достовірні відмінності виявлені між групою з глюкокортикоїдною моделлю та групою з ХНН і глюкокортикоїдним впливом. У щурів останньої групи він був вищим ( $p < 0,05$ ) (табл.3.2.1). Також рівень паратиреоїдного гормону був достовірно нижчим у групі щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням при порівнянні з таким у групі щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом.

Вміст кальцитоніну відносно контролю підвищувався у щурів групи з іммобілізаційним стресом та запаленням ( $p < 0,05$ ). В інших модельних групах відмінностей у вмісті гормону порівняно з контролем не виявилось. Порівняння груп між собою за даним параметром показало, що у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням рівень кальцитоніну був вищим, ніж у тварин з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу ( $p < 0,05$ ).

За рівнем паратиреоїдного гормону групи виявилось можливим ранжувати у зростаючий ряд. Значення концентрації гормону в групі з

глюкокортикоїдною моделлю порушення були найнижчими. Більш високими були значення рівня гормону у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням, ще вищими – у контрольній групі, а в групах з ХНН та з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу відповідно були ще більш високі значення. За зростанням рівню кальцитоніну порядок значень був зворотнім.

Найвищий рівень паратиреоїдного гормону у щурів групи з поєднанням ниркової недостатності та глюкокортикоїдного впливу, можливо, свідчить про посилене руйнування кісткової тканини, активацію остеокластів та резорбцію. Найнижчий рівень паратиреоїдного гормону у щурів групи з глюкокортикоїдною моделлю порушення метаболізму кісткової тканини може говорити про напруження адаптаційних механізмів та виснаження резервів адаптації. Підвищений рівень кальцитоніну у даній групі, ймовірно, свідчить про особливий характер порушень при впливі глюкокортикоїдів екзогенного походження. Найнижчий рівень кальцитоніну в групі з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу може бути ознакою того, що процес ініціюється іншими механізмами, відмінними від таких у групах з більш високим рівнем гормону.

Відповідно, можна говорити про виявлену закономірність зростання рівня паратиреоїдного гормону в ряду використаних моделей із створенням патогенетичних механізмів порушень обміну СТ. Аналогічна, але зворотна за знаком, кореляція була виявлена при дослідженні рівня кальцитоніну в експериментальних групах. Моделі були розташовані у ряду майже в тому ж порядку, відповідно, виявляючи зворотний зв'язок з ростом значень кальцитоніну.

При дослідженні рівня естрадіолу встановлено, що середній рівень естрадіолу щурів усіх груп достовірно не відрізнявся від контрольного (рис.3.2.3).

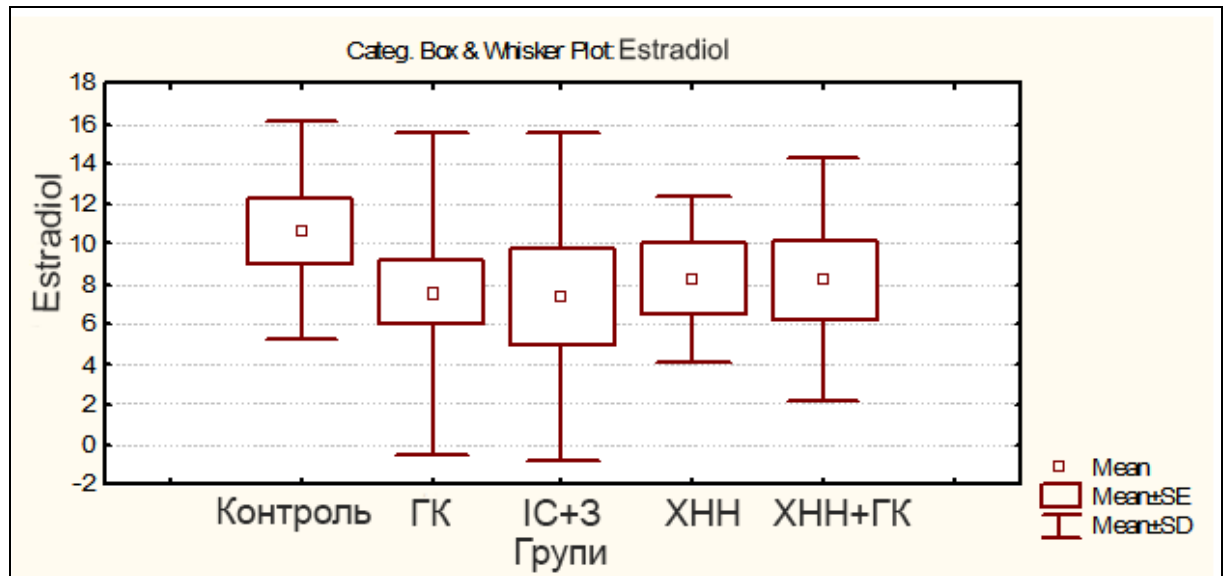


Рис. 3.2.3 – Порівняння середніх рівнів естрадіолу у щурів при моделюванні ураження нирок та кісткової тканини

Таким чином, отримана послідовність моделей відображує значення гормонального фактору у патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму СТ. Оскільки паратиреоїдний гормон є одним з модуляторів обміну СТ, зміни його вмісту в крові можуть характеризувати один із механізмів регулювання ФССТ, що зачіпають в тому числі кісткову тканину, будучи одним з механізмів розвитку ниркових остеодистрофій.

Для об'єктивної оцінки стану кісткової тканини у щурів модельних груп вимірювали щільність кісткової тканини стегна. Виявлено, що порівняно з контрольною групою із середнім значенням  $1,62 \text{ г/см}^3$  цей параметр у щурів з глюкокортикоїдною моделлю знизився ( $1,41 \text{ г/см}^3$ ) ( $p < 0,05$ ) (рис.3.2.4). У групі тварин з ХНН при дослідженні щільності кістки було відзначено її достовірне зниження ( $1,43 \pm 0,04 \text{ г/см}^3$ ) порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), що підтверджує порушення ремоделювання кісткової тканини і розвиток остеопорозу в цій групі.

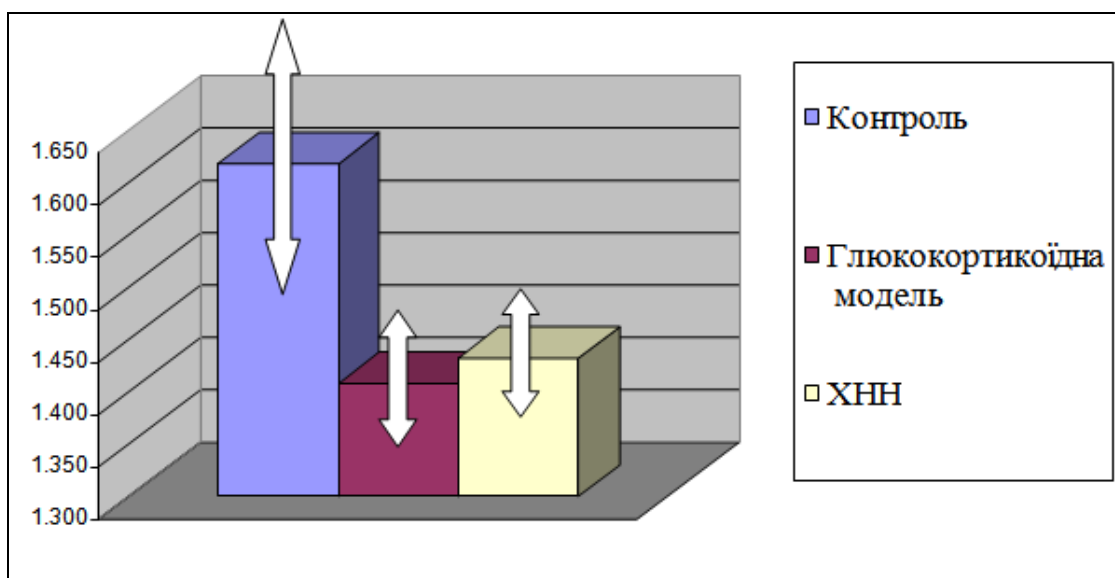


Рис. 3.2.4 – Зміни щільності кісткової тканини стегна у щурів з глюкокортикоїдною моделлю та моделлю з ХНН

Відношення маси кістки до діаметру діяфізу у щурів із глюкокортикоїдною моделлю було меншим, ніж у щурів контрольної групи ( $p < 0,05$ ). У щурів з моделлю ХНН значення цього параметру не відрізнялись від значень щурів контрольної групи (рис.3.2.5).

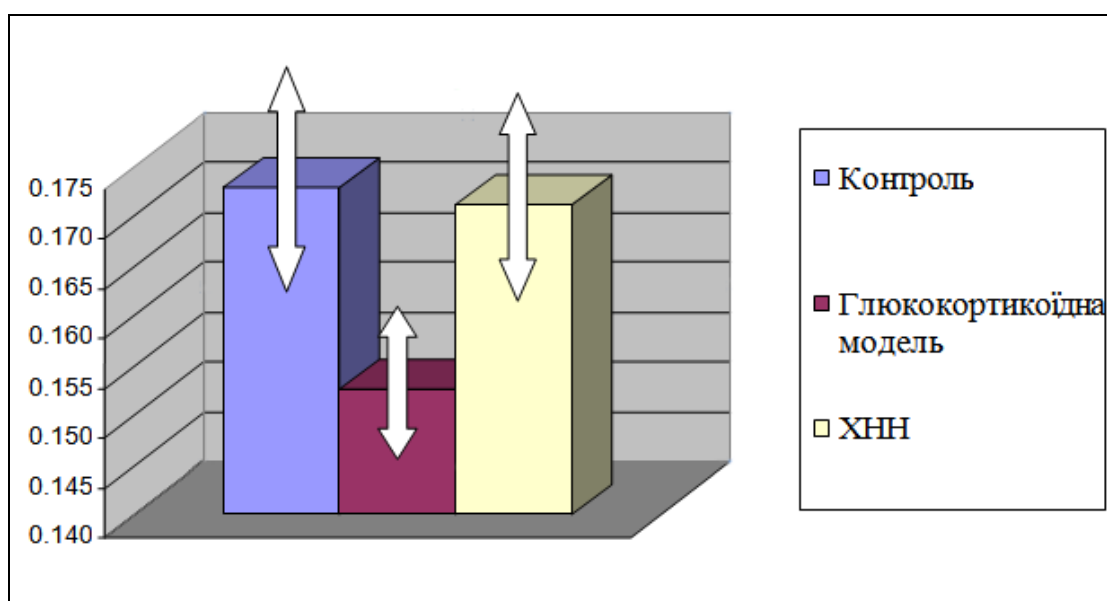


Рис. 3.2.5 – Відношення маси кістки до діаметру діяфізу стегна у щурів з глюкокортикоїдною моделлю та моделлю з ХНН

Визначення відносної маси стегнової кістки показало, що у щурів із глюкокортикоїдною моделлю цей параметр підвищився порівняно з

контролем ( $p < 0,05$ ) (рис.3.2.6). Ймовірно, це відбувалося тому, що щури з цієї групи під впливом глюкокортикоїдів значно втратили загальну масу тіла.

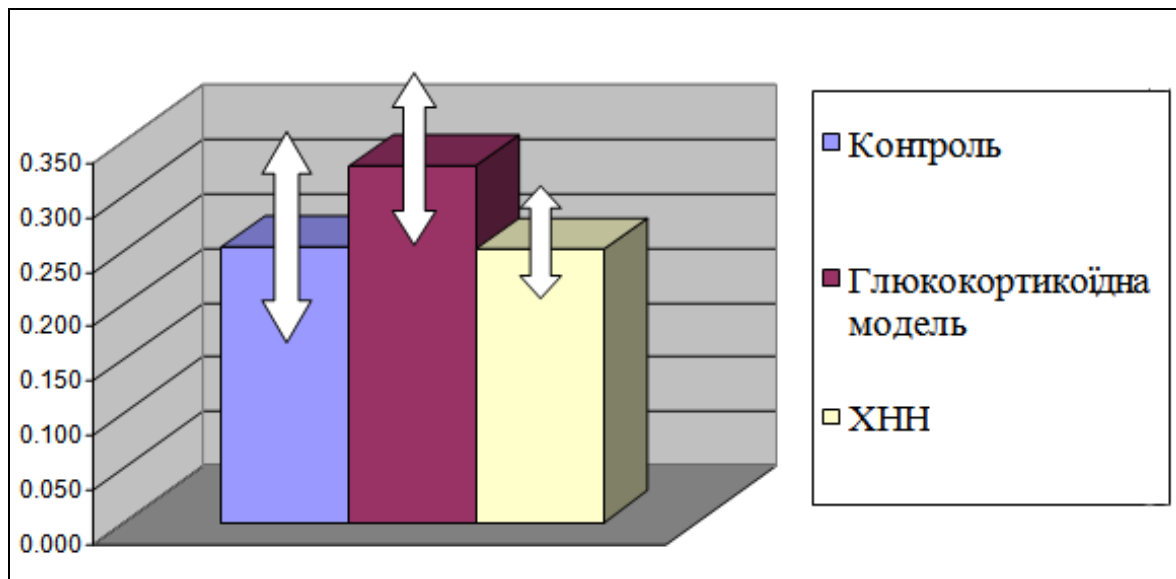
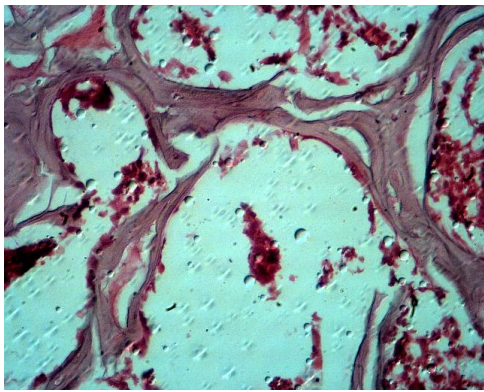
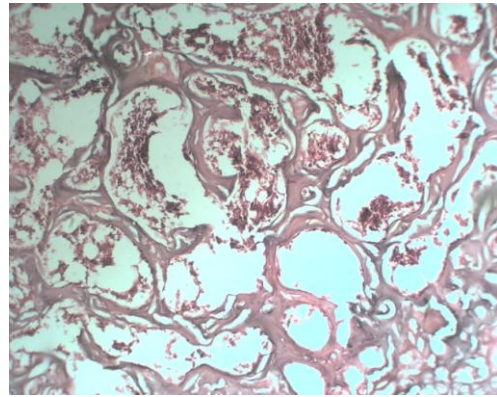


Рис. 3.2.6 – Відносна маса стегнової кістки (%) у щурів з глюкокортикоїдною моделлю та моделлю з ХНН

Морфологічна верифікація виявила деструктивні зміни у кістковій тканині експериментальних тварин (рис.3.2.7 (а, б), 3.2.8 (а, б)). У губчастій речовині спостерігалися витончення гратчастої мережі трабекул, зменшення їх кількості, мережа трабекул була місцями частково перервана, що призвело до розширення міжтрабекулярного простору. Частина трабекул мала крайові узири, що є наслідком остеокластичної резорбції кісткової тканини. У глибині трабекул візуалізувались мікротріщини і порожні остеочитарні лакуни. Трабекули губчастої речовини мозаїчно пофарбовані, що є ознакою нерівномірної кальцифікації внаслідок втрати мінеральної складової кісткової тканини. Таким чином, зниження відносної площі трабекул і розширення міжтрабекулярного простору є основною ознакою розвитку остеопоротичних змін в кістковій тканині.



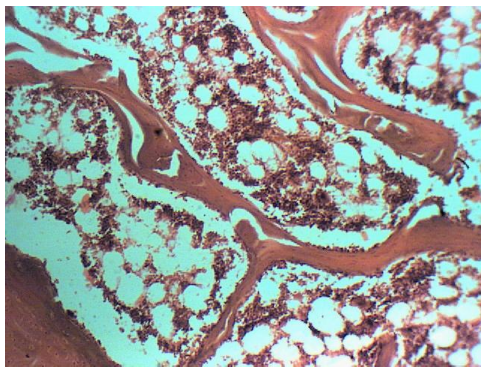
а)



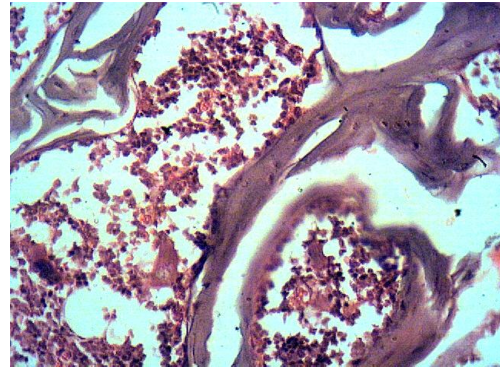
б)

Рис. 3.2.7 – Тіло хребця експериментального щура. Гематоксилін і еозин

а) Ок.10, об. 40; б) Ок.10, об. 20



а)



б)

Рис. 3.2.8 – Губчаста кісткова тканина епіфіза стегнової кістки експериментального щура. Гематоксилін і еозин

а) Ок.10, об. 10; б) Ок.10, об. 20

Виявлені характеристики кісткової тканини у щурів модельних груп з глюкокортикоїдним впливом і з ХНН свідчать про відмінності у механізмах патогенезу порушень ремоделювання СТ. Кінцевий ефект впливу глюкокортикоїдів на СТ відбувається з декількох системних напрямків метаболізму. Основний напрямок полягає у пригніченні проліферації фібробластів. Непрямі шляхи впливу глюкокортикоїдів на кістку пов'язані з обміном кальцію. Це зниження абсорбції кальцію у кишківнику, його реабсорбції у нирках та посилення виведення його із сечею, що має наслідком підвищення рівня паратиреоїдного гормону. Глюкокортикоїди, крім того пригнічують ефекти соматотропного гормону та інсуліноподібного фактору росту, який активізує формування СТ та синтез колагену I типу і

знижує деградацію колагену та апоптоз фібробластів [129]. Ниркова недостатність також системно, за багатьма напрямками знижує кісткову масу. Серед напрямків негативних ефектів – порушення метаболізму кальцію та фосфатів, а також метаболічний ацидоз, який стимулює резорбтивну активність остеобластів. У нашому випадку в глюкокортикоїдній моделі наслідки порушення ремоделювання кістки відбулися швидше, ніж у моделі з ХНН. Про це свідчить факт того, що рівень фракцій ОП у щурів з ХНН компенсаторно зріс. Вільний ОП зростав, демонструючи розпад колагену кісток, а підвищення зв'язаного ОП за принципом зворотного зв'язку мало метою збалансування процесів синтезу та розпаду. У щурів модельної групи з глюкокортикоїдним впливом процеси деградації колагену, ймовірно, вже завершилися, про що свідчили незмінні рівні фракцій ОП.

Таким чином, дослідження механізмів регуляції комплексних патофізіологічних процесів у СТ при патології нирок та остеопорозі виявили значні порушення регуляторних механізмів її ремоделювання. Відбувається порушення механізмів регуляції СТ, які здійснюються цитокінами, на рівні ФССТ. Ці зміни захоплюють найбільшу за масою СТ кісткову тканину. Регуляція ремоделювання кісткової тканини знаходиться під керуванням сигнального шляху системи RANK-RANKL-OPG. При дослідженні функціонування основної регуляторної ланки – показників RANKL та OPG, а також додаткової, яку складають адипокіни, встановлено збільшення рівня RANKL, який активізує резорбцію, а також збільшення рівнів адипокінів, з яких адипонектин відомий, крім іншого, як фактор підвищення резорбції шляхом збільшення рівня RANKL. Окрім стереотипних механізмів, спільних для усіх дослідних моделей, були виявлені відмінності процесів ремоделювання СТ в різних модельних групах. Для глюкокортикоїдної моделі основна відмінність полягає у пригніченні проліферації фібробластів. При порушенні стану нирок запальні реакції викликають порушення функціонування регуляторних механізмів сполучнотканинного ремоделювання аж до виключення з них деяких ланок сигнальних шляхів.



РОЗДІЛ 4  
МЕХАНІЗМИ УЧАСТІ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ  
ТКАНИНИ В РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЇ ОРГАНІВ  
ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ

**4.1 Дослідження патологічних змін стану сполучної тканини у щурів при експериментальному моделюванні патології органів панкреатодуоденальної зони, викликаній введенням жовчі**

Дослідження показників метаболізму СТ у щурів при моделюванні патології органів ПДЗ проводилося у динаміці: через 1, 2, 3 та 4 місяці після початку ін'єкцій жовчі.

Виявилося, що рівень загального ОП у сечі щурів у всі терміни спостереження після початку ін'єкцій жовчі був достовірно вищим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), однак вбачалася тенденція до зниження цього показника від місяця до місяця. Достовірне зниження порівняно з 1 місяцем спостереження було виявлене через 3 та 4 місяці (табл. 4.1.1). У всі терміни спостереження рівень вільного ОП був достовірно вищим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Однак, між термінами забору матеріалу протягом спостереження статистично значимих змін цього показника не було. Рівень зв'язаного ОП був достовірно вищим за контроль у всі терміни спостереження, але статистично достовірних відмінностей між різними термінами спостереження не виявлено.

Таблиця 4.1.1

Вміст оксипроліну у сечі щурів після ін'єкцій жовчі

Період після початку впливу	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
1	2	3	4
1 міс	0,53±0,12*	0,12±0,02*	0,41±0,1*
2 міс	0,47±0,09*	0,1±0,02*	0,37±0,07*

## Продовження таблиці 4.1.1

1	2	3	4
3 міс	0,37±0,08* <sup>1</sup> **	0,12±0,05*	0,25±0,04*
4 міс	0,39±0,16* <sup>1</sup> **	0,14±0,09*	0,25±0,17*
Контроль	0,20±0,04	0,06±0,01	0,14±0,03

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з 1 міс ( $p < 0,05$ )

Через 3 місяці частині експериментальних тварин було проведено серію ін'єкцій пентоксифіліну (2 підгрупа даної моделі експерименту). На 4 місяць спостережень у 2 підгрупі рівень загального і зв'язаного ОП був дещо вищим, а вільного дещо нижчим, ніж в підгрупі без ін'єкцій (1 підгрупа даної моделі експерименту). Проте ці відмінності не були статистично значущими (табл. 4.1.2).

Таблиця 4.1.2

Рівень оксипроліну у сечі щурів через 4 місяці після ін'єкцій жовчі та ін'єкцій пентоксифіліну, мг/добу

Підгрупи	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
1 – Без ін'єкцій пентоксифіліну	0,39±0,09*	0,14±0,09*	0,25±0,17*
2 – Після ін'єкцій пентоксифіліну	0,46±0,16*	0,08±0,02	0,38±0,08*
Контроль	0,20±0,04	0,06±0,01	0,14±0,03

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

Слід зазначити, що в 1 підгрупі спостерігався великий розкид значень загального ОП, що свідчить про нестабільний рівень ОП у окремих тварин, і ймовірно пов'язано з індивідуальними особливостями реактивності організму. Після введення пентоксифіліну розкид значень зменшився, тобто

індивідуальні особливості стали менш значущими і на перший план вийшли стереотипні реакції відповіді СТ на пошкодження. У щурів 2 підгрупи спостерігалася нормалізація рівня екскреції вільного ОП (відсутня статистично значима різниця з контролем), що свідчить про тенденцію до стабілізації обміну колагену при збереженні превалювання процесів синтезу над процесами розпаду.

При мікроскопічному аналізі препаратів печінки щурів 1 підгрупи (без ін'єкцій пентоксифіліну) виявлялися деструктивні зміни, які були пов'язані з порушенням радіального рисунка печінкових трабекул, явищами тканинного набряку з розширенням просторів Діссе. Гепатоцити втрачали полігональну форму, їх цитоплазма набувала зернистості. Виявлялися клітини різних розмірів – від дрібних з невеличким ядром, яке вміщувало 1-2 ядерця, до крупних набухлих гепатоцитів з нечіткими контурами (рис.4.1.1, 4.1.2).

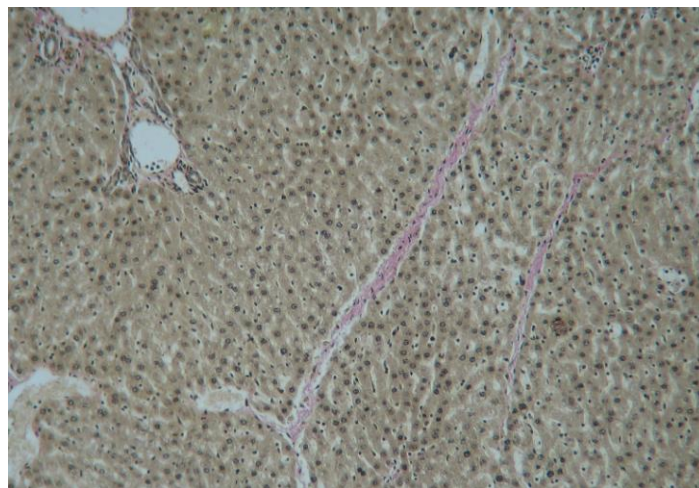


Рис. 4.1.1 – Формування прошарків СТ. Порушення трабекулярної структури розташування гепатоцитів, розширені центральні вени. Ван-Гізон.

Ок.10, Об. 10

Спостерігалися значні території, на яких розташовувалися зруйновані, некротизовані клітини та клітинний детрит. Вдоль портальних трактів формувалися прошарки СТ різної товщини, які чітко визначалися при забарвленні пікрофуксином за Ван-Гізоном (рис.4.1.1).

По всій території печінки виявлялися розширені центральні вени, повнокровні внутрішньочасточкові капіляри, нерівномірність заповнення

капілярних синусів клітинами крові, що свідчить про порушення кровообігу органу (рис.4.1.2). У всіх тварин поблизу деяких триад виявлялися інфільтрати, які склалися з круглоклітинних елементів, плазмоцитів та еозинофілів, що свідчить про перебіг запального процесу.

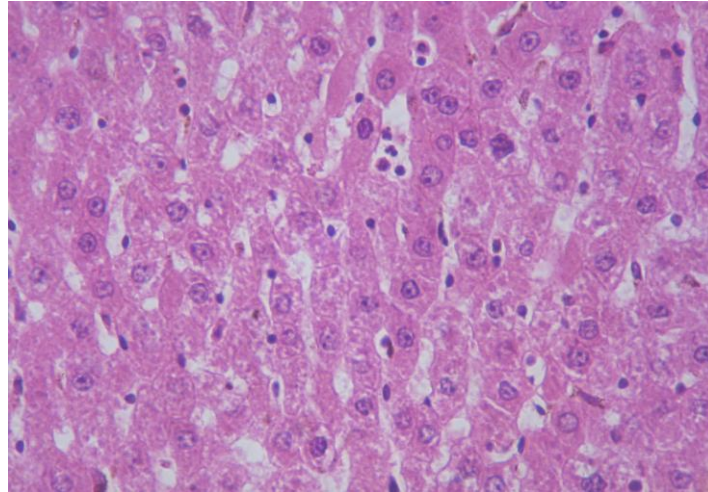


Рис. 4.1.2 – Нерівномірність заповнення капілярних синусів клітинами крові, клітинний набряк, розширення просторів Діссе. Руйнування гепатоцитів. Гематоксилін і еозин. Ок.10, Об. 40

Збільшені за розмірами Купферовські клітини добре візуалізувалися, на ділянках спостерігалися окремі двоядерні клітини, що є проявом слабо вираженого регенераторного процесу (рис.4.1.3).

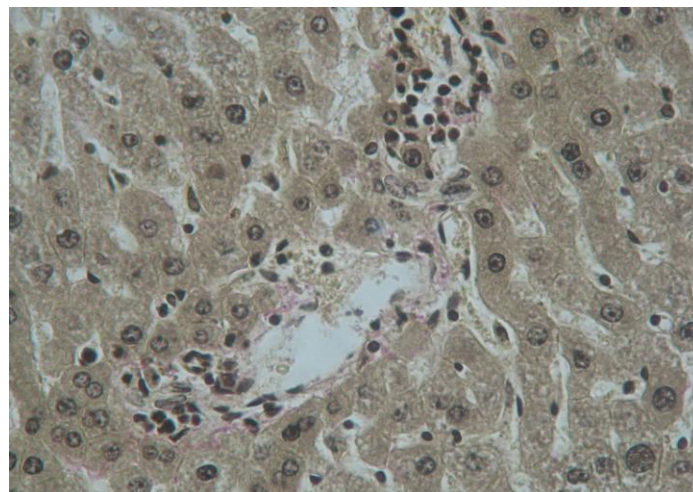


Рис. 4.1.3 – Інфільтрація клітин крові навколо триади. Гетероморфність та некроз гепатоцитів. Ознаки набряку. Ван-Гізон. Ок.10, Об. 40

У однієї тварини, поряд з описаними вище деструктивними змінами, спостерігалися функціональні порушення, які проявлялися накопиченням жовчного пігменту у клітинах (рис.4.1.4).

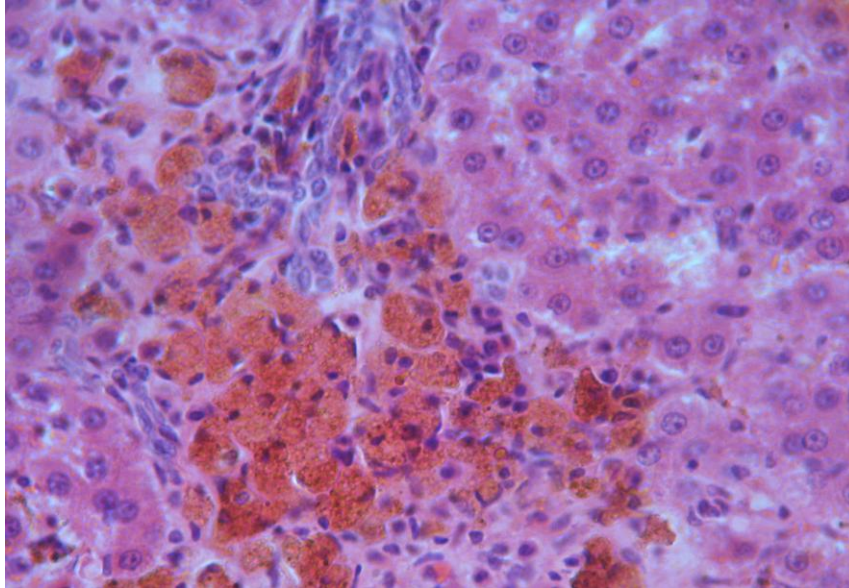


Рис. 4.1.4 – Накопичення жовчного пігменту у клітинах. Гематоксилін і еозин. Ок.10, Об. 40

Таким чином, введення щурам жовчі протягом 4 місяців призводить до розвитку деструктивно-дистрофічних змін у печінці з утворенням прошарків СТ, порушенням трабекулярного розташування гепатоцитів, їх руйнуванням на значній території органу, порушенням кровопостачання та функціонування.

При мікроскопічному дослідженні у печінках щурів 2 підгрупи (після серії ін'єкцій пентоксифіліну) виявлялися ідентичні структурні особливості. По периферії органу, під сполучнотканинною капсулою, та на окремих ділянках зберігалось порушення радіального розташування печінкових трабекул. Межі печінкових часточок виявлялися за наявності печінкових триад, які містили розширені центральні вени, розташовані поряд з переповненими еритроцитами внутрішньочасточковими капілярами, що віддзеркалює порушення кровообігу печінки (рис.4.1.5).

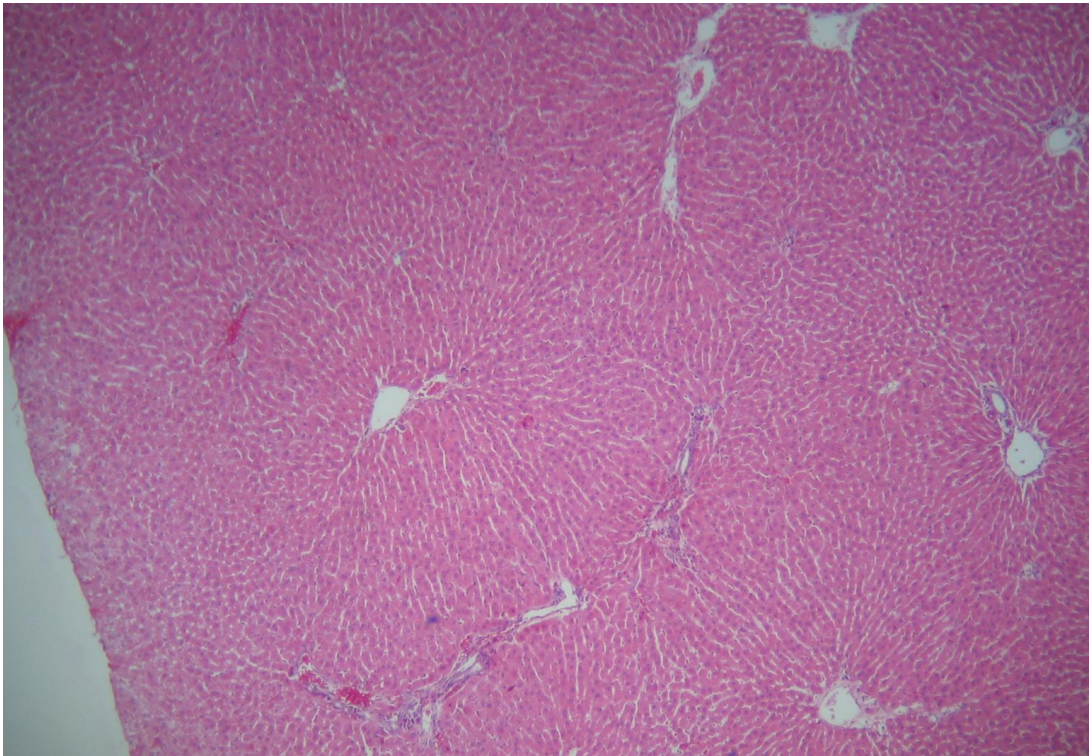


Рис. 4.1.5 – Розширені центральні вени, переповнені еритроцитами внутрішньочасточкові капіляри. Порушення радіального розташування печінкових трабекул на ділянках. Гематоксилін та еозин. Ок.10, Об. 10

На відміну від 1 підгрупи, у печінці щурів 2 підгрупи не спостерігалось прошарків СТ між печінковими часточками. Вузькі смужки СТ виявлялися переважно навколо окремих тріад. Звертала на себе увагу значна кількість двоядерних клітин – від 6 до 12-16 гепатоцитів у полі зору мікроскопу (ок.10, об.40), що свідчить про підсилення регенераторного процесу. Одноядерні гепатоцити характеризувалися різними розмірами та формою – від гіпертрофованих з великими ядрами та нечіткими межами до невеликих клітин полігональної форми з рівномірно забарвленою цитоплазмою, характерних для нормальної структури печінки. Цитоплазма переважної кількості гепатоцитів була зернистою. Серед гепатоцитів чітко відрізнялися Купферовські клітини, розміри котрих були збільшені. Зберігалися явища тканинного набряку (рис.4.1.6).

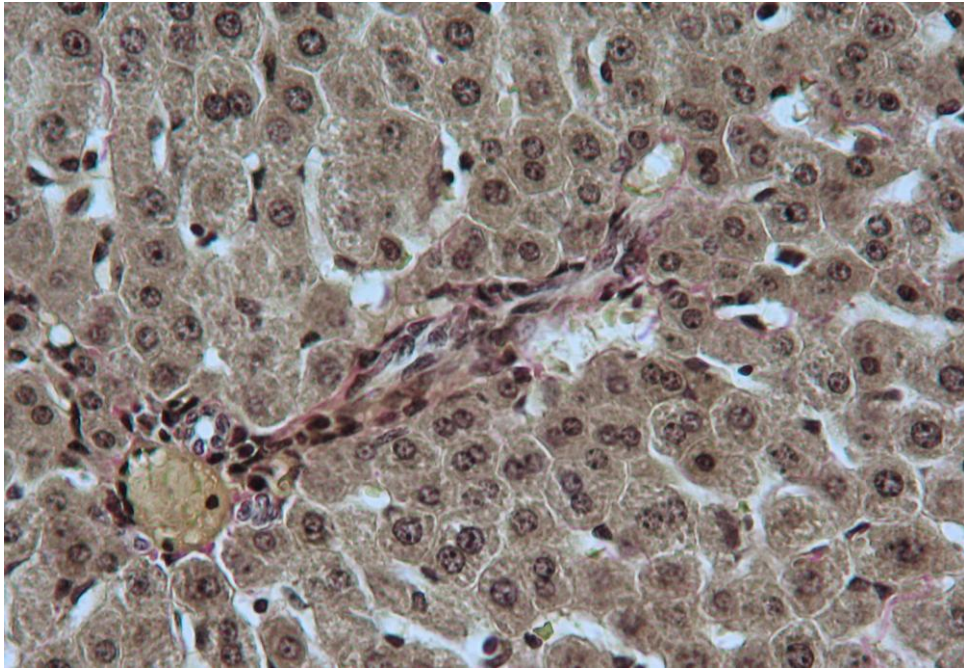
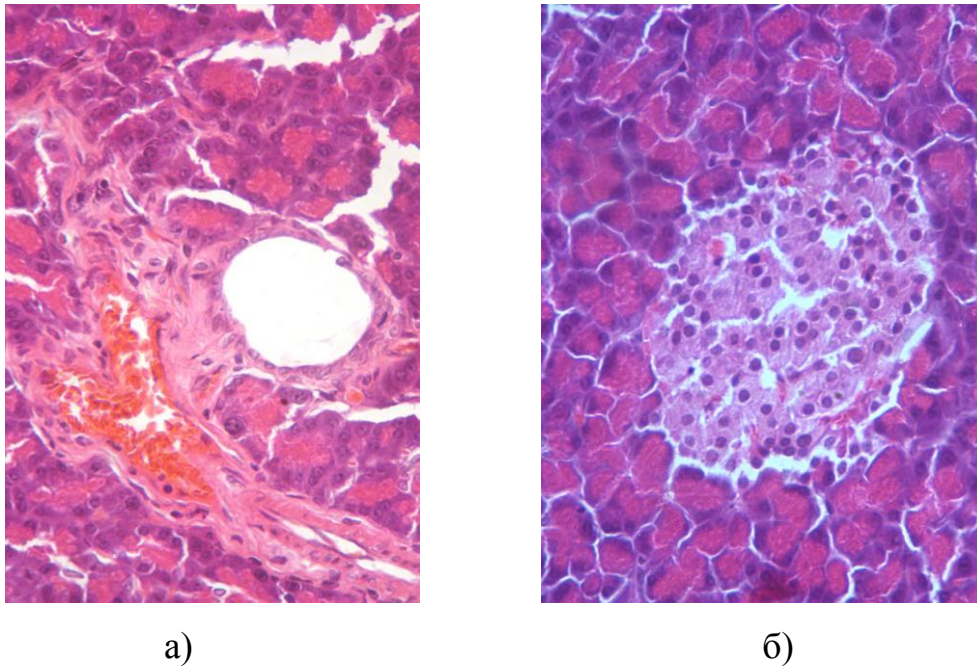


Рис. 4.1.6 – Вузька смужка СТ навколо портального тракту. Гетероморфність гепатоцитів. Значна кількість двоядерних клітин. Порушення радіального розташування печінкових трабекул на ділянках. Гематоксилін та еозин. Ок.10, Об. 40

Таким чином, при лікуванні щурів пентоксифіліном у тканині печінки спостерігаються процеси, спрямовані на нормалізацію структурно-функціонального стану органу. Виявляється відсутність сполучнотканинних прошарків, відновлення на ділянках трабекулярного розташування гепатоцитів, підсилення регенераторного процесу, що проявляється збільшенням кількості двоядерних клітин.

При гістологічному дослідженні підшлункової залози тварин обох підгруп встановлені аналогічні незначні зміни у структурі органа, а саме – явища тканинного набряку та розширення і повнокров'я кровоносних судин, що свідчить про порушення регіонарного кровообігу. Підшлункова залоза мала типову часточкову будову на всьому протязі гістопрепарату. Ацинозний малюнок був чітким. Панкреатичні острівці були представлені у достатній кількості, містили повнокровні капіляри (рис.4.1.7 а, б).



а)

б)

Рис. 4.1.7 – Явища тканинного набряку, розширення та повнокров'я судин:  
 а) екзокринна частина; б) панкреатичний острівець. Гематоксилін і еозин.  
 Ок. 10, Об. 40

Отже, моделювання хронічної патології ПДЗ введенням жовчі призводить до розвитку деструктивно-дистрофічних змін в першу чергу в печінці. У підшлунковій залозі тварин встановлені аналогічні незначні зміни в структурі органу, що свідчать про порушення місцевого кровообігу.

Треба зауважити, що підвищення рівня загального ОП через 1 місяць після початку ін'єкцій більшою мірою відбувалось за рахунок зв'язаного ОП і, ймовірно, може віддзеркалювати інтенсивний фіброгенез у відповідь на пошкодження. На віддалених термінах спостерігалась тенденція до зниження рівня зв'язаного і підвищення рівня вільного ОП, що може свідчити про розпад надлишково вироблених, незрілих колагенових волокон. Однак статистично достовірних змін між термінами спостереження не було встановлено (табл.4.1.1). Відсутність статистично значущих відмінностей дозволяє припустити, що накопичення колагену, що спостерігаються при морфологічних дослідженнях, носить локальний характер і зачіпає тільки



невелику частину СТ, а обмін її основної маси залишається в межах норми. Можна припустити, що таким чином відбувається дія компенсаторних механізмів у ФССТ на даному етапі розвитку експериментальної патології.

#### **4.2 Дослідження патологічних змін стану сполучної тканини у щурів при експериментальному моделюванні гострої хірургічної патології органів панкреатодуоденальної зони**

При дослідженні рівню ОП у сечі щурів при гострій хірургічній патології органів ПДЗ встановлено, що цей показник обміну СТ не зазнав достовірних змін порівняно з контрольними тваринами. Спостерігалася невелика тенденція до збільшення рівня вільного ОП в групі оперованих тварин на відміну від рівня цього показника у контрольних щурів, а також відповідно тенденція до зниження рівня зв'язаного ОП у оперованих тварин порівняно з контрольними (табл.4.2.1).

Таблиця 4.2.1

Вміст оксипроліну у сечі щурів при гострій хірургічній патології органів панкреатодуоденальної зони

Групи	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
Оперовані тварини	0,19±0,07	0,08±0,03	0,11±0,05
Контроль	0,20±0,04	0,06±0,01	0,14±0,03

При мікроскопічному дослідженні зразків печінки через 1 місяць після операції виявлялося порушення гістоархітекtonіки органу. Деструктивні зміни були пов'язані з втратою радіального розташування печінкових трабекул, руйнуванням гепатоцитів, явищами тканинного набряку. Порушення структурної організації гепатоцитів проявлялися зернистою дистрофією, некротичними змінами клітин з найбільшим проявом у

периферійних відділах, під сполучнотканинною капсулою, де території некрозу гепатоцитів були найбільшими (рис.4.2.1).

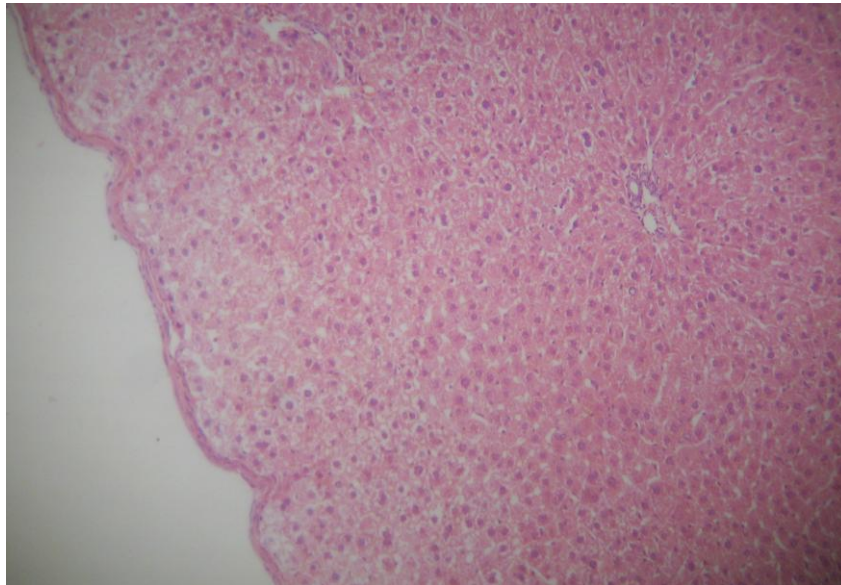


Рис. 4.2.1 – Порушення трабекулярної структури розташування гепатоцитів, ділянки некрозу під сполучнотканинною капсулою. Гематоксилін та еозин. Ок.10, об. 10

Портальні тракти виявлялися чітко. Деякі центральні вени були розширені. Визначалася проліферація ендотелію. Вздовж окремих портальних трактів спостерігалось формування прошарків СТ (рис.4.2.2).

У центральних ділянках органу простежувався радіальний малюнок розташування печінкових трабекул. Проте чітко відзначалися явища набряку з розширенням просторів Діссе. Внутрішньочасточкові капіляри були розширеними та повнокровними. Спостерігалось проникнення еритроцитів у паренхіму печінки, що свідчить про порушення кровообігу. Майже по всій території органу, гепатоцити втрачали полігональну форму, їх цитоплазма набувала зернистості, контури були нечіткими. Однак відмічалася значна кількість двоядерних клітин (4-10 у полі зору мікроскопу, ок. 40), що відображує регенераторні процеси (рис.4.2.3.).

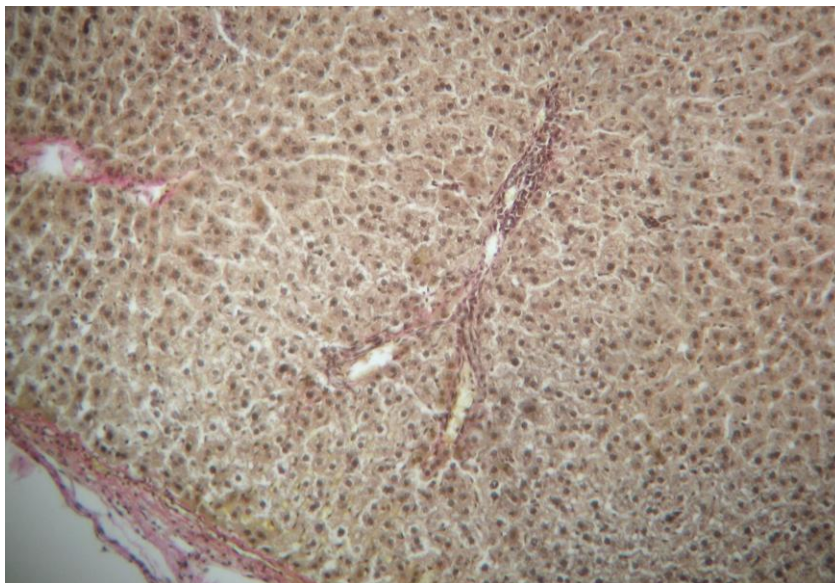


Рис. 4.2.2 – Порушення радіального розташування печінкових трабекул. Пікрофуксин за Ван-Гізоном

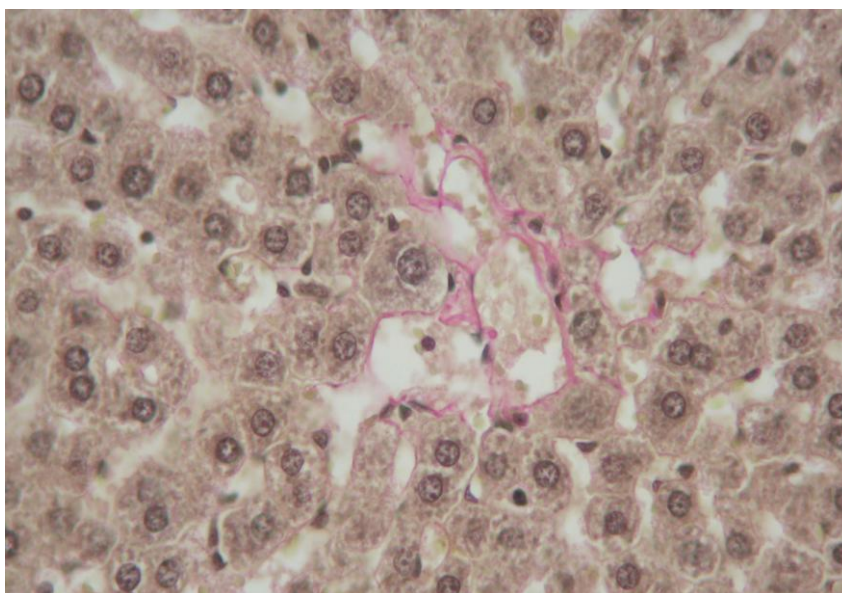


Рис. 4.2.3 – Нерівномірність заповнення капілярних синусів клітинами крові, клітинний набряк, розширення просторів Діссе. Руйнування гепатоцитів та двоядерні клітини. Пікрофуксин за Ван-Гізоном. Ок.10, об. 40

Через 4 місяці після операції при гістологічному дослідженні печінки щурів виявлялися однотипні зміни структурної організації, які були пов'язані із нечіткістю на ділянках і втратою радіального рисунку печінкових

трабекул, розширенням центральних вен, порушенням структурної організації гепатоцитів. Території некрозу клітин були значно меншими, ніж у зразках, отриманих через 1 місяць після операції. Межі печінкових часточок виявлялися лише за наявності міжчасточкових судин та жовчних протоків, які складають печінкові тріади. Розширені повнокровні центральні вени та внутрішньочасточкові капіляри, явища тканинного набряку відображували порушення кровообігу печінки (рис.4.2.4).

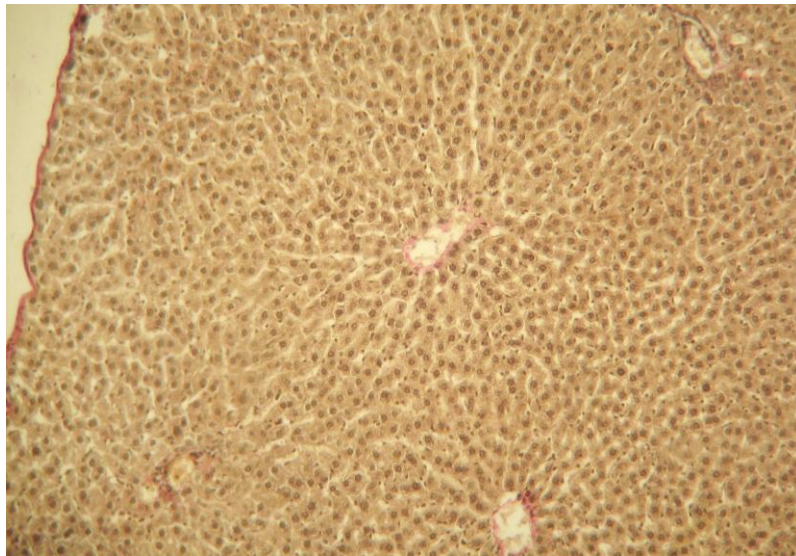


Рис. 4.2.4 – Нечіткість радіального рисунку печінкових трабекул. Розширені центральні вени. Набряк. Пікрофуксин за Ван-Гізоном. Ок.10, об. 10

Спостерігалось набухання та проліферація ендотелію печінкових судин (рис.4.2.5). Гепатоцити характеризувалися різними розмірами та формою: деякі з них відповідали за структурою нормальним клітинам печінки, інші мали зернисту цитоплазму та нечіткі контури.

Ознаками перебігу репаративного процесу у печінці була наявність серед клітин гіпертрофованих з великими ядрами, а також двоядерних гепатоцитів. Крім того добре візуалізувалися Купферовські клітини, які були збільшені за розміром, мали яскраво забарвлені базофільні ядра, на ділянках набували зірчастої форми, що свідчить про їх функціональну активність (рис.4.2.5).

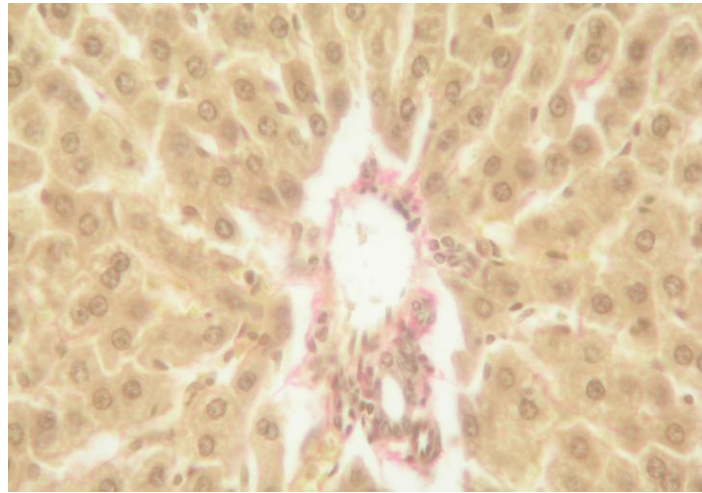


Рис. 4.2.5 – Розширена центральна вена. Двоядерні гепатоцити. Візуалізація Купферовських клітин. Пікрофуксин за Ван-Гізоном. Ок.10, об. 40

При гістологічному вивченні підшлункової залози досліджуваних тварин у вищезазначені терміни встановлені незначні зміни у структурі органа, які дозволяють стверджувати про порушення регіонарного кровообігу. Це, насамперед, тканинний набряк, а також розширення та повнокров'я кровоносних судин. В цілому, підшлункова залоза мала типову часточкову будову на всіх гістопрепаратах. Ацинуси характеризувалися нормальною будовою. Панкреатичні острівці були представлені у достатній кількості, містили повнокровні капіляри (рис.4.2.6).

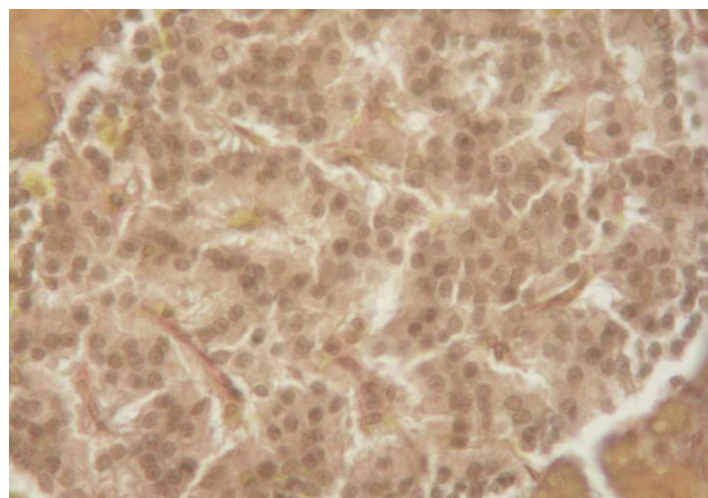


Рис. 4.2.6 – Панкреатичний острівець. Рівномірний розподіл клітин. Набряк. Повнокров'я капілярів. Пікрофуксин за Ван-Гізоном. Ок.10, об. 40

Таким чином, гостра хірургічна травма призводить до структурних та функціональних порушень у печінці та підшлунковій залозі. Через значний проміжок часу (4 місяці) патологічні ознаки ще зберігаються, що свідчить про порушення регуляції регенераційних процесів внаслідок значного стресу.

#### 4.3 Дослідження патологічних змін стану сполучної тканини у щурів при експериментальному моделюванні патології печінки, викликаній інтрагастральним та інтраперитонеальним введенням тетрахлорметану

Дослідження рівня ОП у сечі щурів, які отримували  $CCl_4$  інтрагастрально, показало, що зміни вмісту загального ОП залежать від змін вмісту зв'язаного ОП. Через 4 тижні після початку експерименту концентрація загального та зв'язаного ОП знизилася порівняно з контрольним рівнем ( $p < 0,05$ ) (табл.4.3.1). Через 5 тижнів ці показники вже не відрізнялися від контрольного рівня. А через 8 тижнів вони збільшилися порівняно з вихідними даними ( $p < 0,05$ ) (табл.4.3.1, рис.4.3.1).

Таблиця 4.3.1

Динаміка змін рівня оксипроліну у сечі щурів з експериментальним фіброзом, індукованим  $CCl_4$  (інтрагастрально)

Групи	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
$CCl_4$ , 4 тижні	0,13±0,03*	0,05±0,01	0,09±0,03*
$CCl_4$ , 5 тижні	0,23±0,04	0,08±0,02	0,15±0,02
$CCl_4$ , 8 тижні	0,48±0,09*	0,17±0,1	0,32±0,06*
Контроль	0,20±0,04	0,06±0,01	0,14±0,03

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

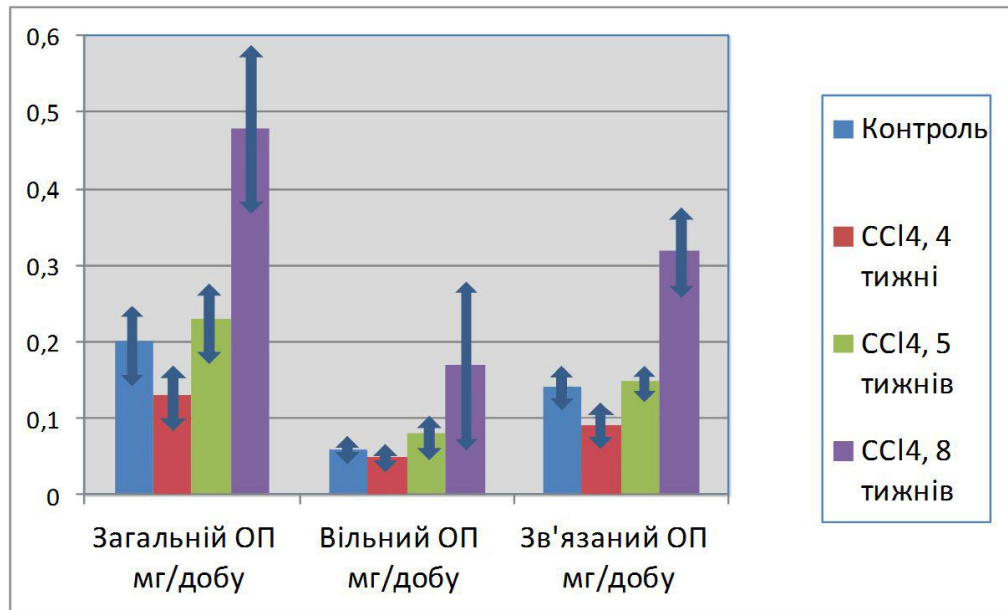


Рис. 4.3.1 – Динаміка змін рівня оксипроліну у сечі щурів з експериментальним фіброзом печінки, індукованим інтрагастральним введенням  $\text{CCl}_4$  (мг/добу)

Рівень вільного ОП у сечі щурів при інтрагастральному введенні  $\text{CCl}_4$  через 4 тижні, через 5 тижнів та через 8 тижнів відмінностей від рівня даного показника здорових тварин не мав (табл.4.3.1).

Відмінності від здорових тварин були виявлені при дослідженні змін рівня зв'язаного ОП. У щурів, які отримували  $\text{CCl}_4$  інтрагастрально, рівень цього показника через 4 тижні був нижчим, ніж у інтактних щурів, через 5 тижнів не відрізнявся від нього, а через 8 тижнів виріс порівняно з інтактними тваринами (табл.4.3.1). Виявлено, що рівень загального ОП підвищувався за рахунок фракції зв'язаного.

Крім того, через 8 тижнів у щурів з інтрагастральним введенням  $\text{CCl}_4$  було досліджено загальний вміст глікозаміноглікансульфатів (ГАГс), а також I, II та III фракції сульфатованих ГАГ у сироватці крові. З'ясувалося, що ці показники, крім рівня ГАГс II фракції, не відрізнялися від рівня у здорових щурів (табл. 4.3.2). Ця фракція містить хондроїтин-4-сульфат та дерматан-сульфат. Це може свідчити про те, що зміни відбувалися у СТ кровоносних судин печінки.

Таблиця 4.3.2

Вміст глікозаміноглікансульфатів сироватці крові щурів при інтрагастральному введенні  $\text{CCl}_4$

Група	ГАГс, оощ			
	Загальний вміст	I фракція	II фракція	III фракція
$\text{CCl}_4$	18,0±1,64	13,3±1,54	4,63±0,52*	4,67±0,91
Контроль	22,3±1,04	14,7±0,88	7,49±0,61	5,39±0,53

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем (інтактні тварини) ( $p < 0,05$ )

У зв'язку з тим, що морфологічний контроль показував відсутність значущих змін у тканині печінки у більш ранні періоди, при інтраперитонеальному способі введення  $\text{CCl}_4$  досліджувані періоди були зсунуті на більш пізній час – через 2 і 2,5 місяці після початку експерименту.

У групі тварин, які отримували  $\text{CCl}_4$  інтраперитонеально, у досліджуваній період через 2 місяці після початку експерименту рівень загального ОП у сечі підвищився порівняно зі здоровими щурами ( $p < 0,05$ ). Через 2,5 місяці цей параметр знов повернувся до рівня здорових тварин (табл.4.3.3), (рис.4.3.2).

Таблиця 4.3.3

Динаміка змін рівня оксипроліну у сечі щурів з експериментальним фіброзом, індукованим  $\text{CCl}_4$  (інтраперитонеально)

Група	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
$\text{CCl}_4$ , 2 міс.	0,36±0,06*	0,07±0,01	0,28±0,06*
$\text{CCl}_4$ , 2,5 міс.	0,21±0,05	0,07±0,01	0,14±0,05
Контроль	0,20±0,04	0,06±0,01	0,14±0,03

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )



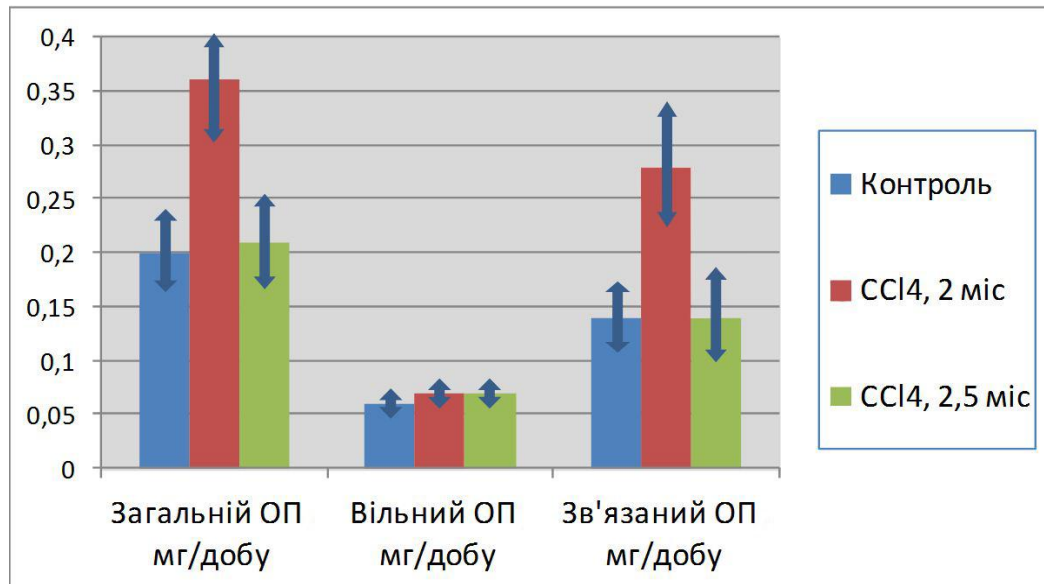
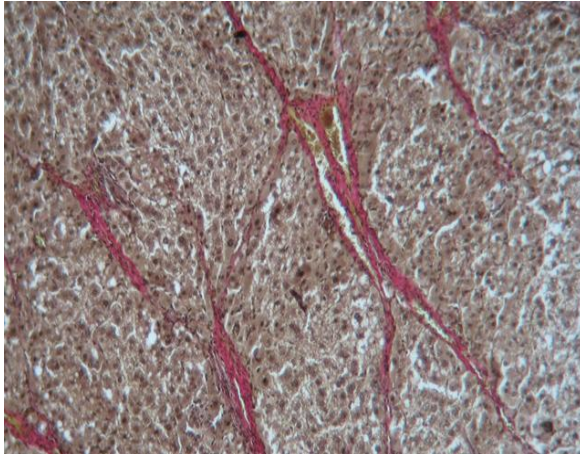


Рис. 4.3.2 – Динаміка змін рівня оксипроліну у сечі щурів з експериментальним фіброзом, індукованим інтраперитонеальним введенням CCl<sub>4</sub> (мг/добу)

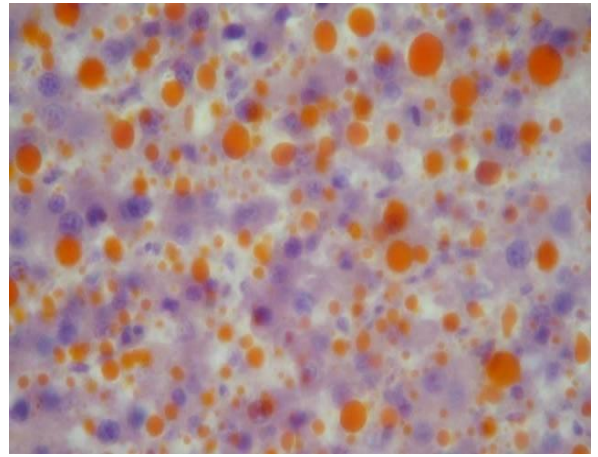
Рівень вільного ОП у сечі щурів, що отримували CCl<sub>4</sub> інтраперитонеально, не відрізнявся від цього параметру здорових тварин ані через 2, ані через 2,5 міс (табл.4.3.3). Рівень зв'язаного ОП у щурів після інтраперитонеального отримання CCl<sub>4</sub> збільшився порівняно зі здоровими тваринами через 2 місяці. Тобто зміни рівнів загального ОП також залежали від змін рівня зв'язаного ОП. Через 2,5 міс після початку експерименту цей показник знизився до рівня здорових тварин (табл.4.3.3).

Розвиток фіброзу було підтверджено морфологічними дослідженнями печінки. Процеси деструктивних і дистрофічних змін печінки і подальшої фібротизації протікали більш швидко, виразно і охоплювали весь орган у щурів з інтрагастральним введенням CCl<sub>4</sub>. При мікроскопічному аналізі зразків їх печінки виявлено порушення цитоархітектоніки органа. Радіальне розташування печінкових трабекул не простежувалося. Хибні часточки, відокремлені одна від одної сполучнотканинними септами різної ширини, склалися з клітин з деструктивними змінами – зруйнованою і вакуолізованою цитоплазмою, пікнотичними ядрами (рис.4.3.3, а). Відзначалися ділянки некрозу гепатоцитів і утворення детриту печінкових

часточок. При фарбуванні заморожених зрізів суданом III визначалося прогресування жирової дистрофії гепатоцитів, що поширювалось на всю паренхіму печінки (рис.4.3.3, б).



а



б

Рис. 4.3.3 – Фрагмент печінки щура: а) хибні часточки, розділені смугами СТ. Деструкція і некроз гепатоцитів. Окр. за Ван-Гізоном. Ок.10, про. 10; б) жирова дистрофія. Дифузний розподіл жирових включень у паренхімі печінки. Окр. суданом III та гематоксиліном. Ок.10, об. 40

При гістологічному дослідженні через 2 тижні після початку експерименту виявлялося порушення структурної організації печінки, яке було пов'язане із втратою радіального рисунку печінкових трабекул, розширенням центральних вен, порушенням організації гепатоцитів, появою осередків некрозу клітин. Межі печінкових часточок, як і у контрольних тварин, виявлялися лише за наявності міжчасточкових судин та жовчних протоків, які складають печінкові тріади.

Виявлені розширені центральні вени та внутрішньочасточкові капіляри, що були переповнені еритроцитами, а також крововиливи з розподілом еритроцитів по тканині печінки за рахунок набряку стінок капілярів та просочування через них червоних кровеносних тілець (рис.4.3.4) віддзеркалюють порушення кровообігу печінки під впливом токсичного чинника.

Порушення структурної організації гепатоцитів проявлялися зернистою дистрофією, некротичними змінами клітин з найбільшим проявом у периферійних відділах, де ділянки некрозу займали значні території (рис.4.3.5).

У центральних ділянках органу зберігалися радіально розташовані печінкові трабекули, в яких, поряд із гіпертрофованими та дистрофічно зміненими гепатоцитами, спостерігалися мостові некрози (рис.4.3.6). При забарвленні суданом виявлялася дифузно-осередкова жирова дистрофія клітин печінки (рис.4.3.7).

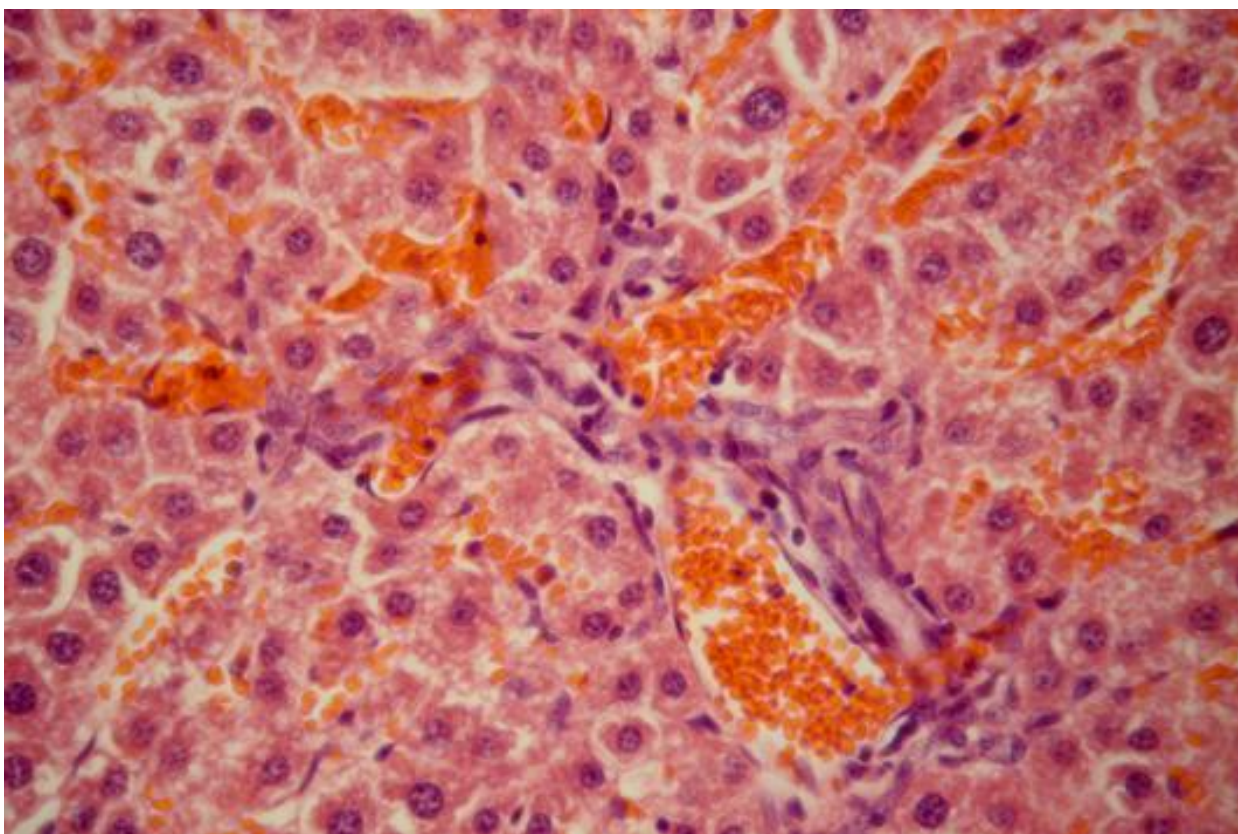


Рис. 4.3.4 – Фрагмент печінки щура. Повнокров'я центральної вени та внутрішньочасточкових капілярів. Просочування еритроцитів у паренхіму печінки. 2 тижні введення  $CCl_4$ . Гематоксилін та еозин. Ок.10, Об. 20

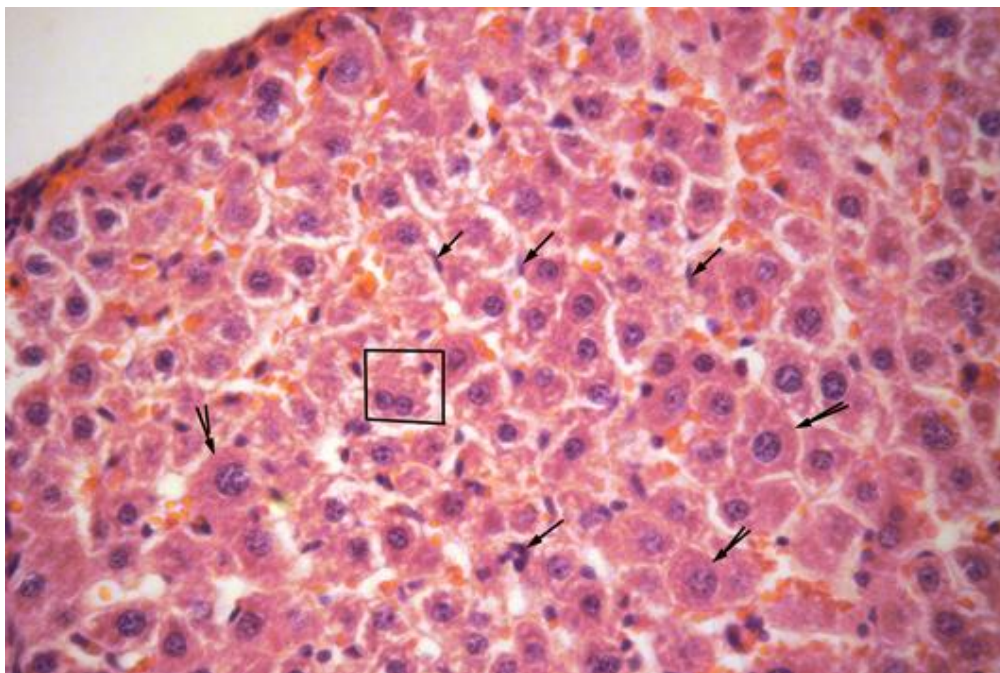


Рис. 4.3.5 – Фрагмент печінки щура. Зерниста дистрофія та некроз гепатоцитів. Візуалізація Купферовських клітин (стрілка). Гіпертрофія гепатоцитів (подвійна стрілка) та двоядерна клітина (рамка). 2 тижні введення  $\text{CCl}_4$ . Гематоксилін та еозин. Ок.10, Об. 20

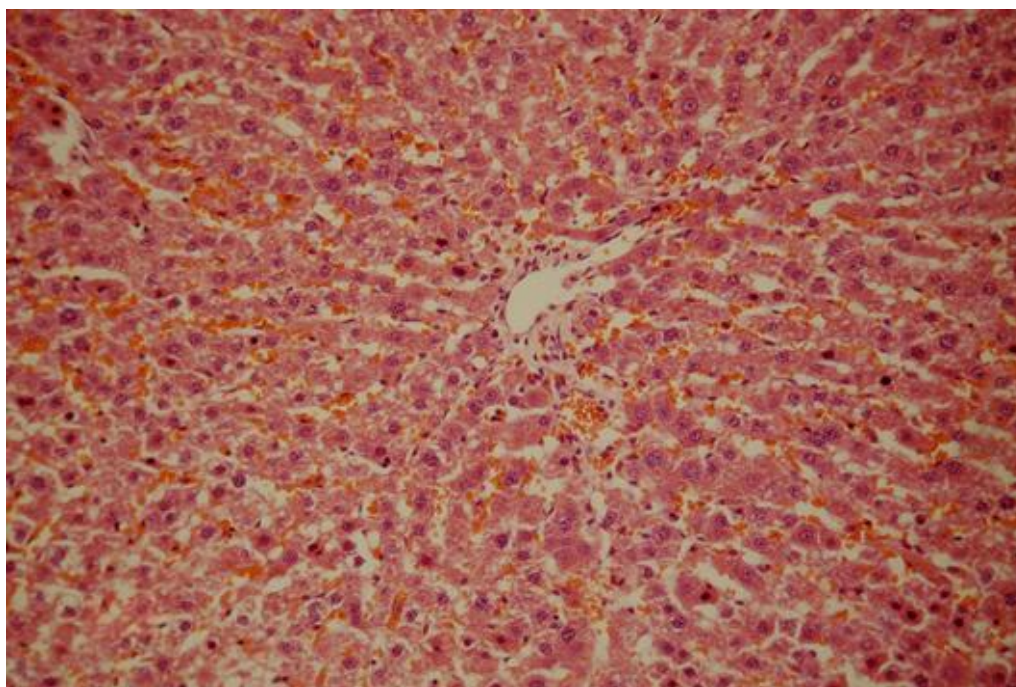


Рис. 4.3.6 – Фрагмент печінки щура. Мостові некрози у печінкових трабекулах. Зерниста дистрофія гепатоцитів. Крововиливи. 2 тижня введення  $\text{CCl}_4$ . Гематоксилін та еозин. Ок.10, Об. 10

Поряд з дистрофією та некрозом клітин відмічалися ознаки регенерації у вигляді гіпертрофії гепатоцитів та незначної кількості двоядерних клітин (рис.4.3.5). Гіпертрофовані гепатоцити мали розвинену базофільну цитоплазму та ядра з декількома ядерцями, що свідчить про підвищення біосинтетичних процесів. Добре візуалізувалися Купферовські клітини, які були збільшені за розміром, мали яскраво забарвлені базофільні ядра, на ділянках набували зірчастої форми (рис.4.3.5), що свідчить про їх функціональну активність та також розглядається як ознака перебігу репаративного процесу у печінці.

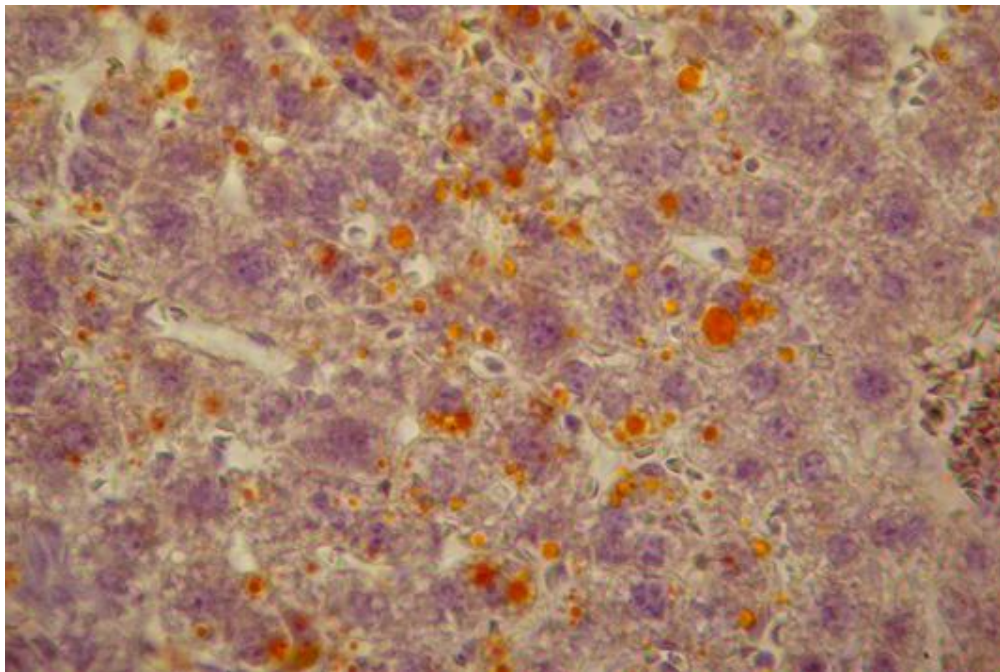


Рис. 4.3.7 – Фрагмент печінки щура. Осередкова жирова дистрофія гепатоцитів. 2 тижня введення  $CCl_4$ . Судан III та гематоксилін. Ок.10, Об. 40

Через 4 тижні введення  $CCl_4$  відзначалося прогресування деструктивних та дистрофічних змін у печінці. Так, основна частина гепатоцитів характеризувалася зміщеними на периферію ядрами та зруйнованою цитоплазмою. При забарвленні заморожених зрізів суданом III виявлялося прогресування (порівняно з попереднім періодом) жирової дистрофії гепатоцитів, яка розповсюджувалася на всю паренхіму печінки (рис.4.3.8). Ділянки некрозу гепатоцитів поширювалися. Спостерігалось

утворення детриту печінкових часточок. Портальні тракти виявлялися чітко. Відмічалось набрякання епітелію синусоїдів. Окремі центральні вени були розширені й переповнені кров'ю (рис.4.3.9).

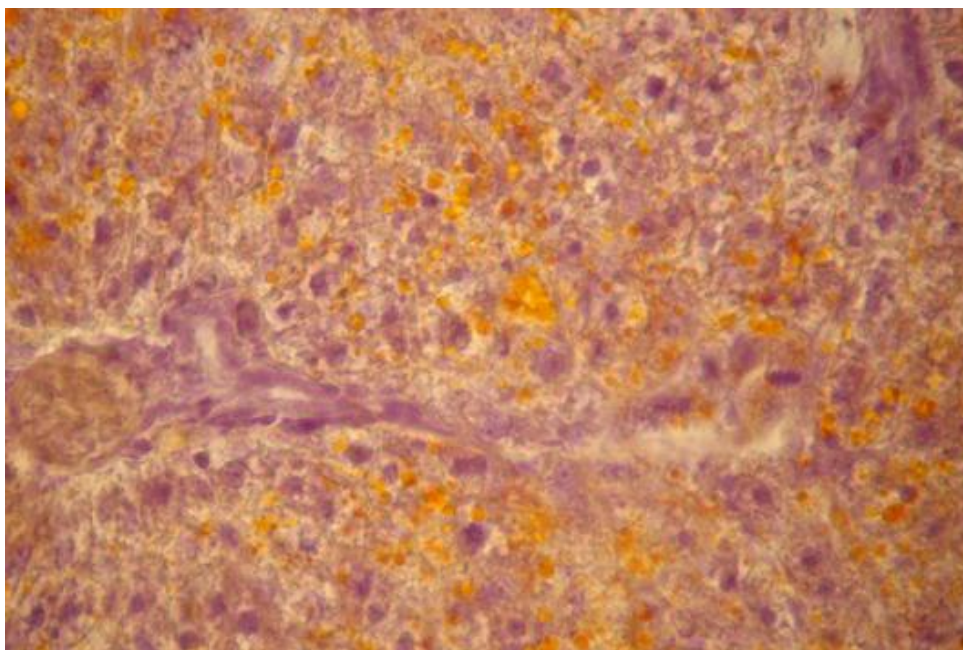


Рис. 4.3.8 – Фрагмент печінки щура. Жирова дистрофія гепатоцитів. 4 тижня введення  $CCl_4$ . Судан III та гематоксилін. Ок.10, Об. 40

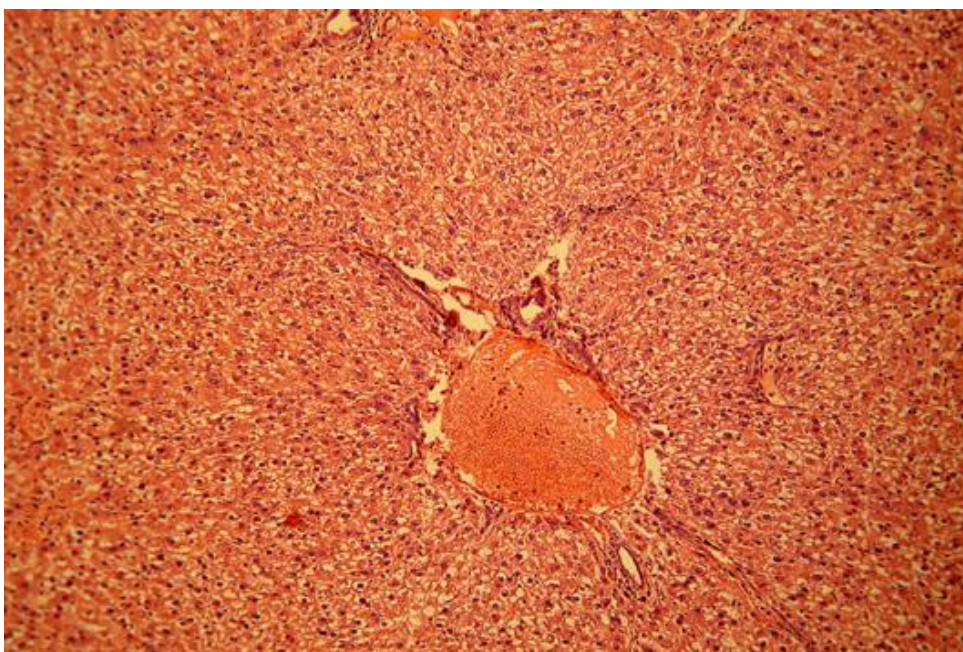


Рис. 4.3.9 – Фрагмент печінки щура. Розширена, переповнена кров'ю центральна вена. Набряк епітелію синусоїдів. Ділянки некрозу гепатоцитів. 4 тижня введення  $CCl_4$ . Гематоксилін та еозин. Ок.10, Об. 10

При гістологічному дослідженні через 6 тижнів виявлялося порушення цитоархітектоніки органа з втратою радіального розташування печінкових трабекул. Прошарки СТ різної ширини, які особливо чітко простежувалися при забарвленні за Ван Гізоном, формувалися навколо портальних трактів та відокремлювали несправжні часточки, позбавлені центральних вен (рис.4.3.10).

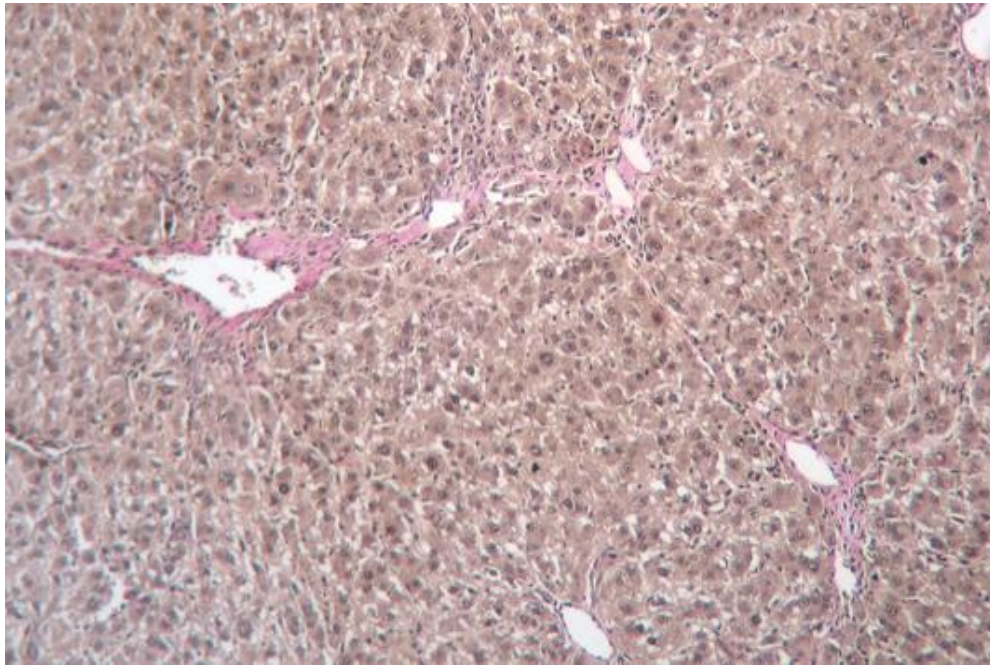


Рис. 4.3.10 – Фрагмент печінки щура. Порушення цитоархітектоніки. Прошарки СТ відокремлюють несправжні часточки. 6 тижнів введення  $CCl_4$ . Ван-Гізон. Ок.10, Об. 10

Ділянки некрозу гепатоцитів перемежувалися із збільшеними у розмірах клітинами з крупними гіперхромними ядрами, що свідчить про їх функціональну активність. Відмічались фігури мітозу, більшість серед яких була патологічними (рис.4.3.11). Купферовські клітини, як і на попередніх термінах спостереження добре візуалізувалися. Спостерігалось просочування еритроцитів у паренхіму печінки.

При морфологічному дослідженні печінки щурів через 7 тижнів чітко виявлялись несправжні часточки, які були відокремлені одна від одної шарами СТ (рис.4.3.12, 4.3.13). В ній розташовувались фібробласти з

крупними базофільними ядрами та розвинутою цитоплазмою, що свідчить про функціональну активність клітин й, відповідно, про тривалість процесу фібротизації печінки.

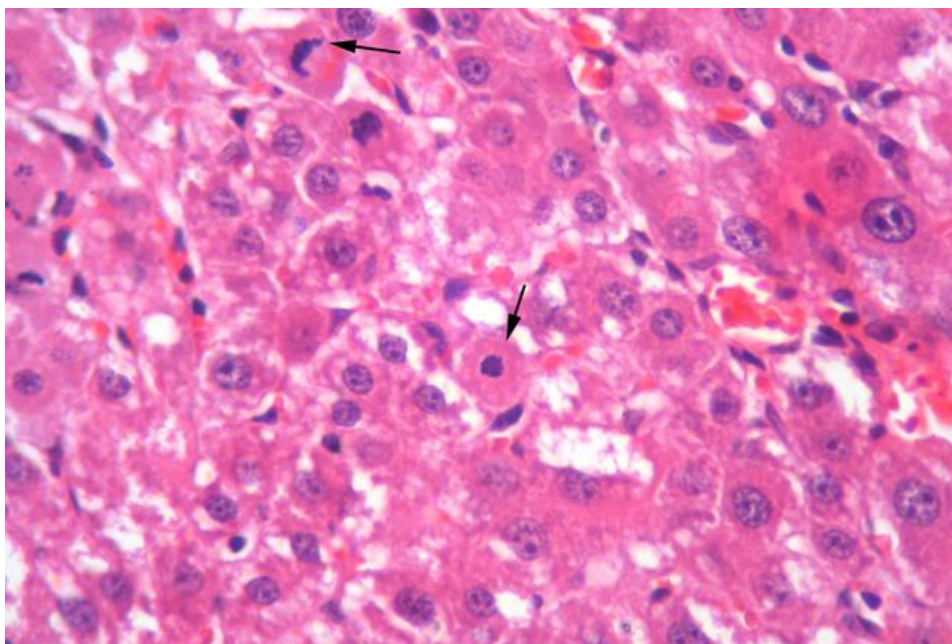


Рис. 4.3.11 – Фрагмент печінки щура. Ділянки некрозу та гіпертрофії гепатоцитів. Патологія мітозу (стрілка). 6 тижнів введення  $CCl_4$ .  
Ок.10, Об. 40

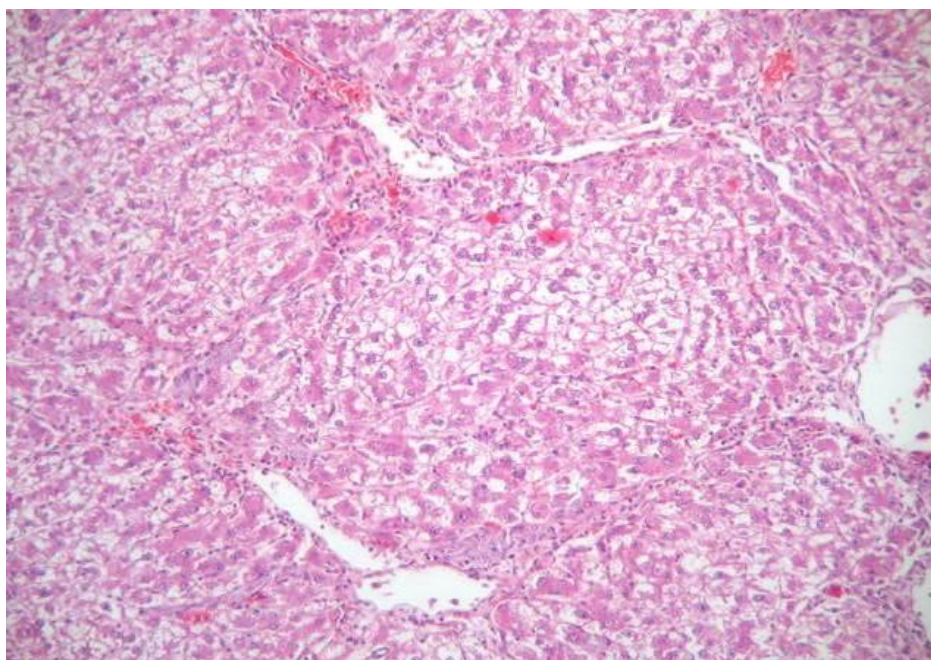


Рис. 4.3.12 – Фрагмент печінки щура. Вузлова трансформація паренхіми з утворенням несправжніх часточок. Поширені ділянки некрозу. 7 тижнів введення  $CCl_4$ . Ок.10, Об. 10. Гематоксилін та еозин



Як у СТ, так і у паренхімі печінки зустрічались відкладення гемосидерину, що свідчить про вихід еритроцитів з капілярів. Трабекулярна структура та нормальні гепатоцити не виявлялись. Осередки некрозу клітин поширювались, іноді розповсюджуючись не увесь вузлик. У ділянках з менш вираженим некрозом спостерігалась жирова дистрофія гепатоцитів; відмічалось вивільнення жирових включень зруйнованих клітин та їх дифузний розподіл у паренхімі печінки (рис.4.3.14). Регенераторні процеси паренхіми печінки виражені слабо: трапляються поодинокі гіпертрофовані гепатоцити та фігури патології мітозу.

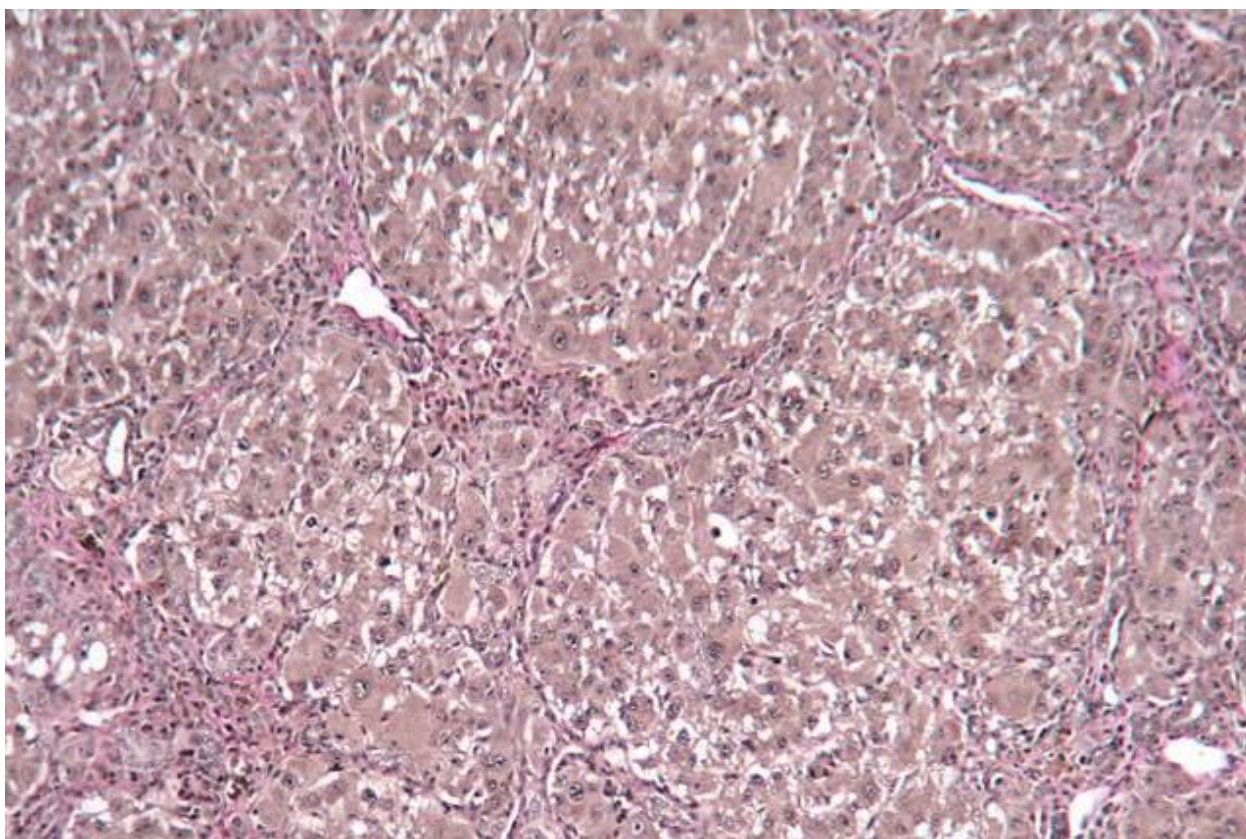


Рис. 4.3.13 – Фрагмент печінки щура. Вузлова трансформація паренхіми з утворенням несправжніх часточок. Поширені ділянки некрозу. 7 тижнів введення  $CCl_4$ . Ок.10, Об. 10. Ван-Гізон

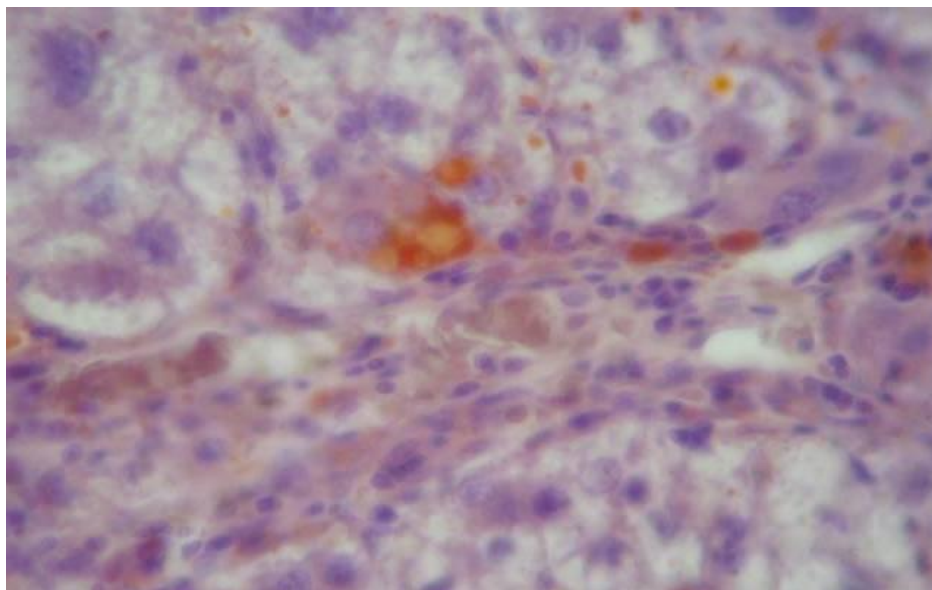
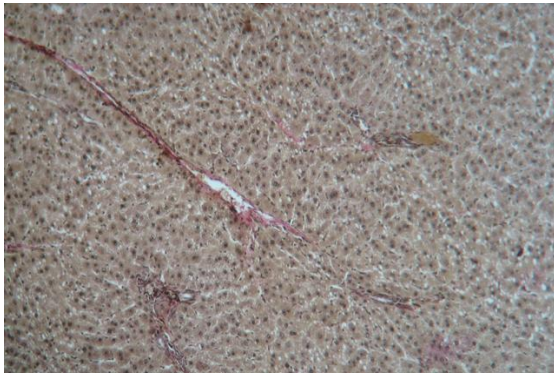


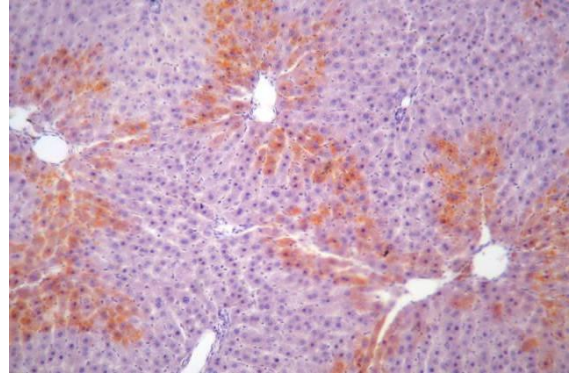
Рис. 4.3.14 - Фрагмент печінки щура. Жирова дистрофія гепатоциту. 7 тижнів введення  $CCl_4$ . Ок.10, Об. 40. Судан III та гематоксилін

Таким чином, введення лабораторним щурам розчину  $CCl_4$  внутрішньошлунково призводить до виникнення деструктивних змін в печінці, які прогресують пропорційно збільшенню терміну введення токсичного чинника. Формування несправжніх часточок, які відокремлюються осередками СТ, відбувається через 6 тижнів від початку токсичної дії і свідчить про експериментальний фіброз печінки. У подальшому чиниться розростання СТ, що свідчить про склеротизацію органу.

При інтраперитонеальному введенні  $CCl_4$  в печінці експериментальних щурів виявлено, що найбільші структурні поразки зазнали печінкові часточки, розташовані по периферії, поблизу сполучнотканинної капсули. Тут відзначались порушення радіального малюнка печінкових трабекул і ділянки некрозу, гепатоцити з вакуолізованою, грубозернистою цитоплазмою, пікнотичними ядрами. Формування прошарків СТ і жирова дистрофія гепатоцитів спостерігалися вздовж портальних трактів (рис. 4.3.15, а, б).



а



б

Рис. 4.3.15 Фрагмент печінки щура: а) формування СТ вздовж портальних трактів. Окр. за Ван-Гізоном; б) розподіл жирових крапель в гепатоцитах вздовж портальних трактів. Окр. суданом III та гематоксиліном.

Ок.10, об. 10

В центральних ділянках органу зберігалися радіально розташовані печінкові трабекули. Відмічалися гепатоцити з ознаками гіпертрофії, які мали збільшені розміри і великі ядра, а також двоядерні гепатоцити, що свідчить про можливе збереження достатньої для життєдіяльності тварини функції печінки.

При обох способах введення  $CCl_4$  в СТ печінки розташовувалися фіброblastи з великими базофільними ядрами і розвиненою цитоплазмою, а також ділянки проліферації фіброblastів, що свідчить про функціональну активність клітин і виражений процес фібротизації.

Відомо, що рівень зв'язаного ОП відображає активність проліферативних процесів у сполучнотканинній стромі органів [210], тому можливо, що при інтрагастральному способі введення через 8 тижнів процеси синтезу колагену переважали над процесами його розпаду. Це підтверджується і відсутністю змін рівня вільного ОП, який відображає процеси деградації колагену [532]. Ймовірно, зміни рівня ОП при інтраперитонеальному введенні пояснюються переважанням через 2 місяці колагенсинтетичних процесів, про що свідчило збільшення вмісту зв'язаного ОП. А через 2,5 місяці процеси синтезу і деградації фіброзних волокон у

даної групи тварин, мабуть, уже знов опинилися збалансованими, оскільки рівень зв'язаного ОП повернувся до вихідного.

У щурів при експериментальному фіброзі печінки зміни рівнів загального ОП залежали від змін рівня зв'язаного ОП. При інтрагастральному введенні  $CCl_4$  рівні загального та зв'язаного ОП до кінця досліджуваного періоду підвищувалися, що, ймовірно, пов'язано з фібротизацією печінки. Цей процес обумовлює зміни вмісту загального та зв'язаного ОП і при інтраперитонеальному введенні  $CCl_4$ : його рівень при даному способі введення підвищувався через 2 місяці, а знижувався через 2,5 місяці.

Таким чином, моделювання хронічної патології органі ПДЗ введенням жовчі, призводить до локальних деструктивно-дистрофічних змін, найбільш виражених у печінці. При цьому вбачалася тенденція до зниження спочатку підвищеного під дією пошкоджуючого фактора рівня загального ОП від місяця до місяця. Можна припустити, що на даному етапі формування патології адаптаційний резерв ФССТ не вичерпаний, що дозволяє відновлювати гомеостаз за рахунок включення компенсаторних механізмів завдяки значному напруженню регуляторних систем. На даному етапі, патологічний процес або оборотний, або можливо запобігти його прогресуванню і розвитку виражених клінічних проявів.

Гостра хірургічна травма призводить до структурних та функціональних порушень у печінці та підшлунковій залозі, які зберігаються через значний проміжок часу. При обох способах введення  $CCl_4$ , в СТ печінки була виявлена різка активізація фібротичних процесів, що супроводжувались як біохімічними змінами (зростанням рівнів загального та зв'язаного ОП), так і морфологічними (фіброласти з великими базофільними ядрами і розвиненою цитоплазмою, ділянки проліферації фіброblastів), що свідчить про функціональну активність клітин і виражений процес фібротизації. Ці порушення можна розцінювати як зрив механізмів адаптації внаслідок значного стресу, що веде до різкого зниження

функціональних можливостей організму і порушення гомеостазу, які проявляються порушеннями ремоделювання СТ на системному рівні.

На основі проведеного експерименту створена схема розвитку пошкоджень та участі у запальній відповіді ФССТ (рис.4.3.16).

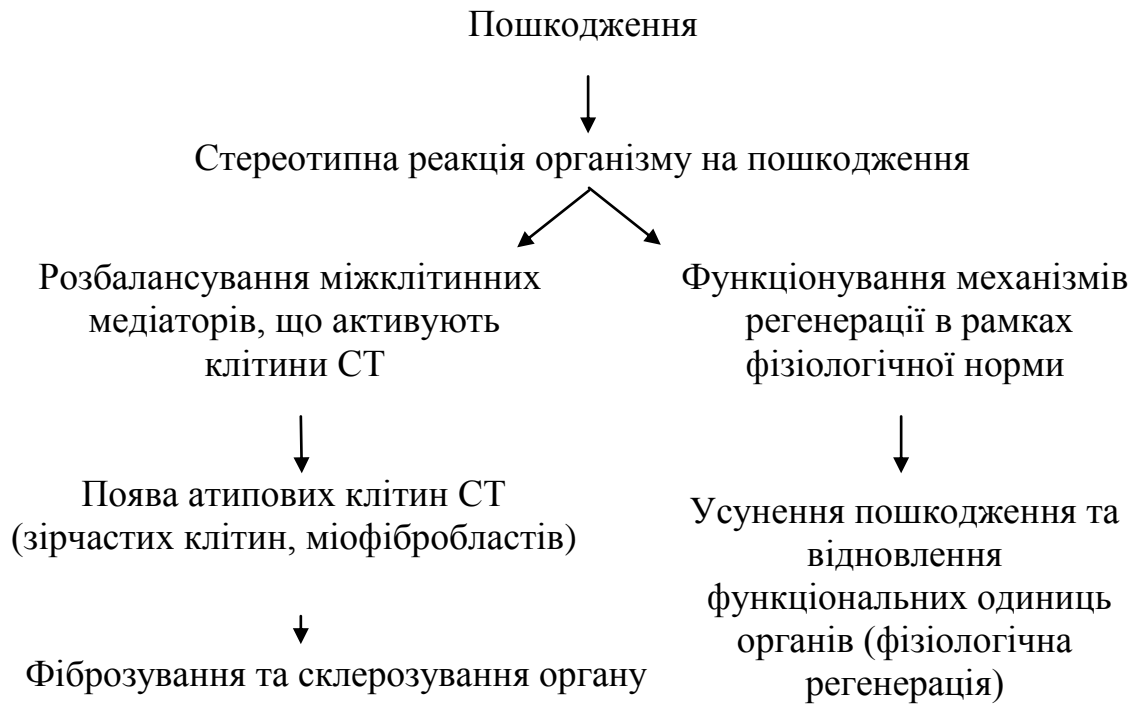


Рис. 4.3.16 – Схема розвитку пошкоджень та участі у запальній відповіді ФССТ

Таким чином, виявлені у дослідженнях за даним фрагментом роботи особливості стереотипних механізмів реагування ФССТ при моделюванні патології органів ПДЗ мають визначити напрями діагностичного пошуку та компенсаторних впливів при лікуванні, бо ця ланка патогенетичних механізмів відіграє значну роль у перебігу захворювань.

## РОЗДІЛ 5

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ  
ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ  
ПОРУШЕНЬ СТАНУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА УРАЖЕННЯ  
ПАРЕНХІМАТОЗНИХ ОРГАНІВ

**5.1 Дослідження функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу у щурів з експериментальним глюкокортикоїдним порушенням стану кісткової тканини та під впливом іммобілізаційного стресу та запалення**

Вивчення функціональної активності тромбоцитів у щурів з експериментальним порушенням стану СТ виявило наступне.

При концентрації індуктора агрегації АДФ 2,5 мкмоль/л ступінь агрегації тромбоцитів, час досягнення максимального ступеня агрегації та швидкість агрегації у тварин з експериментальним глюкокортикоїдним порушенням стану кісткової тканини майже не відрізнялися від параметрів контрольних тварин (табл. 5.1.1).

Таблиця 5.1.1

Параметри агрегації у щурів з глюкокортикоїдною моделлю при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/ хв.
ГК	41,6±8,73	81,9±9,29	66,2±9,44
Контроль	45,1±10,6	85,2±7,78	59,1±21,5

При концентрації індуктора агрегації АДФ 5 мкмоль/л у тварин з глюкокортикоїдним впливом час досягнення максимального ступеня

агрегації достовірно скорочувався порівняно з часом досягнення максимального ступеня агрегації тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Інші параметри агрегації мали тенденцію до зниження порівняно з такими у контрольних тварин, але відмінності не були достовірними (табл. 5.1.2.).

Таблиця 5.1.2

Параметри агрегації у щурів з глюкокортикоїдною моделлю при концентрації АДФ 5 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/ хв.
ГК	61,6±7,66	106±10,7 *	87,1±7,57
Контроль	80,4±9,25	133±8,08	107±10,4

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

Вивчення параметрів функціональної активності тромбоцитів при концентрації індуктора агрегації 10 мкмоль/л у тварин з глюкокортикоїдною моделлю всі параметри агрегації також мали тенденцію до зниження порівняно з показниками контрольних тварин, але статистично достовірної різниці виявлено не було (табл. 5.1.3).

Таблиця 5.1.3

Параметри агрегації у щурів з глюкокортикоїдною моделлю при концентрації АДФ 10 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/ хв.
ГК	85,4±8,99	178±18,7	91,4±9,77
Контроль	90,5±6,22	203±4,66	109±11,3

Між тим було виявлено, що у тварин контрольної групи існує негативна кореляція між ступенем агрегації при концентрації індуктора 10 мкмоль/л і рівнем ІЛ-6 ( $r = - 0,97$ ) ( $p < 0,05$ ). У тварин групи з порушенням обміну кісткової тканини під впливом глюкокортикоїдів такої кореляції вже не спостерігалось.

Було виявлено також, що у тварин з глюкокортикоїдною моделлю, має місце підвищення рівня ІЛ-4 (див. розділ 3, табл.3.1.1) та скорочення часу досягнення максимального ступеня агрегації при концентрації АДФ 5 мкмоль/л (табл.5.1.2).

Відомо, що при дії різних пошкоджуючих факторів каскад підвищення рівнів цитокінів починається прозапальними цитокінами – ІЛ-1, TNF, потім ІЛ-6 [28]. Після цього настає підвищення рівня протизапальних цитокінів [331], одним з яких є ІЛ-4.

Відомо також, що глюкокортикоїди здатні модулювати синтез цитокінів. Маючи протизапальну дію, глюкокортикоїди можуть викликати значне зниження кількості і функціональної активності імунокомпетентних клітин, проліферації фібробластів і синтезу компонентів ПКМ [412]. Системне застосування глюкокортикоїдів знижує експресію прозапальних цитокінів. Механізм дії глюкокортикоїдів полягає як у прямому інгібуванні транскрипції певних генів, так і в пригніченні активації NF- $\kappa$ B, основного транскрипційного фактора, що регулює роботу генів, пов'язаних із запаленням і імунною відповіддю [508].

Можливо, підвищення вмісту ІЛ-4 у щурів із порушенням стану кісткової тканини, змодельованому за допомогою глюкокортикоїдів, можна пояснити саме впливом глюкокортикоїдів. Крім того, існує думка про виділення тромбоцитами після активації низки цитокінів [55], що може додавати внесок до цих процесів. Тому стає зрозумілою наявність зв'язку між агрегаційною активністю тромбоцитів та концентрацією прозапального ІЛ-6.



Крім того, у літературі є дані про наявність глюкокортикоїдних рецепторів на тромбоцитах, лігандами для яких є як преднізолон, так і дексаметазон. За даними L.A. Moraes зі співавт. (2005) [198] саме дексаметазон, на відміну від преднізолону, не має властивості інгібувати індуквану АДФ (при концентрації 4 мкмоль/л) агрегацію тромбоцитів, що підтверджує виявлене скорочення дексаметазоном часу досягнення максимального ступеня агрегації при концентрації АДФ 5 мкмоль/л.

Отже, вивчення функціональної активності тромбоцитів у щурів з експериментальним порушенням стану СТ виявило ознаки початку змін функцій тромбоцитарного ланки під впливом глюкокортикоїдів.

Вивчення показників агрегації у щурів після іммобілізаційного стресу та хронічного запалення при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л виявило статистично достовірне збільшення таких параметрів функціональної активності тромбоцитів, як ступінь і швидкість агрегації (табл.5.1.4).

Таблиця 5.1.4

Параметри агрегації тромбоцитів у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/ хв.
ІС+З	62,5±6,25*	87,2±6,71	99,6±9,90*
Контроль	45,1±8,6	85,2±7,78	59,1±12,5

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

Параметри агрегації у щурів експериментальної групи з іммобілізаційним стресом та запаленням при концентрації індуктора агрегації АДФ 5 мкмоль/л майже не відрізнялися від показників контрольних тварин. Така ж ситуація спостерігалася і при дослідженні цих показників при концентрації індуктору, рівному 10 мкмоль/л (табл. 5.1.5, 5.1.6).

Таблиця 5.1.5

Параметри агрегації тромбоцитів у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням при концентрації АДФ 5,0 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/ хв.
ІС+З	74,8±4,37	131±6,67	101±7,35
Контроль	80,4±9,25	133±8,08	107±10,4

Таблиця 5.1.6

Параметри агрегації тромбоцитів у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням при концентрації АДФ 10 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, % хв
ІС+З	81,4±6,12	200±10,01	103±10,2
Контроль	90,5±6,22	203±4,66	109±11,3

У групі тварин з іммобілізаційним стресом та запаленням була виявлена негативна кореляція між ступенем агрегації при концентрації індуктора 5 мкмоль/л і рівнем ІЛ-4 ( $r = - 0,63$ ) ( $p < 0,05$ ), між швидкістю агрегації при концентрації індуктора 5 мкмоль/л і рівнем ІЛ-4 ( $r = - 0,56$ ) ( $p < 0,05$ ), а також між часом досягнення максимального ступеня агрегації при концентрації індуктора 10 мкмоль/л і рівнем ІЛ-6 ( $r = - 0,79$ ) ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, при порушенні обміну СТ, змодельованому за допомогою поєданого впливу іммобілізаційного стресу та запалення,

виявлено підвищення медіани рівнів ІІ-4 порівняно з цим параметром контрольної групи тварин (див. розділ 3, рис.3.1.2), підвищення швидкості та ступеня агрегації при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л (табл. 5.1.4) , а також наявність взаємозв'язку між параметрами агрегації та рівнями ІІ-4 та ІІ-6.

Підвищення швидкості агрегації при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л підтверджується даними літератури, де описується посилення адгезії і агрегації при запальних процесах внаслідок накопичення АДФ в запалених тканинах [331, 459].

Факт підвищення медіани рівнів ІІ-4 в даному дослідженні відповідає даним літератури про його високі рівні в тканинах пацієнтів з хронічними запальними захворюваннями, де він може грати важливу роль в прогресуванні патології [267].

При зростанні рівня ІІ-4 у тварин з моделлю порушень обміну СТ існує можливість зниження параметрів функціональної активності тромбоцитів. Виявлені взаємозв'язки рівнів інтерлейкінів з параметрами функціональної активності тромбоцитів підтверджують наявність точок взаємодії між функціонуванням системи гемостазу та розгортанням каскаду цитокінів.

Одночасний вплив тривалого стресу і запалення викликає виснаження резервів адаптації організму, який реагує на пошкодження зростанням рівня імуномодельючого цитокіну і лабільністю функцій, що забезпечують судинно-тромбоцитарний гемостаз.

Вивчення агрегаційної активності тромбоцитів у щурів з експериментальними порушеннями стану СТ у досліджених модельних групах виявив різнонаправлені зміни функціональної активності тромбоцитів, всі криві носили однохвильовий характер, але мали дуже різні параметри дезагрегації (рис.5.1.1).

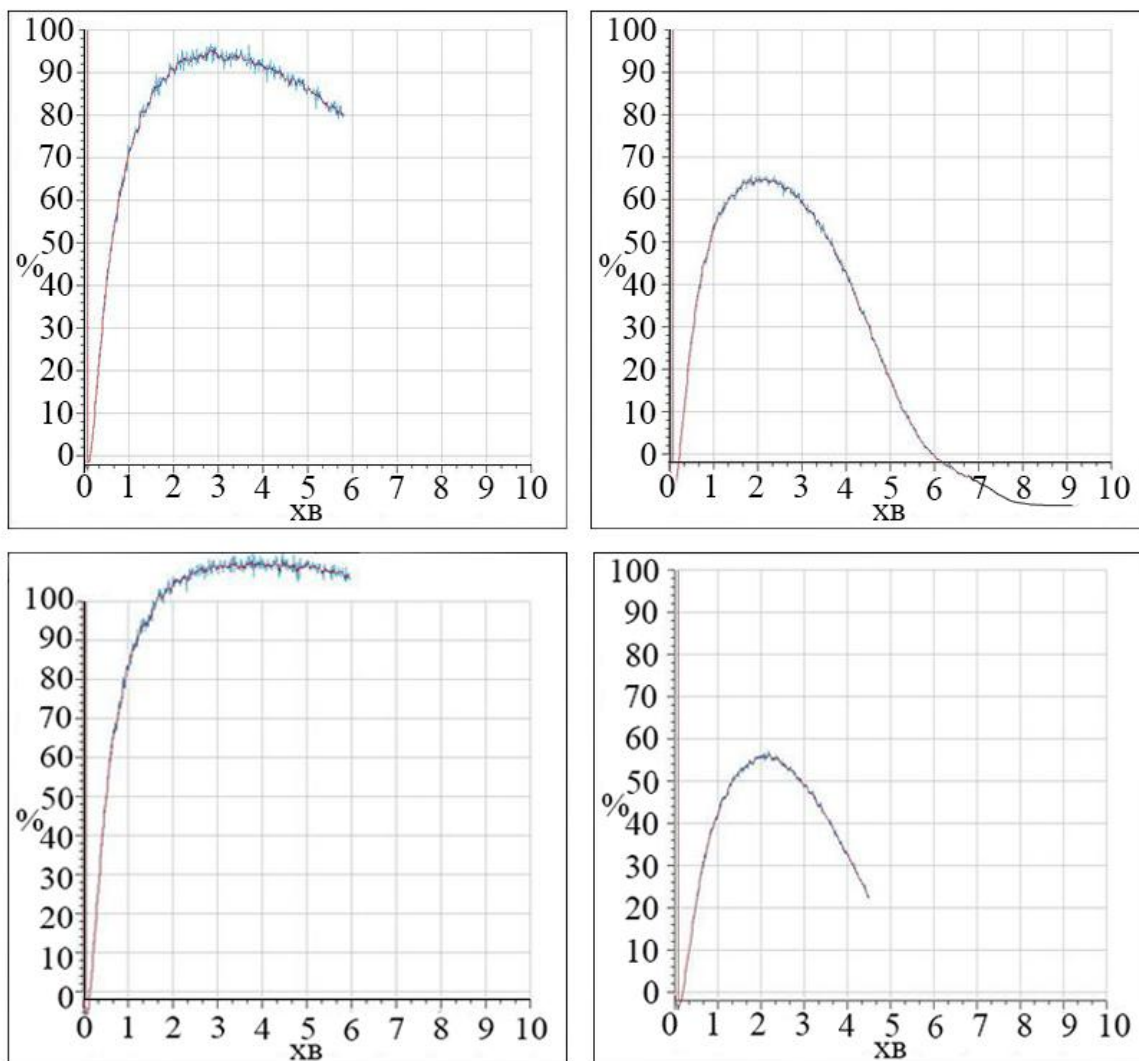


Рис. 5.1.1 – Види агрегаційних кривих у експериментальних тварин

Слід зазначити, що при дослідженні рівня ОП в сечі у щурів з глюкокортикоїдною моделлю, рівень всіх трьох фракцій ОП – сумарного, вільного та зв'язаного не відрізнявся від рівня у тварин контрольної групи. У щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням рівень вільного ОП в сечі був достовірно меншим відносно контролю ( $p < 0,05$ ), рівень сумарного і зв'язаного ОП достовірно не відрізнявся від контролю (рис.5.1.2). Зміни рівнів вільного ОП були протилежно направлені. При іммобілізаційному стресі та запаленні він зменшувався, а при дії глюкокортикоїдів зростав. Різниця між рівнями вільного ОП для цих моделей була також статистично достовірною ( $p < 0,05$ ).

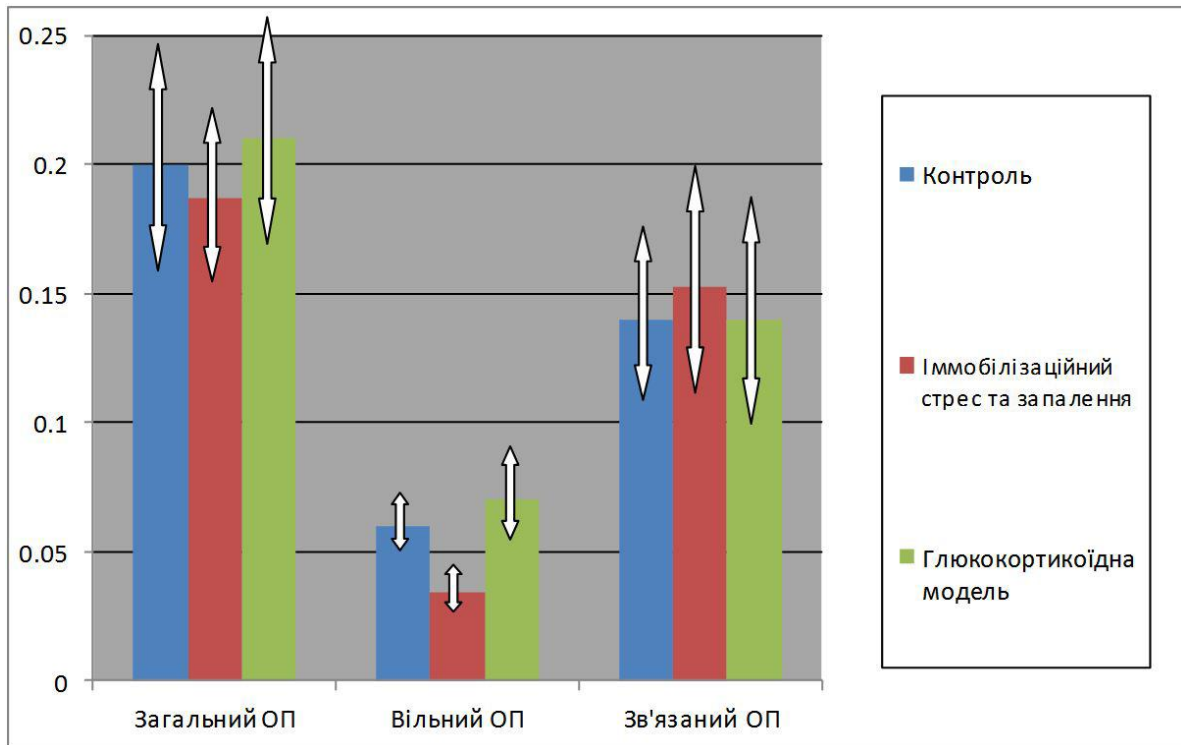
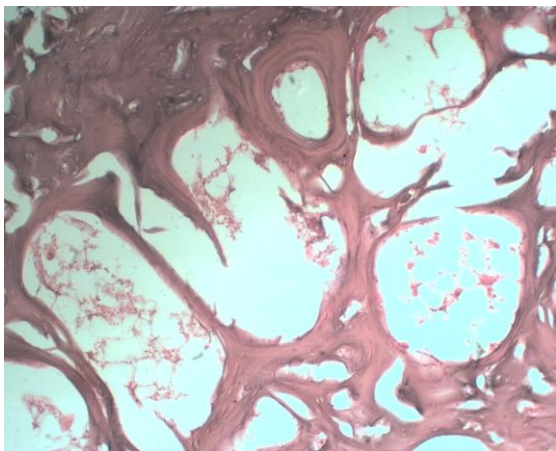
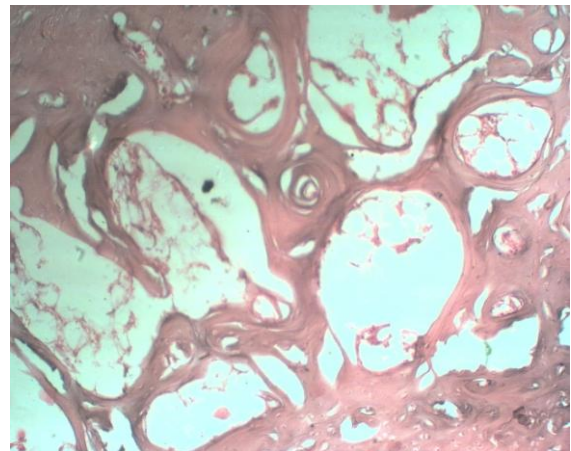


Рис. 5.1.2 – Рівень фракцій оксипроліну у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням та з глюкокортикоїдним впливом (мг/добу)

При морфологічній верифікації були виявлені деструктивні зміни в кістковій тканині експериментальних тварин з глюкокортикоїдною моделлю (рис.5.1.3 (а, б)). У групі щурів з моделлю поєднаних впливів іммобілізаційного стресу та запалення зміни кісткової тканини були менш помітні.



а)



б)

Рис. 5.1.3 – Фрагмент кістки стегна експериментального щура. Гематоксилін і еозин. Ок.10, об. 40

Таким чином, під впливом глюкокортикоїдів в СТ і тромбоцитарній ланці гемостазу експериментальних тварин відзначені первинні зміни. Оскільки, рівень ОП є відображенням метаболізму СТ [217], можливо, зниження його рівня свідчило про уповільнення обмінних процесів в СТ. Найбільше зниження концентрації спостерігалось у фракції вільного ОП, що відображало зниження процесів обміну колагену. Зменшення параметра фракції вільного ОП означало уповільнення процесів розпаду колагену СТ, ймовірно, у зв'язку з вичерпаною його кількістю. Морфологічна картина кісткової тканини підтверджує це припущення. Крім того, простежувалася тенденція зниження функціональної активності тромбоцитів під впливом глюкокортикоїдів, що підсилювалося завдяки спільності і взаємозв'язку процесів, що відбуваються в крові і СТ. Однак, чіткої картини зміни цього показника на даному етапі простежено не було. Ймовірно, поглиблення порушень може наступити на більш пізніх термінах впливу.

Незважаючи на властивість глюкокортикоїдів зменшувати агрегацію тромбоцитів, в експериментальній групі з глюкокортикоїдним впливом при низькій концентрації індуктора параметри агрегації не змінилися. При високих же концентраціях АДФ-агрегація дійсно знижувалася. Зниження рівня ОП після дії дексаметазону свідчить про уповільнення процесів синтезу та розпаду СТ в цілому і в кістковій тканині зокрема. Це зумовлено дією глюкокортикоїдів, які пригнічують активність клітин, що синтезують колаген. В результаті у щурів з глюкокортикоїдною моделлю адаптаційні резерви виявляються вичерпаними, і пошкодження починає проявлятися на системному рівні.

У групі з моделлю стресу та запалення при низькій концентрації індуктора спостерігалася тенденція до підвищення агрегації. При високих концентраціях АДФ, змін агрегації не було виявлено. Зменшення рівня вільного ОП при цьому може свідчити про уповільнення розпаду колагену.

Механізми створення обох моделей можна вважати подібними. По суті, при створенні моделі іммобілізаційного стресу та запалення у тварин також

викликалося збільшення рівня глюкокортикоїдів в організмі. Але здійснювалося це не прямим введенням речовини, а шляхом створення ситуації, що призводить до емоційного напруження і активізації функції кори надниркових залоз [494]. Величина впливу синтетичних глюкокортикоїдів із-за більшої дози виявляється більш значущою. У другій моделі стресу та запалення зміни спостерігаються не настільки глибокі, і механізми адаптивних реакцій організму справляються з дією пошкоджуючих факторів, хоча зміни рівня ОП та морфологічна картина свідчать про порушення обміну в СТ. Можливо, отримані результати є відображенням складних різноспрямованих ефектів глюкокортикоїдів, як екзо-, так і ендогенних.

## 5.2 Дослідження функціональної активності тромбоцитарної ланки гемостазу у щурів з експериментальною патологією органів панкреатодуоденальної зони та з експериментальним фіброзом печінки

Вивчення функціональної активності тромбоцитів у щурів з експериментальною гострою хірургічною патологією органів ПДЗ при концентрації індуктора агрегації 2,5 мкмоль/л з'ясувало достовірне зниження ступеня агрегації тромбоцитів у оперованих тварин порівняно з контрольними (табл. 5.2.1).

Таблиця 5.2.1

Параметри агрегації у щурів при гострій хірургічній патології органів панкреатодуоденальної зони при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/хв
Оперовані тварини	26,5±3,56 *	64,4±7,12	52,0±4,59
Контроль	48,9±10,6	67,2±3,7	65,5±13,4

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем (p<0,05)

При концентрації ж індуктору агрегації 10 мкмоль/л, навпаки, ступінь агрегації у оперованих щурів збільшувався порівняно з контролем ( $p < 0,01$ ). Крім того, скоротився час досягнення максимального ступеня агрегації, а швидкість агрегації збільшилася ( $p < 0,01$ ) (табл.5.2.2).

Таблиця 5.2.2

Параметри агрегації у щурів при гострій хірургічній патології органів панкреатодуоденальної зони при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л

Групи	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/хв
Оперовані тварини	113±3,67*	122±7,73*	164±6,08*
Контроль	87,3±10,3	270±32,3	79,5±10,4

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,01$ )

Результати вивчення агрегаційної активності тромбоцитів при моделюванні гострої хірургічної патології ПДЗ свідчать про зміни активності тромбоцитарної ланки гемостазу, що, ймовірно, обумовлено порушенням мікроциркуляції в осередку пошкодження, розвитком гострого панкреатиту та подальших деструктивно-дегенеративних порушень, які призводять до фіброзних змін тканини підшлункової залози та печінки.

Функціональну активність тромбоцитів контрольних щурів та щурів з моделлю хронічної патології ПДЗ, викликаній введенням жовчі, порівнювали спочатку при концентрації індуктору агрегації 2,5 мкмоль/л. При цьому виявилось, що ступінь агрегації у щурів із патологією був набагато нижчим, ніж у контролі. Нижчою була і швидкість агрегації. А час досягнення максимального ступеня агрегації при цьому виявився коротшим, ніж у контролі (табл. 5.2.3).



Таблиця 5.2.3

Параметри агрегації у щурів з експериментальною хронічною патологією органів ПДЗ, викликаною введенням жовчі, при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л

Групи тварин	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/хв
З експериментальною патологією	2,77±1,28*	45,3±5,46*	33,2±13,0*
Контроль	48,9±10,6	67,2 ±3.7	65,5±13,37

\*– відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

Порівняння параметрів агрегації цих груп щурів при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л показало відмінності за ступенем агрегації, який був більш низький, знов, у щурів із патологією. Також, як і при нижчій концентрації, коротшим був час досягнення максимального ступеня агрегації. Лише швидкість агрегації при даній концентрації індуктору статистично достовірно не відрізнялася від контрольної (табл. 5.2.4).

Таблиця 5.2.4

Параметри агрегації у щурів з експериментальною хронічною патологією органів ПДЗ, викликаною введенням жовчі, при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л

Групи тварин	Параметри агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/хв
1	2	3	4
З експериментальною патологією	47,4±1,2*	76,0±19,0*	78,7±8,3

## Продовження таблиці 5.2.4

1	2	3	4
Контроль	87,3±10,3	270±32,3	79,5±10,4

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

Оскільки, порушення функції тромбоцитів проявляються у вигляді підвищення деяких параметрів при одночасному зниженні інших у відповідь на дію стимуляторів агрегації, отримані дані можуть свідчити про розбалансування системи гемостазу, що може бути одним з факторів хронізації патологічного процесу. До того ж зміни тромбоцитарної ланки гемостазу призводять до порушення мікроциркуляції, що також може бути одним з механізмів його прогресування.

При цьому за допомогою морфологічної верифікації виявлено, що у підшлунковій залозі щурів з моделюванням ушкодження органів ПДЗ, патологічні зміни з'явилися, однак більш вираженими вони були у печінці (див. розділ 4, рис. 4.1.1 - 4.1.7). При морфологічному дослідженні зразків підшлункової залози встановлені незначні патологічні зміни у структурі органу: явища тканинного набряку, розширення та повнокров'я кровоносних судин, що свідчить про порушення регіонарного кровообігу.

Дослідження зразків печінки показало деструктивно-дистрофічні зміни з утворенням прошарків СТ, порушенням трабекулярного розташування гепатоцитів, їх некрозом на окремих ділянках, порушенням кровообігу.

Таким чином, моделювання хронічної патології органів ПДЗ у щурів, викликає різноспрямовані зміни функціональної активності тромбоцитів і порушення мікроструктури як підшлункової залози, так і печінки. При цьому печінка страждає раніше, ніж підшлункова залоза, і зміни у ній набувають характер фібротичних.

Отже, при моделюванні хронічної експериментальної патології органів ПДЗ відбувається порушення агрегаційної активності тромбоцитів на тлі

локалізованих змін СТ паренхіматозних органів. Достовірно підвищені рівні всіх фракцій ОП у всі терміни спостереження (див. розділ 4, табл.4.1.1), ймовірно, визначаються розвитком інтенсивного запально-деструктивного процесу в тканині печінки та підшлункової залози. Деструкція СТ внаслідок патологічного процесу з утворенням ОП та інших продуктів деградації колагену, активує фібробласти і стимулює синтез колагену і фібрилогенез, що призводить до збільшення вмісту ОП. У той же час зміни в агрегаційних властивостях тромбоцитів свідчать про значну напруженість регуляторних систем, які забезпечують регенерацію і збереження функцій даних органів.

У результаті проведених досліджень у щурів з експериментальним фіброзом печінки, викликаним інтрагастральним введенням тетрахлорметану, виявлено значне зменшення функціональної активності тромбоцитів при концентраціях індуктора агрегації 2,5 та 10 мкмоль/л, що проявлялося зменшенням максимального ступеня та швидкості агрегації, а при більшій концентрації індуктора агрегації, крім того, і часу досягнення максимального ступеня агрегації.

При дослідженні агрегатограм АДФ-індукованої агрегації у всіх тварин спостерігався однохвильовий тип кривої (рис.5.2.1, 5.2.2, 5.2.3, 5.2.4).

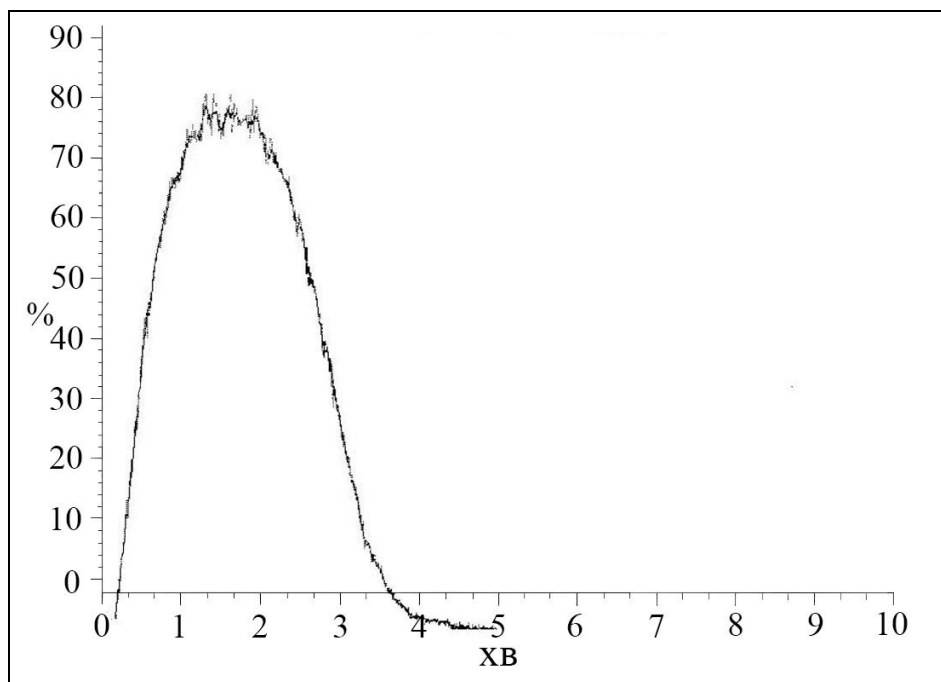


Рис. 5.2.1 – Агрегатограма здорового щура. Концентрація АДФ 2,5 мкмоль/л

На рис.5.2.1. показана типова агрегатограма здорового щура, яка характеризується високим ступенем агрегації (близько 80%), після досягнення максимуму негайно починається процес дезагрегації, який закінчується за 3,5 хвилини.

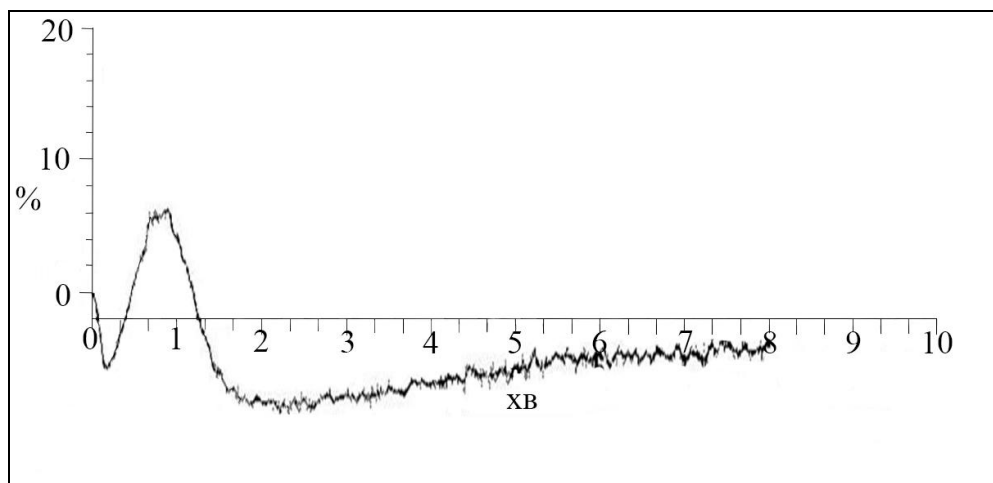


Рис. 5.2.2 – Агрегатограма щура з фіброзом, індукованим інтрагастральним введенням  $CCl_4$ . Концентрація АДФ 2,5 мкмоль/л

Агрегатограма щура з фіброзом печінки, індукованим інтрагастральним введенням тетрахлорметану, при тій же концентрації індуктора 2,5 мкмоль/л, також має однохвильовий характер, однак ступінь агрегації приблизно в 10 разів нижчий порівняно з параметрами здорового щура і процес агрегації-дезагрегації закінчується менше ніж за 1,5 хвилини (рис.5.2.2).

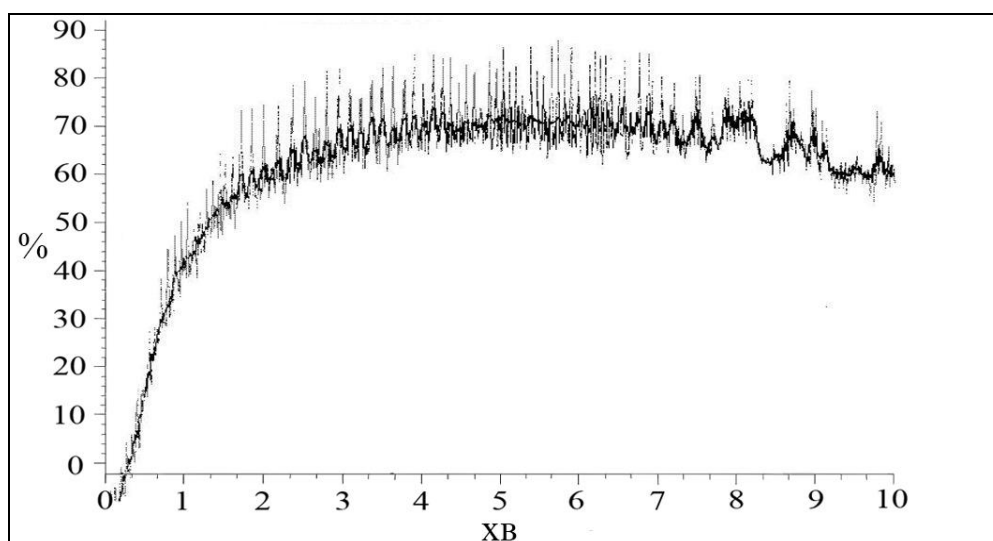


Рис. 5.2.3 – Агрегатограма здорового щура. Концентрація АДФ 10,0 мкмоль/л

У здорового щура при концентрації індуктора 10 мкмоль/л ступінь агрегації практично не відрізняється від такої при концентрації індуктора 2,5 мкмоль/л. Однак дезагрегація не спостерігається протягом більш ніж 10 хвилин (рис.5.2.3).

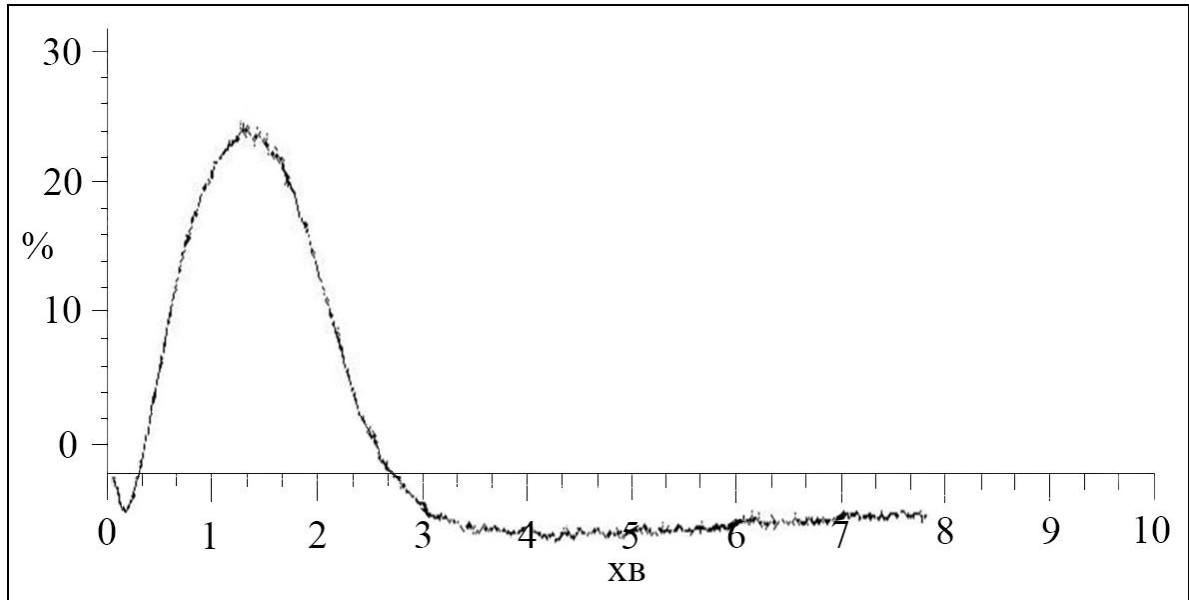


Рис. 5.2.4 – Агрегатограма щура з фіброзом, індукованим інтрагастральним введенням  $\text{CCl}_4$ . Концентрація АДФ 10,0 мкмоль/л

У щура з фіброзом печінки, індукованим інтрагастральним введенням тетрахлорметану, на відміну від інтактного щура, повна дезагрегація настає вже через 2,5 хвилини, а ступінь агрегації не перевищує 25%. Навіть при концентрації 10 мкмоль/л агрегаційна здатність тромбоцитів виявляється в 5 разів нижчою, ніж у здорового щура при концентрації індуктора 2,5 мкмоль/л, а дезагрегація настає майже на хвилину швидше (рис. 5.2.4). Таким чином, має місце надзвичайно сильне зниження агрегаційної здатності тромбоцитів, що свідчить про значне порушення тромбоцитарної ланки гемостазу.

Зниження ступеня агрегації тромбоцитів і швидкості агрегації порівняно з контролем спостерігалось при концентрації індуктора 2,5 мкмоль/л у групі щурів з експериментальним фіброзом. Час досягнення

максимального ступеня агрегації тромбоцитів при цьому не відрізнявся від контролю (табл.5.2.5).

Таблиця 5.2.5

Параметри агрегації у щурів з експериментальним фіброзом печінки при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л

Групи тварин	Параметри агрегації			
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/хв	Кількість тромбоцитів, тис/мкл
З експериментальним фіброзом	6,55±0,35*	60,5±4,03	22,5±1,19*	243,2±3,69
Контроль	48,9±10,6	67,2 ±3,7	65,5±13,37	237±3,41

\*– відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

При дослідженні параметрів агрегації при концентрації індуктору 10,0 мкмоль/л було виявлено достовірне зниження ступеня агрегації тромбоцитів і швидкості агрегації у щурів із фіброзом печінки порівняно з контрольними тваринами (табл.5.2.6), однак вже не такі значні, як при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л. Час досягнення максимального ступеня агрегації тромбоцитів був коротше, ніж у контролі.

Слід відзначити, що в одного щура експериментальної групи набув розвитку асцит, і параметри агрегації тромбоцитів у нього були ще нижчими, ніж у всіх тварин експериментальної групи.

Можна припустити, що в результаті постійного впливу тетрахлорметану у щурів стався зрив регуляторних механізмів репаративної регенерації і вихід патологічного процесу на системний рівень. Свою роль у цих процесах відіграли взаємодії клітин СТ з тромбоцитами, що могло знайти відображення в досліджуваних процесах агрегації.

Таблиця 5.2.6

Зміни параметрів агрегації у щурів з експериментальним фіброзом печінки при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л

Групи тварин	Параметри агрегації			
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимального ступеня агрегації, сек	Швидкість агрегації, %/хв	Кількість тромбоцитів, тис/мкл
З експериментальним фіброзом	24,9±1,55*	76,3±6,87*	33,3±1,74*	252±8,14
Контроль	87,3±10,27	270±32,3	79,5±10,4	226±10,1

\*– відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

При запально-репаративній реакції розгортаються процеси, у яких приймають участь різні популяції клітин і на різних етапах запалення регуляція розвитку подальших подій послідовно переходить від однієї до іншої популяції клітин [103, 247]. СТ у процесі розвитку індукованої  $CCl_4$  запально-репаративної реакції, що завершилася фіброзом, взаємодіяла з різними клітинами, у числі яких були й тромбоцити.

Тривалий безперервний вплив зовнішніх та внутрішніх факторів привів до виникнення дифузних ушкоджень паренхіми, перманентних дистрофічних процесів, розладів кровообігу, хронічного запалення, що пізніше призвело до руйнування функціональних елементів та дезінтеграції паренхіматозно-стромальних взаємодій. Утворення осередку запалення в результаті токсичного впливу пошкоджуючого фактору спочатку ініціювало посилення агрегації тромбоцитів, вивільнення при їх дегрануляції факторів, які роблять свій внесок до активації зірчастих клітин та порушення балансу синтезу і катаболізму колагену. Крім того, при запаленні порушується і баланс функціонування згортаючої і протизгортаючої систем, що у свою чергу

призводить до порушення мікроциркуляції та посилює запальні явища. Відкладення фібрину у судинах веде до мікроциркуляторних порушень, подальшого ушкодження печінкової паренхіми та порушення її гемостатичної функції.

Виявлені порушення агрегаційної функції тромбоцитів можуть пояснюватися декількома причинами. Так, однією з функцій паренхіми печінки є синтез фібриногену, який приймає участь у процесах первинної, оборотної агрегації. Фібриноген пов'язується зі своїми рецепторами у мембрані тромбоцитів – глікопротеїдами ІІВ/ІІІа і таким чином відбувається зв'язування активованих тромбоцитів [35]. Заміщення спеціалізованої тканини сполучною знижує кількість синтезованого фібриногену і при нестачі фібриногену плазми і тромбоцитів послаблюється утворення мікроагрегатів, оборотних агрегатів, отже і необоротна агрегація. Також використаний індуктор агрегації АДФ стимулює інгібування цАМФ та секрецію АДФ. Однак, при фіброзуванні і склерозуванні печінки рівень циклічних нуклеотидів у тромбоцитах виявляється підвищеним, що знижує їх агрегаційну активність [546].

Таким чином, у щурів при дії тетрахлорметану розвивається запально-репаративна реакція, направлена на нейтралізацію та знищення патогенного агенту і ліквідацію викликаних пошкоджень. Однак, в результаті постійної дії пошкоджуючого фактора захисні ресурси організму виснажуються, відбувається збій регуляції регенерації, і захисна реакція викривлюється. Взаємодії клітин СТ з тромбоцитами виявляються залученими до процесів зриву регуляторних механізмів і виходу патологічного процесу на системний рівень, вносячи в них свій внесок.

Аналізуючи вищесказане, можна припустити, що в умовах експерименту відбулися патологічні зміни, що на місцевому рівні виявляються у деструктивно-дистрофічних змінах фібротичного характеру у печінці і порушенні регіонарного кровообігу органів ПДЗ. При цьому спостерігаються морфологічні зміни у стані СТ паренхіматозних органів,



одним з важливих механізмів розвитку яких є порушення тромбоцитарної ланки гемостазу. Ймовірно, мають місце два шляхи їх розвитку: по-перше – порушення регіонарного кровотоку, по-друге – регуляторні порушення на рівні міжклітинних медіаторів, що виробляються тромбоцитами (наприклад, тромбоцитарні фактори росту). Зниження функціональної активності тромбоцитів при моделюванні хронічної патології органів ПДЗ відображає порушення реакції вивільнення тромбоцитарних факторів, що, в свою чергу, призводить до порушень обміну та регуляторних механізмів ремоделювання СТ.

## РОЗДІЛ 6

### ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СИСТЕМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ГОСТРІЙ ПАТОЛОГІЇ ПАРЕНХІМАТОЗНИХ ОРГАНІВ

Відомо, що реакція СТ лежить в основі загальнопатологічних процесів: запалення, регенерації та склерозу, формуючи таким чином розвиток стереотипної реакції організму на пошкодження і резерви адаптації. Всі ці процеси є базовими для гострої хірургічної патології, визначають поточний і віддалений прогноз. Вивчення стану та реакції СТ у хворих з наявністю обструктивних патологічних процесів сечовивідних шляхів та органів ПДЗ представляється особливо актуальним з точки зору: 1) оцінки резервів адаптації організму в цілому; 2) оцінки здатності до адекватної замісної регенерації (загоєння ран); 3) оцінки вираженості склеротичних змін в паренхіматозних органах (нирках, печінці, підшлунковій залозі), що мають місце на момент розвитку гострої хірургічної патології.

#### **6.1 Дослідження показників стану сполучної тканини та її реакції на пошкодження в умовах гідронефротичної трансформації нирок**

##### **6.1.1. Особливості цитокінового профілю у хворих на гідронефроз, що потребують оперативного втручання**

Однією з досить частих причин розвитку хронічної патології нирок є гідронефротична трансформація, викликана стриктурою сечоводу і мисково-сечовідного сегменту (МСС) [529]. Тривало існуюча обструкція верхніх сечовивідних шляхів веде до порушення функціонального стану нирок, і в кінцевому підсумку, до розвитку ХНН, морфологічним еквівалентом якої є нефросклероз. Незважаючи на значні успіхи в удосконаленні техніки хірургічних втручань, кількість рецидивів стриктур залишається достатньо високою (15-18 %) [526]. Захворювання часто протікає безсимптомно,

приводячи до виражених структурно-функціональних змін ниркової паренхіми, коли органозберігаюча операція вже неефективна. На відміну від початкових стадій захворювання, коли органозберігаючий підхід є загальноприйнятим, при «старому» гідронефрозі, досі, як правило, виконується нефректомія. Досить високий відсоток нефректомії з подальшою інвалідизацією хворих багато в чому обумовлений відсутністю єдиного підходу до оцінки структурно-функціонального стану нирок при вираженій дилатації чашково-мискової системи і, що дуже важливо, критеріїв оборотності змін, що відбулися, і ризику рецидивування [487, 545].

В основі розвитку нефросклерозу і рубцевих змін, що ведуть до рецидиву стриктури, лежить реакція СТ, порушення динамічної рівноваги її тканинної системи і неадекватність репаративної регенерації. У відповідь на механічне пошкодження клітини виробляють комплекс вазоактивних, про- та протизапальних, просклеротичних і проапоптозних медіаторів, дисбаланс яких обумовлює розвиток фіброзу в пошкоджених тканинах [496].

При вивченні показників цитокінового статусу у хворих на гідронефроз на 21-й день після операції встановлено наступне (табл. 6.1.1.1).

Таблиця 6.1.1.1

Вміст цитокінів у сироватці крові хворих на гідронефроз II-III стадій залежно від етіології та перебігу

Досліджувані групи	1 група	2 група	3 група	4 група	Контрольна група
1	2	3	4	5	6
IL-4	1,57±0,21 2, 3, 4, 5	0,84±0,13 1, 3, 4, 5	2,16±0,36 1, 2, 5	2,12±0,23 1, 2, 5	1,21±0,12
IL-6	5,64±0,68 2, 4, 5	13,3±1,39 1, 3, 4, 5	4,86±0,70 2, 4, 5	9,65±0,66 1, 2, 3, 5	3,62±0,35
TNF-α	1,45±0,17 2, 4, 5	2,11±0,25 1, 3, 5	1,25±0,13 2, 4	1,95±0,27 1, 3, 5	1,11±0,09
IL-10	7,90±1,00 2, 4, 5	19,1±2,41 1, 3, 5	6,77±1,17 2, 4	14,9±2,08 1, 3, 5	4,81±0,43
IL-17	1,68±0,12 2, 4	2,56±0,33 1, 5	2,19±0,30	3,04±0,38 1, 5	1,70±0,18

## Продовження таблиці 6.1.1.1

1	2	3	4	5	6
TNF- $\alpha$ /IL-10	0,34 $\pm$ 0,02 2, 4, 5	0,13 $\pm$ 0,01 1, 3, 5	0,39 $\pm$ 0,07 2, 4, 5	0,13 $\pm$ 0,01 1, 3, 5	0,24 $\pm$ 0,02

Вміст виражений в пкг/мл; <sup>1</sup> – відмінності достовірні відносно показника 1 групи; <sup>2</sup> – відмінності достовірні відносно показника 2 групи; <sup>3</sup> – відмінності достовірні відносно показника 3 групи; <sup>4</sup> – відмінності достовірні відносно показника 4 групи; <sup>5</sup> – відмінності достовірні відносно показника контрольної групи (p<0,05)

Рівень IL-4 достовірно підвищувався порівняно з контрольною групою в крові хворих 1, 3 та 4 груп. У хворих 2 групи з вродженою патологією і наявністю рецидивів, рівень IL-4 достовірно знижувався і був нижчим за норму в 1,4 раза. Наднизький рівень IL-4 у хворих з вродженим гідронефрозом та рецидивним перебігом може свідчити не тільки про зниження протизапального захисту [44], але і про генетично детерміноване зниження протективної функції регуляторних імунних клітин при пошкодженні ниркової тканини. У механізмах прогресування захворювань нирок добре відома роль макрофагів, однак макрофаги, що відносяться до "альтернативного" фенотипу - M2, мають протективне значення, беручи участь у процесі репарації ниркової тканини після пошкодження. Одним з активаторів макрофагів по альтернативному шляху є IL-4. Можна припустити, що наднизький рівень IL-4 у хворих 2 групи є наслідком наявності імуносупресивного фенотипу, який визначає результат запального процесу і репарації, а при зриві адаптаційних механізмів є базою для виникнення підвищеної схильності до рецидивів. Окрім того, IL-4 індукує активацію і проліферацію фібробластів і продукції ними цитокінів [291, 359]. Виявлені зміни дозволяють зробити висновок про те, що значне зниження рівня цього цитокіну можна розглядати як один з факторів ризику

розвитку рецидиву та прогресування фіброзно-склеротичних змін у нирковій тканині.

Рівень ІЛ-6 порівняно з контролем був достовірно підвищеним у хворих усіх груп, найбільш значно у хворих 2 групи (перевищував норму в 3,7 раза). При порівнянні даних рівня ІЛ-6 поміж групами виявилось, що його рівень у хворих 2 і 4 груп був достовірно вищим, ніж у хворих 1 групи, а у хворих 1, 3, і 4 груп достовірно нижчим, ніж у групі 2. Показники 2 і 4 груп достовірно перевищували такі в групі 3. У хворих 4 групи рівень ІЛ-6 був достовірно нижчим, ніж у групі 2 і вищим, ніж у хворих 1 та 3 груп і перевищував норму в 2,7 раза.

Оскільки найбільш високий рівень ІЛ-6 був виявлений у хворих 2 групи (з вродженою патологією), можна припустити, що в даному випадку наявна активація імунної системи не призводить до повної санації залученої у хронічний запальний процес нирки, що може бути пов'язано з низькоімуногенними властивостями етіологічного фактора і його здатністю «вислизати» з-під контролю імунної системи. У той же час, як при наявності, так і при відсутності бактеріального фактору, пошкоджені клітини уроепітелія і ниркового інтерстиція продовжують синтезувати значні кількості прозапального ІЛ-6, активності якого не в змозі протистояти протизапальний ІЛ-4. Цей процес закономірно веде до посиленої міграції в нирковий інтерстицій активованих моноцитів, які опосередковано (через ІЛ-4,  $\text{INF}\gamma$ ,  $\text{TGF-}\beta 1$ ), або безпосередньо, сприяють трансформації фібробластів в міофібробласти з подальшим приростом синтезу ПКМ, колагену та активізацією фіброгенезу. У свою чергу ІЛ-6 має профіброгенні властивості, він підвищує синтез фібробластами колагену, ГАГ і тканинного інгібітору ММП-1 [28].

Рівень  $\text{TNF-}\alpha$  достовірно підвищувався у хворих 1, 2 і 4 груп. При порівнянні даних рівня  $\text{TNF-}\alpha$  поміж групами виявилось, що найбільш значні зміни його рівня спостерігалися у хворих 2 групи, у яких рівень цього цитокіну перевищував норму в 1,9 раза і був достовірно вищим, ніж у хворих

1 і 3 груп. 2 і 4 групи характеризувалися достовірно більш високим рівнем TNF- $\alpha$  порівняно з 3 групою, а у хворих 1 групи рівень TNF- $\alpha$  був достовірно нижчим порівняно з таким у 4 групі.

Оцінюючи вплив TNF- $\alpha$  на розвиток патологічного процесу, слід враховувати, що TNF- $\alpha$ , будучи прозапальним медіатором, ініціює міграцію клітин крові в осередок пошкодження, стимулює кисневий метаболізм і фагоцитоз, сприяючи санації поверхні рани від гнійно-некротичних мас і прискоренню настання фази регенерації. З іншого боку, TNF- $\alpha$  бере участь у регуляції ремоделювання СТ, активує проліферацію фібробластів і продукцію профіброгенних факторів (IL-1 $\beta$ , фактора росту фібробластів (FGF), компонентів ПКМ (колагену і фібронектину) [358]. У той же час, TNF- $\alpha$  стимулює секрецію ММП (зокрема колагенази, стромелізина, желатинази), знижує синтез їх тканинних інгібіторів, беручи участь в механізмах пригнічення надмірного розростання СТ, надаючи за механізмом зворотного зв'язку прямий супресорний вплив на експресію індуктора фіброзу TGF- $\beta$ 1, накопичення якого сприяє швидкому розвитку фібропластичних процесів [25, 119]. Враховуючи, що найбільш високі рівні цього цитокіну, виявлені у хворих з наявністю рецидивів (2 і 4 групи), можна припустити, що тривала зміна продукції TNF- $\alpha$  також є одним з факторів ризику у даних хворих.

Рівень протизапального IL-10 був достовірно підвищений у хворих 1, 2 і 4 груп. Найвищі значення спостерігалися у хворих 2 і 4 груп (з рецидивним перебігом гідронефрозу) і перевищували значення в контрольній групі в 4 і 3,1 раза відповідно. При порівнянні даних рівня IL-10 поміж групами встановлено, що у хворих 2 групи його рівень був достовірно вищим, ніж у хворих 1 та 3 груп, а у хворих 1 та 3 груп нижчим, ніж у 4 групі.

IL-10 є універсальним інгібітором прозапальних цитокінів (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), колонієстимулюючих факторів і простагландину E2 [516]. Отже, підвищення сироваткового рівня IL-10 можна вважати захисною реакцією, яка спостерігається у хворих у відповідь на пошкодження. В той же час відомо, що при надлишку IL-10 проявляє себе як прозапальний фактор,

веде до зниження протиінфекційного захисту і розвитку хронічних інфекцій [22, 245]. Враховуючи, що найбільш виражена гіперпродукція цього цитокіну виявлена у хворих з рецидивним перебігом гідронефрозу, цей показник можна розглядати як додаткову ознаку ризику хронізації процесу.

Рівень ІЛ-17 достовірно підвищувався порівняно з контролем у хворих 2 і 4 груп і був вищим, ніж у хворих 1 і 3 груп. Треба зауважити, що рівень ІЛ-17 у хворих 3 групи хоча і був нижчим за такий у 2 і 4 групах, але різниця не була статистично значущою. При цьому відмінностей між 2 і 4 групами виявлено не було, а у пацієнтів 1 і 3 груп вміст ІЛ-17 не відрізнявся від показників контрольної групи. Таким чином, при дослідженні рівня ІЛ-17 встановлені суттєві відмінності між групами з рецидивним і безрецидивним перебігом хвороби. Отже, визначення рівня ІЛ-17 у сироватці крові дозволяє виявити групу хворих з високим ризиком розвитку віддалених рецидивів гідронефротичної трансформації і несприятливим варіантом перебігу захворювання.

Крім того, будучи прямим індуктором фібробластів [176], ІЛ-17 індукує експресію RANKL фібробластами та остеобластами, приводячи до секреції остеокластогенних факторів, таких як TNF- $\alpha$  та ІЛ-6 [166]. Ця Th17-опосередкована індукція остеокластогенезу може представляти важливий клітинний механізм у патогенезі захворювання і свідчити про залучення ФССТ в розвиток патологічного процесу у хворих з високим ризиком рецидивування.

Виявлені різноспрямовані коливання продукції цитокінів у хворих 2 і 4 груп (різке зниження рівня ІЛ-4 на тлі підвищення рівня ІЛ-6), ймовірно, свідчать про дисбаланс імунної відповіді і залученість ФССТ у розвиток патологічного процесу у хворих з рецидивним характером перебігу захворювання. Слід також враховувати, що у розвитку патологічного стану ФССТ задіяно декілька шляхів активації про- і протизапальних процесів. Відомо, що ІЛ-4 та ІЛ-6 стимулюють синтез проколагену і фібронектину фібробластами, а активовані фібробласти здатні синтезувати ІЛ-6 [95], а

однією з функцій IL-4 є балансування імунної відповіді та запуск диференціювання Th0, Th2 та інших клітин, переключення синтезу колагену на синтез дозрілого колагену [167]. У нормі підвищений викид фібробластами IL-6 відбувається лише на ранніх етапах запалення, формування рубця і супроводжується утворенням «тимчасових» жорстких структур колагену [28]. Можна припустити, що порушення балансу цих міжклітинних медіаторів веде до недосконалої репарації через розвиток грануляційної СТ з формуванням на місці пошкодження сполучнотканинного рубця. Неадекватний розвиток рубця призводить до рецидиву захворювання і визначає подальший характер перебігу патологічного процесу. Отже, виявлені зміни динаміки продукції досліджуваних цитокінів можна вважати прогностичними маркерами склеротичних змін при гідронефрозі.

Для об'єктивної оцінки активності запальної реакції розраховували співвідношення TNF- $\alpha$  і IL-10. Встановлено, що співвідношення показників TNF- $\alpha$ /IL-10 було достовірно вищим за контроль у хворих 1 і 3 груп та достовірно нижчим у хворих 2 і 4 груп. При порівнянні груп поміж собою виявлено, що активність запальної відповіді була вищою у пацієнтів з безрецидивним перебігом хвороби: співвідношення TNF- $\alpha$ /IL-10 в 1 та 3 групах було достовірно вищим за контроль (у 1,4 і 1,6 раза відповідно) і вищим, ніж у хворих 2 і 4 груп. Відсутність адекватної запальної відповіді у хворих 2 і 4 груп свідчить про недостатність фізіологічних функцій, що забезпечують рівновагу міжклітинних медіаторів, і, ймовірно, сприяє пролонгації запалення та його хронізації, що багато в чому залежить від здатності клітин до високої продукції цитокінів.

Таким чином, у хворих з гідронефротичною трансформацією спостерігається дисбаланс цитокинового профілю. Значна роль у розвитку рецидивів і склерозуванні ниркової паренхіми належить порушенню продукції цитокінів, які стимулюють розвиток запальних реакцій, надаючи пара- або аутокринну шкідливу дію на клітини клубочка, каналців і ендотелію ниркових капілярів і активацію фіброгенезу. Отримані дані



необхідно враховувати при визначенні тактики ведення пацієнтів з гідронефрозом з позицій сучасних уявлень про патогенез захворювання і, що особливо важливо, при визначенні прогнозу віддалених результатів лікування. Найбільш виражені зміни виявлені у хворих з вродженою патологією сечовивідних шляхів, що не тільки свідчить про переважання процесів запалення, а й вказує на високу активність процесів фіброгенезу. Найбільш інформативним критерієм оцінки ризику рецидивування є відношення  $TNF-\alpha/IL-10$ , рівні  $IL-17$  і  $IL-4$  можуть бути використані в якості додаткових методів, в тому числі для визначення спадкового характеру порушень цитокінової системи регуляції фібриногенезу.

При дослідженні вмісту RANKL, OPG,  $IL-1RA$ ,  $TGF-\beta 1$ ,  $IL-17$ , адипонектину та вісфатину в сироватці крові хворих до та після оперативного втручання виявлено наступне.

Медіана вмісту RANKL у сироватці хворих на гідронефроз до операції складала 0,18 (0,08; 0,38) пмоль/л (рис. 6.1.1.1). Медіана вмісту RANKL у сироватці у хворих на гідронефроз після операції складала 0,14 (0,05; 0,36) пмоль/л (рис. 6.1.1.1).



Рис. 6.1.1.1 – Медіани рівнів RANKL у хворих на гідронефроз

Середній рівень RANKL у хворих на гідронефроз після операції не відрізнявся від рівня RANKL контрольної групи та рівня RANKL до операції (табл. 6.1.1.2), (рис. 6.1.1.2).

Таблиця 6.1.1.2

Значення середніх рівнів RANKL у хворих на гідронефроз

Групи	RANKL, пмоль/л
Контроль	0,21±0,02
До операції	0,23±0,03
Після операції	0,20±0,03

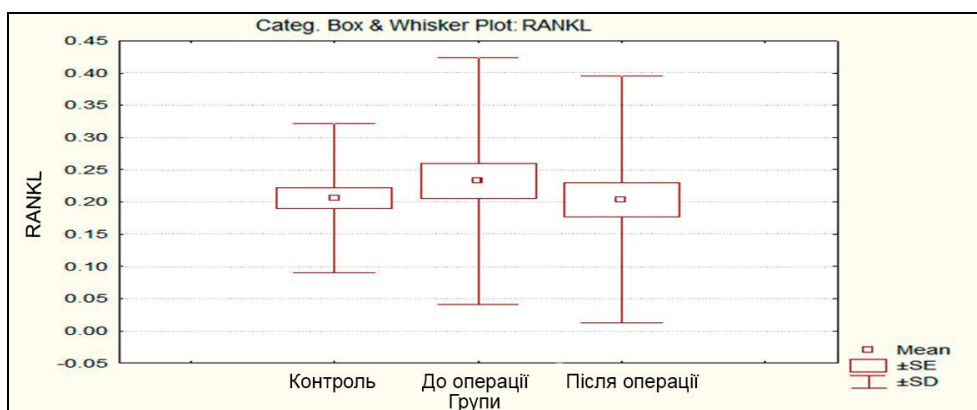


Рис. 6.1.1.2 – Середні рівні вмісту RANKL у хворих на гідронефроз до та після операції

На рис.6.1.1.3 зображено, наскільки вибірки відхилюються від нормального розподілу.

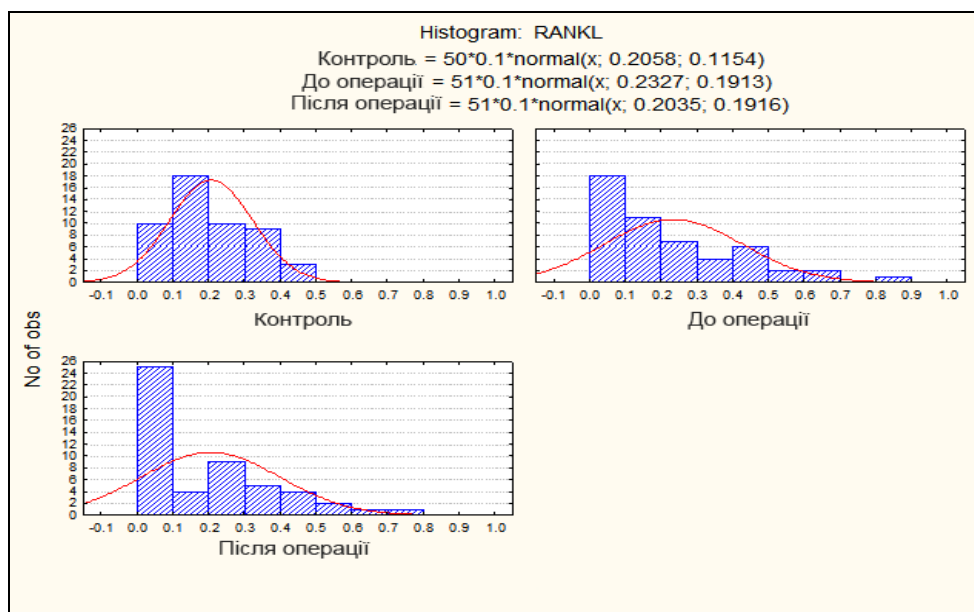


Рис. 6.1.1.3 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту RANKL у хворих на гідронефроз до та після операції

Медіана вмісту OPG у хворих на гідронефроз до операції складала 49,5 (32,5; 65,2) пг/мл (рис. 6.1.1.4). Після операції медіана вмісту OPG стала вищою – 56,3 (42,9; 69,4) пг/мл (рис. 6.1.1.4).

Середній рівень OPG у хворих на гідронефроз до операції був нижчим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Після операції рівень OPG підвищився порівняно з доопераційним періодом ( $p < 0,05$ ) і став таким як у контрольній групі (табл. 6.1.1.3), (рис. 6.1.1.5).

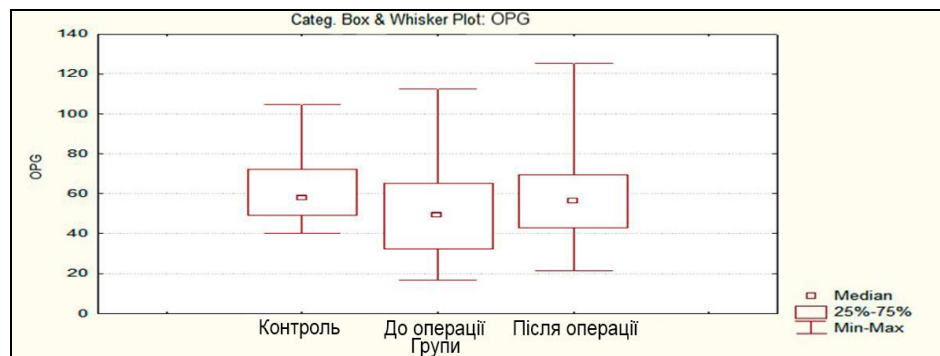


Рис. 6.1.1.4 – Медіани рівнів OPG у хворих на гідронефроз

Таблиця 6.1.1.3

Значення середніх рівнів OPG у хворих на гідронефроз до та після операції

Групи	OPG, пг/мл
Контроль	62,9±2,46*
До операції	51,3±3,28
Після операції	61,4±4,08*

\* – відмінності достовірні порівняно з групою хворих на гідронефроз до операції ( $p < 0,05$ )

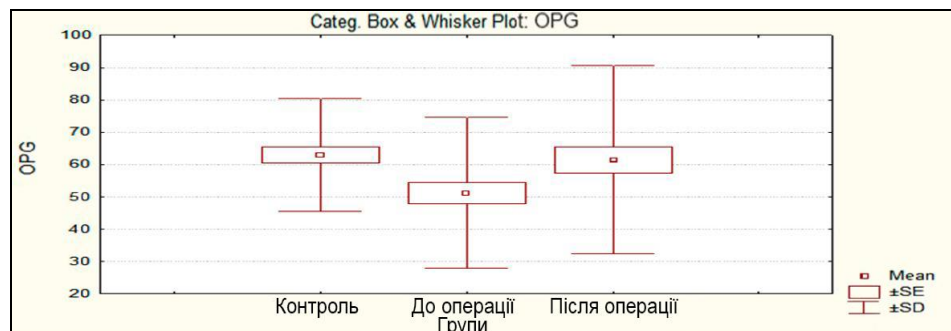


Рис. 6.1.1.5 – Середні рівні вмісту OPG у хворих на гідронефроз до та після операції

Рис. 6.1.1.6 ілюструє розподіл значень у вибірках при дослідженні вмісту OPG.

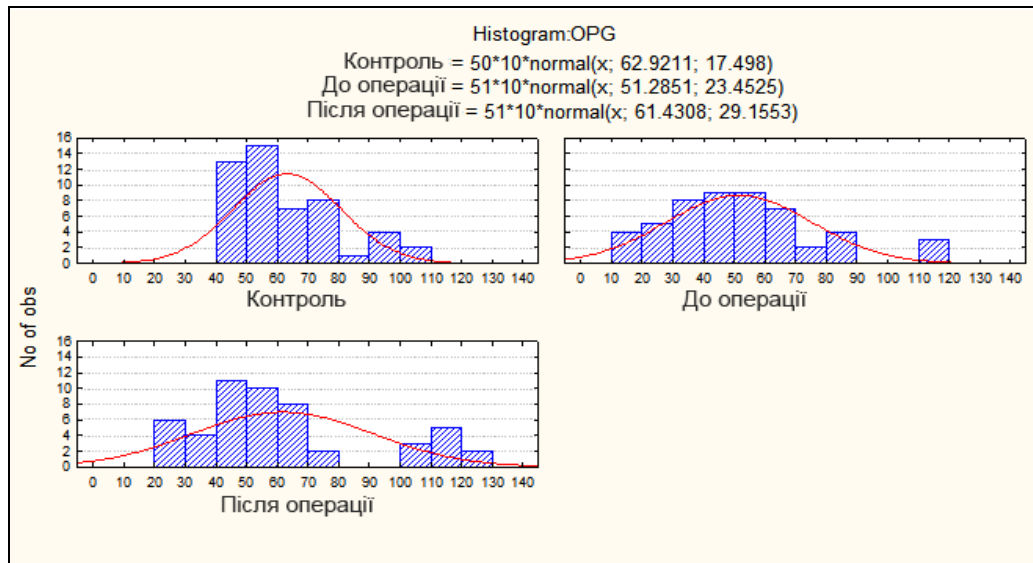


Рис. 6.1.1.6 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту OPG у хворих на гідронефроз до та після операції

Медіана вмісту IL-1RA у сироватці хворих на гідронефроз до операції складала 92,3 (78,1; 123) пг/мл (рис.6.1.1.7). Медіана вмісту IL-1RA у сироватці у хворих на гідронефроз після операції складала 255 (187; 339) пг/мл (рис.6.1.1.7).

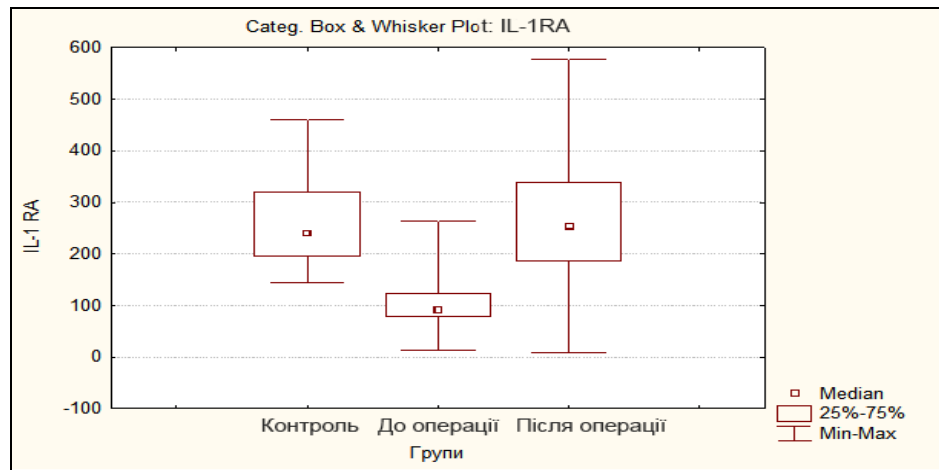


Рис. 6.1.1.7 – Медіани рівнів IL-1RA у хворих на гідронефроз

Середній рівень IL-1 RA у хворих на гідронефроз до операції був нижчим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Після операції рівень IL-1RA підвищився порівняно з доопераційним періодом ( $p < 0,05$ ) і став таким як у контрольної групи (табл.6.1.1.4), (рис.6.1.1.8).

Таблиця 6.1.1.4

Значення середніх рівнів ІЛ-1РА у хворих на гідронефроз до та після операції

Групи	ІЛ-1РА, пг/мл
Контроль	264±12,3*
До операції	111±8,7
Після операції	280±21,2*

\* – відмінності достовірні порівняно з групою хворих на гідронефроз до операції ( $p < 0,05$ )

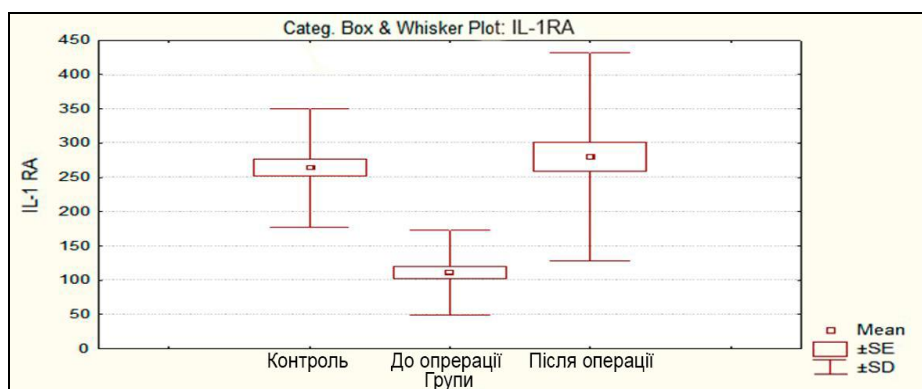


Рис. 6.1.1.8 – Середні рівні вмісту ІЛ-1РА у хворих на гідронефроз до та після операції

Рис. 6.1.1.9 ілюструє розподіл значень у вибірках при дослідженні вмісту ІЛ-1РА у хворих на гідронефроз до та після операції.

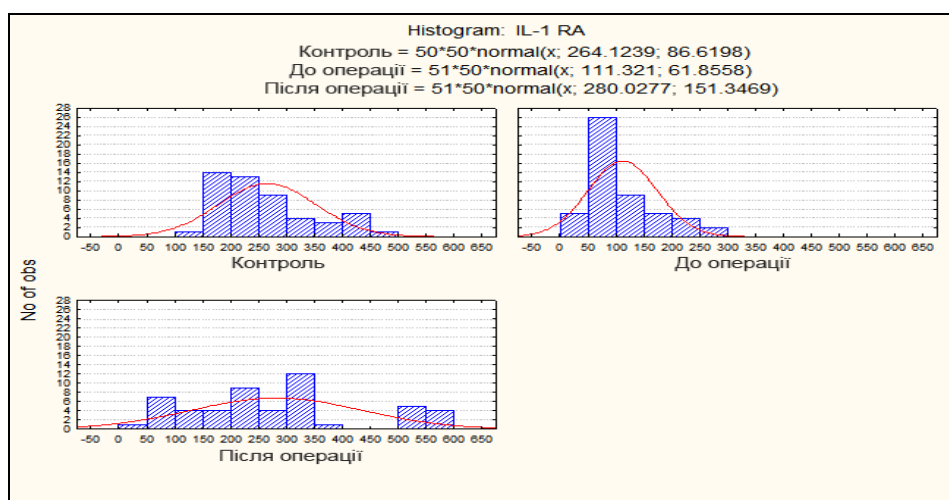


Рис. 6.1.1.9 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту ІЛ-1РА у хворих на гідронефроз до та після операції

Медіана вмісту TGF- $\beta$ 1 у сироватці у хворих на гідронефроз до операції складала 16,4 (14,6; 18,6) нг/мл (рис. 6.1.1.10). Медіана вмісту TGF- $\beta$ 1 у сироватці у хворих на гідронефроз після операції складала 16,7 (15,2; 18,2) нг/мл (рис. 6.1.1.10).

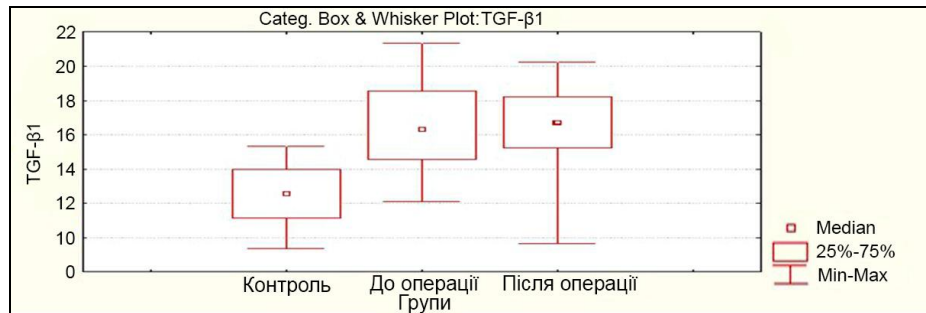


Рис. 6.1.1.10 – Медіани рівнів TGF- $\beta$ 1 у хворих на гідронефроз

Середні рівні TGF- $\beta$ 1 у хворих на гідронефроз до та після операції були вищими, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Після операції рівень TGF- $\beta$ 1 не відрізнявся від доопераційного рівня (табл. 6.1.1.5), (рис. 6.1.1.11).

Таблиця 6.1.1.5

Значення середніх рівнів TGF- $\beta$ 1 у хворих на гідронефроз до та після операції

Групи	TGF- $\beta$ 1, нг/мл
Контроль	12,6 $\pm$ 0,25
До операції	16,5 $\pm$ 0,33*
Після операції	16,3 $\pm$ 0,35*

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

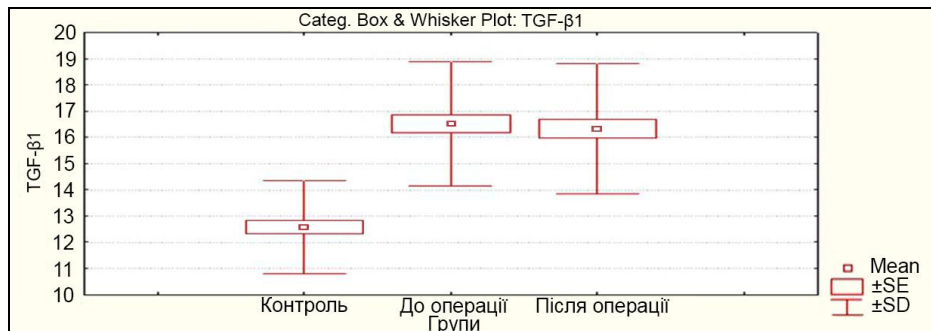


Рис. 6.1.1.11 – Середні рівні вмісту TGF- $\beta$ 1 у хворих на гідронефроз до та після операції

Рис. 6.1.1.12 ілюструє розподіл значень у вибірках при дослідженні вмісту TGF- $\beta$ 1 у хворих на гідронефроз до та після операції.

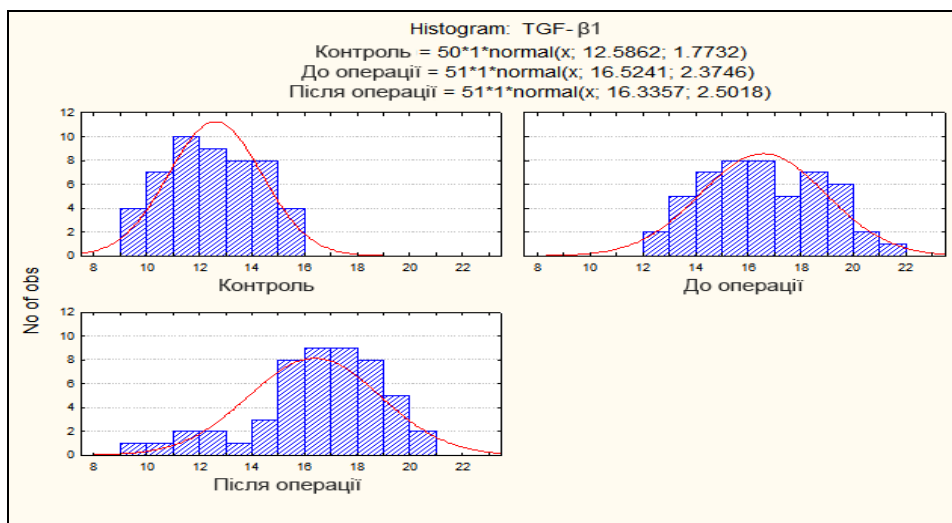


Рис. 6.1.1.12 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту TGF- $\beta$ 1 у хворих на гідронефроз до та після операції

Вміст адипонектину у хворих на гідронефроз характеризувався наступними показниками. Медіана вмісту адипонектину у хворих на гідронефроз до операції складала 16,5 (6,42; 18,15) мкг/мл (рис. 6.1.1.13). Медіана вмісту адипонектину у хворих на гідронефроз після операції складала 15,8 (6,61; 18,1) мкг/мл (рис. 6.1.1.13).

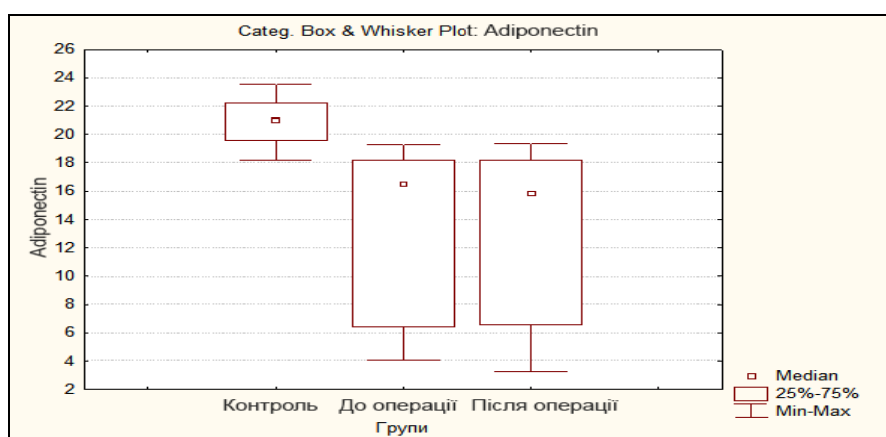


Рис. 6.1.1.13 – Медіани рівнів адипонектину у хворих на гідронефроз

Середні рівні адипонектину у хворих на гідронефроз до та після операції були нижчими, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Після операції рівень адипонектину не відрізнявся від доопераційного рівня (табл.6.1.1.6), (рис.6.1.1.14).

Таблиця 6.1.1.6

Значення середніх рівнів адипонектину у хворих на гідронефроз до та після операції

Групи	Адипонектин, мкг/мл
Контроль	20,9±0,22
До операції	13,1±0,83*
Після операції	12,8±0,79*

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

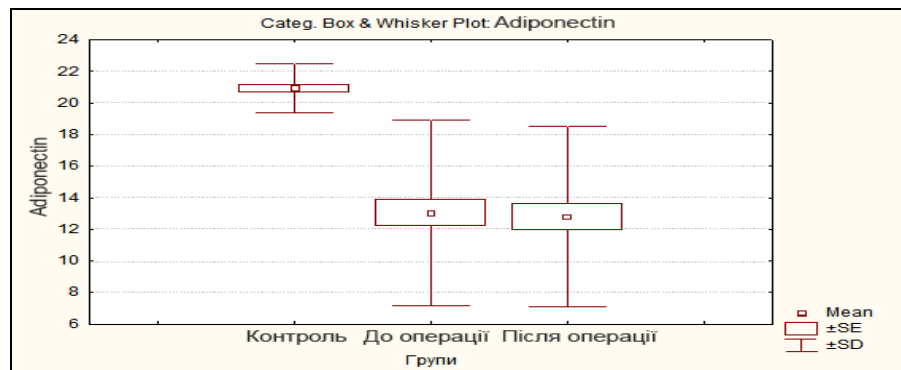


Рис. 6.1.1.14 – Середні рівні вмісту адипонектину у хворих на гідронефроз до та після операції

Рис. 6.1.1.15 ілюструє розподіл значень у вибірках при дослідженні вмісту адипонектину у хворих на гідронефроз до та після операції.

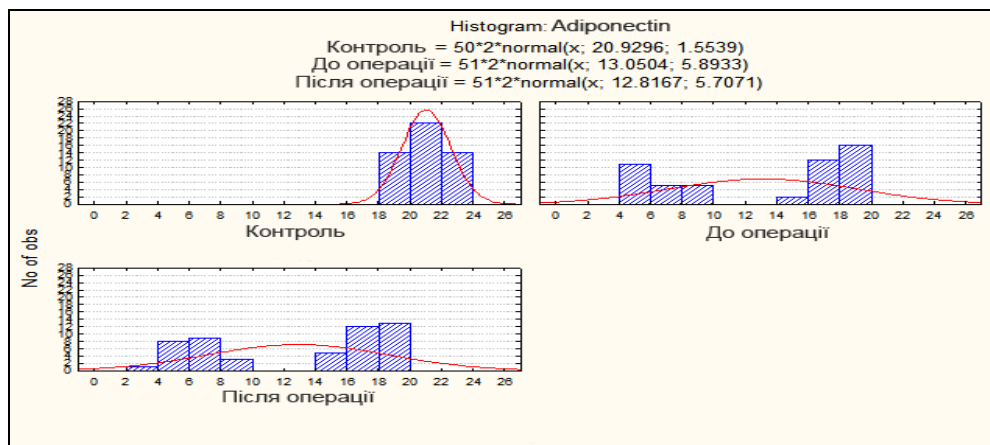


Рис. 6.1.1.15 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту адипонектину у хворих на гідронефроз до та після операції



Вміст вісфатину у хворих на гідронефроз до операції мав медіану 124 (96,3; 146) нг/мл (рис. 6.1.1.16). Медіана вмісту вісфатину у хворих на гідронефроз після операції склала 196 (165; 268) нг/мл (рис. 6.1.1.16).

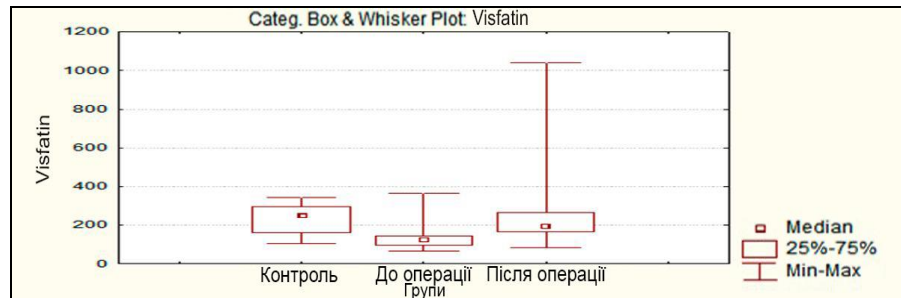


Рис. 6.1.1.16 – Медіани рівнів вісфатину у хворих на гідронефроз

Середній рівень вісфатину у хворих на гідронефроз до операції був нижчим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Після операції рівень вісфатину підвищився порівняно з доопераційним періодом ( $p < 0,05$ ) і став таким як у контрольній групі (табл. 6.1.1.7), (рис. 6.1.1.17).

Таблиця 6.1.1.7

Значення середніх рівнів вісфатину у хворих на гідронефроз до та після операції

Групи	Вісфатин, нг/мл
Контроль	232±10,6*
До операції	136±9,05
Після операції	237±20,4*

\* – відмінності достовірні порівняно з групою хворих на гідронефроз до операції ( $p < 0,05$ )

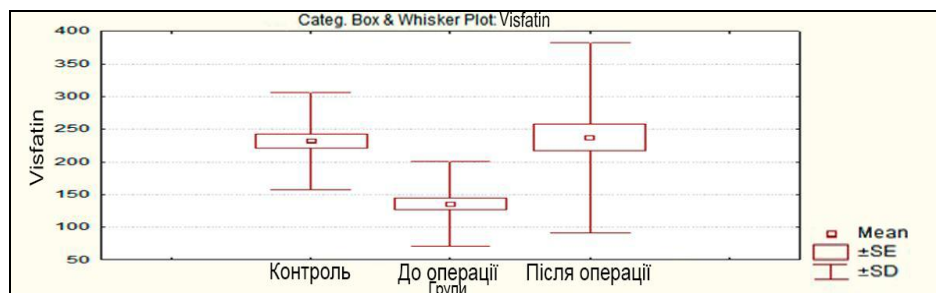


Рис. 6.1.1.17 – Середні рівні вмісту вісфатину у хворих на гідронефроз до та після операції

На рис.6.1.1.18 зображено розподіл значень у вибірках при дослідженні вмісту вісфатину у хворих на гідронефроз до та після операції.

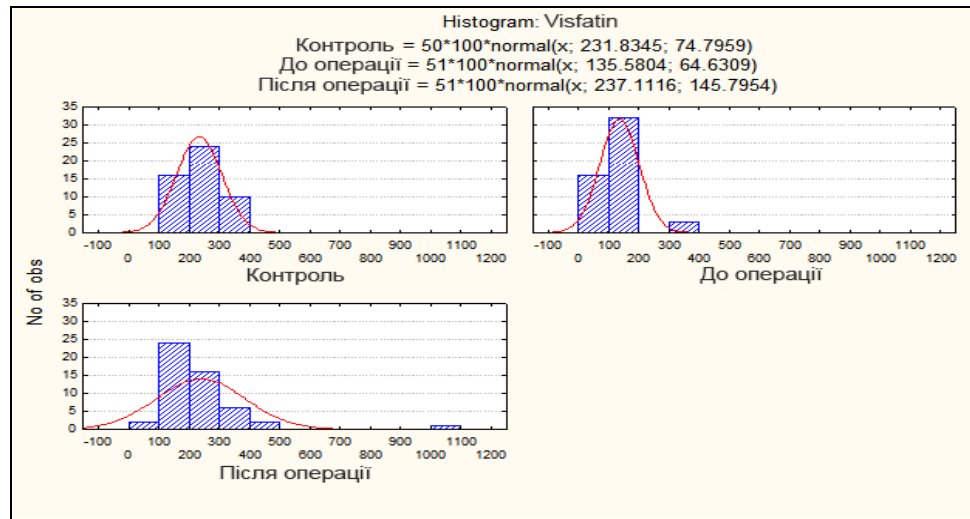


Рис. 6.1.1.18 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту вісфатину у хворих на гідронефроз до та після операції

Медіана вмісту ІЛ-17 у сироватці у хворих на гідронефроз до операції складала 4,01 (2,95; 5,32) пг/мл (рис.6.1.1.19). Медіана вмісту ІЛ-17 у сироватці у хворих на гідронефроз після операції складала 1,67 (1,33; 2,55) пг/мл (рис.6.1.1.19).

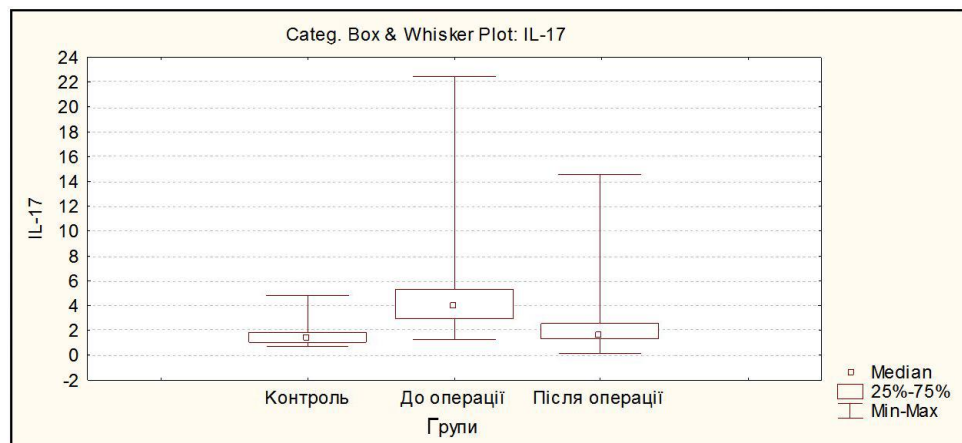


Рис. 6.1.1.19 – Медіани рівнів ІЛ-17 у хворих на гідронефроз

Середній рівень ІЛ-17 у хворих на гідронефроз до операції був вищим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), після операції знизився порівняно з доопераційним періодом і статистично не відрізнявся від контрольної групи (табл.6.1.1.8), (рис.6.1.1.20).

Таблиця 6.1.1.8

Значення середніх рівнів ІЛ-17 у хворих на гідронефроз до та після операції

Групи	ІЛ-17, пг/мл
Контроль	1,70±0,18
До операції	4,73±0,27*
Після операції	2,27±0,14

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

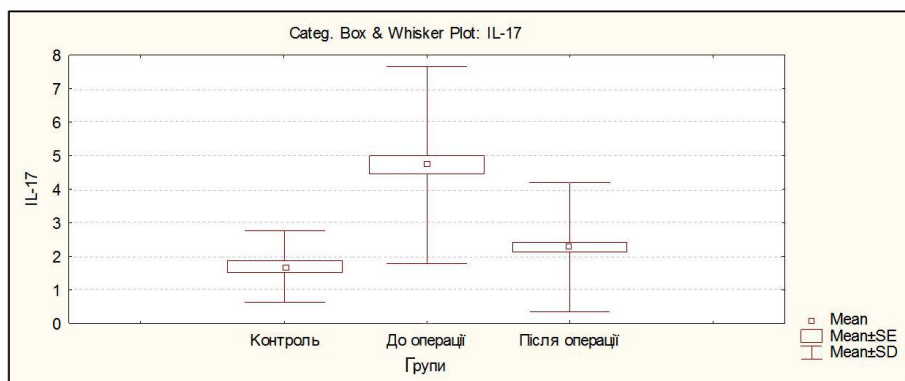


Рис. 6.1.1.20 – Середні рівні вмісту ІЛ-17 у хворих на гідронефроз до та після операції

На рис.6.1.1.21 зображено розподіл значень у вибірках при дослідженні вмісту ІЛ-17 у хворих на гідронефроз до та після операції.

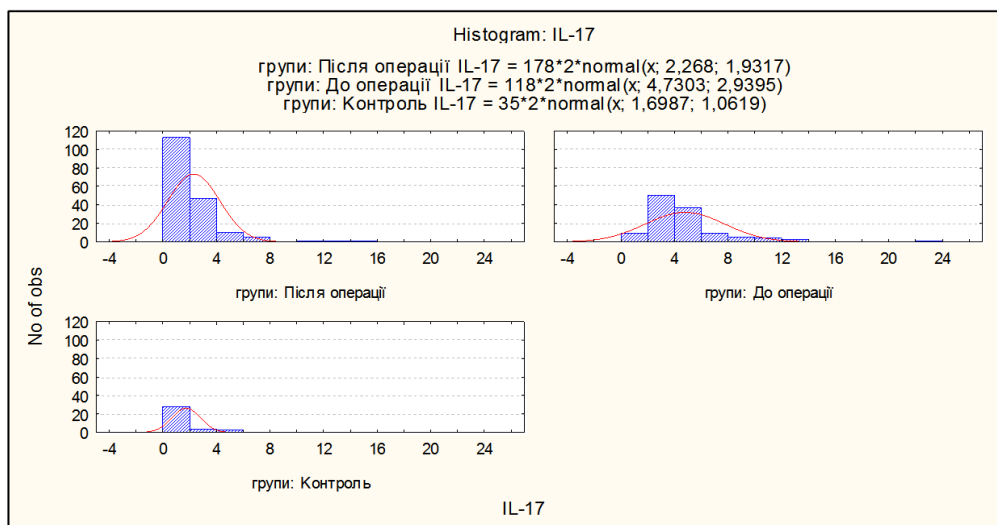


Рис. 6.1.1.21 – Відхилення вибірок від нормального розподілу при дослідженні вмісту ІЛ-17 у хворих на гідронефроз до та після операції

У контрольній групі позитивна кореляція відзначалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = 0,60$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-1RA ( $r = 0,35$ ) ( $p < 0,05$ ), вісфатину та TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.8.1.1.9). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та IL-1RA ( $r = - 0,44$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та IL-17 ( $r = - 0,33$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-17 ( $r = - 0,33$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та IL-17 ( $r = - 0,42$ ) ( $p < 0,05$ ), вісфатину та IL-17 ( $r = - 0,61$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл. 6.1.1.9).

Таблиця 6.1.1.9

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у контрольній групі

Показники	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипонектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	- 0,44	-	-	0,60	- 0,33
OPG	-	-	-	0,31	-	-	- 0,33
IL-1RA	- 0,44	-	-	-	0,35	-	- 0,42
TGF- $\beta$ 1	-	0,31	-	-	-	0,29	-
Адипонектин	-	-	0,35	-	-	-	-
Вісфатин	0,60	-	-	0,29	-	-	- 0,61
IL-17	- 0,33	- 0,33	- 0,42	-	-	- 0,61	-

У групі хворих на гідронефроз до операції позитивна кореляція відзначалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = 0,45$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-1RA ( $r = 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), вісфатину та IL-1RA ( $r = 0,46$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-17 ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.6.1.1.10). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та OPG ( $r = - 0,34$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та адипонектину ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), вісфатину та адипонектину ( $r = - 0,33$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.6.1.1.10).

Таблиця 6.1.1.10

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у хворих на гідронефроз до операції

Показники	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипонектин	Вісфатин	IL-17
1	2	3	4	5	6	7	8
RANKL	-	- 0,34	-	-	- 0,30	0,45	-

## Продовження таблиці 6.1.1.10

1	2	3	4	5	6	7	8
OPG	- 0,34	-	0,31	-	-	-	-
IL-1RA	-	0,31	-	-	-	0,46	-
TGF- $\beta$ 1	-	-	-	-	-	-	-
Адипо-нектин	- 0,30	-	-	-	-	- 0,33	0,36
Вісфатин	0,45	-	0,46	-	- 0,33	-	-
IL-17	-	-	-	-	0,36	-	-

Таблиця 6.1.1.11

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у хворих на гідронефроз після операції

Показники	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипо-нектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	-	-	-	0,32	-
OPG	-	-	0,36	-	-	-	0,36
IL-1RA	-	0,36	-	-	-	-	-
TGF- $\beta$ 1	-	-	-	-	- 0,29	-	-
Адипо-нектин	-	-	-	- 0,29	-	-	0,28
Вісфатин	0,32	-	-	-	-	-	-
IL-17	-	0,36	-	-	0,28	-	-

У групі хворих на гідронефроз після операції позитивна кореляція відзначалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = 0,32$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-1RA ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-17 ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-17 ( $r = 0,28$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.6.1.1.11). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася тільки між рівнями TGF- $\beta$ 1 та адипонектину ( $r = - 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.6.1.1.11).

Таким чином, у хворих на гідронефроз встановлена активація регуляторного шляху RANR-RANKL-OPG, що свідчить про залучення механізмів регулювання на рівні ФССТ, у тому числі в кістковій тканині. Основою цього процесу є дисбаланс у системі цитокінів – IL-1RA, IL-17 та

вісфатину, а також дисбаланс (негативна кореляція) між рівнями TGF- $\beta$ 1 та адипонектину. Підвищення продукції TNF- $\alpha$  у хворих на гідронефроз також може вносити свій вклад до розвитку рецидивів та прогресування патологічного процесу шляхом залучення до нього кісткової тканини, оскільки відомо, що TNF- $\alpha$  здатен підсилювати формування остеокластів і резорбцію кісткової тканини як безпосередньо, так і шляхом збільшення чутливості дозріваючих остеобластів до есенціального остеокластогенного фактору RANKL [382]. Враховуючи, що цитокіни синтезуються транзиторно, тобто коли потрібно і не довше, ніж потрібно, зміна динаміки їх продукції може мати високу діагностичну значимість для оцінки прогнозу захворювання.

Одержані результати дослідження вмісту міжклітинних медіаторів у хворих з різними формами гідронефрозу дали можливість визначити деякі ланки патогенезу захворювання і визначити основний і допоміжні маркери прогнозу розвитку рецидиву захворювання. Однак отримані дані потребують подальшого аналізу з урахуванням морфологічних змін у зоні нирки, стриктури МСС і сечоводу.

### **6.1.2. Особливості сполучнотканинного обміну у хворих на гідронефроз, що потребують оперативного втручання**

Дослідження вмісту фракцій ОП у сироватці крові дозволяє оцінити функціональний стан і СТ активність склеротичного процесу. Нами вивчені особливості обміну колагену у хворих з гідронефротичною трансформацією. Результати представлені в таблиці 6.1.2.1.

Встановлено, що вміст вільного ОП порівняно з контролем достовірно підвищувався у хворих всіх груп. При порівнянні груп між собою виявлено, що у пацієнтів з безрецидивним перебігом хвороби (1 і 3 групи) рівень вільного ОП був нижчим, ніж у пацієнтів з наявністю рецидиву (2 і 4 групи) ( $p < 0,05$ ). Статистично значущих відмінностей між показниками 1 та 3 груп, а також між показниками 2 і 4 груп виявлено не було. Оскільки рівень вільного

ОП в сироватці крові відображає процеси деградації колагену [532], підвищення його вмісту свідчить про переважання деградації колагенових волокон, характерне для активного запального процесу. При цьому змінюються фізико-хімічні властивості не тільки колагену, але і протеогліканів, які структурують фібрили і волокна колагену. Ці зміни супроводжуються активацією і проліферацією клітинного компоненту СТ (макрофагів, тучних клітин, лейкоцитів, нейтрофілів), що в свою чергу призводить до активації протеолітичних ферментів, порушенню нормальної структурної і просторової організації колагенових волокон.

Таблиця 6.1.2.1

Показники обміну колагену в сироватці крові хворих на гідронефроз II-III стадій залежно від етіології та перебігу захворювання

Досліджувані групи	Вільний ОП, мкмоль/л	Пептидно-зв'язаний ОП, мкмоль/л	Білково-зв'язаний ОП, мкмоль/л	Пептидно-зв'язаний/Вільний ОП (ПЗОП/ВОП)
1	2	3	4	5
1 група	13,9±0,39 2, 4, 5	12,8±0,61 2, 4, 5	105±4,8 2, 4	0,92±0,05 2, 4
2 група	16,4±0,54 1, 3, 5	31,1±1,6 1, 3, 4, 5	161±9,9 1, 3, 5	1,96±0,12 1, 3, 4, 5
3 група	13,8±0,56 2, 4, 5	11,3±0,51 2, 4	111±5,9 2, 4	0,89±0,06 2, 4
4 група	16,7±1,3 1, 3, 5	24,4±1,24 1, 2, 3, 5	152±9,5 1, 3, 5	1,62±0,13 1, 2, 3, 5
Контрольна група	11,8±0,31	9,0±0,22	98,9±3,02	0,78±0,03

<sup>1</sup> – відмінності достовірні відносно показника 1 групи; <sup>2</sup> – відмінності достовірні відносно показника 2 групи; <sup>3</sup> – відмінності достовірні відносно показника 3 групи; <sup>4</sup> – відмінності достовірні відносно показника 4 групи; <sup>5</sup> – відмінності достовірні відносно показника контрольної групи (p<0,05)

Вміст пептиднозв'язаного ОП підвищувався порівняно з контролем у хворих 1, 2 і 4 груп, найбільш значно у хворих 2 і 4 групи (у 3,5 і 2,7 раза відповідно). При порівнянні груп між собою встановлено, що вміст пептиднозв'язаного ОП, який відображає одночасно ступінь розпаду і патологічний синтез колагену, у хворих з вродженими аномаліями сечовивідної системи та рецидивним перебігом (2 група) був достовірно вищим, ніж у хворих інших груп. Пептиднозв'язаний ОП характеризується більшою мірою продуктами неповного розпаду колагену і неможливістю його залучення у вторинний синтез [30, 456]. Підвищення його вмісту у хворих з рецидивним перебігом і, особливо, з вродженими вадами сечовивідної системи, може свідчити про зрив гомеостатичних механізмів на різних рівнях регуляції (в тому числі міжклітинних взаємодій), вести до перекручення стереотипної динаміки процесу репаративної регенерації, який втрачає адаптивний характер, і відображати зміни ультраструктури колагену.

При оцінці рівня білковозв'язаного ОП встановлено його достовірне підвищення порівняно з контролем у хворих 2 і 4 груп (у 1,6 та 1,5 раза відповідно). Виявлені статистично значущі відмінності між групами: рівень білковозв'язаного ОП у хворих 2 і 4 груп був вищим порівняно з таким у хворих 1 і 3 груп. Підвищення вмісту білковозв'язаного ОП свідчить переважання процесів біосинтезу колагену [210]. Надлишковий синтез колагену і накопичення колагенових волокон відбувається в результаті порушень в системі синтезу/деградації колагену. Такий дисбаланс призводить до фіброзу органу – розростанню волокнистої СТ, а при хронічному запаленні слизових оболонок – заміні пухкої волокнистої СТ на щільну. Заміщення пошкоджених власних диференційованих тканин в результаті запалення і оперативного втручання веде до утворення грубої СТ (рубцевої тканини), і, отже, до розвитку рецидиву. В даному випадку у хворих з рецидивним перебігом має місце поєднання декількох пошкоджуючих факторів: запалення, механічної травми, а у хворих з



вродженою патологією, ймовірно, і спадково детермінованих порушень на рівні ФССТ.

Примітно, що співвідношення рівнів пептиднозв'язаного і вільного ОП зазнавало характерних змін у хворих з рецидивним перебігом хвороби (2 і 4 групи) і перевищувала контрольні величини в 2,5 та 2,1 раза відповідно. Виявлені зміни можуть свідчити про патологічний перебіг репаративної регенерації, змінену реактивність ПКМ, яка відображається на швидкості синтезу і деградації біополімерів, які безпосередньо беруть участь у формуванні рубцевої тканини. При цьому величини зазначеного співвідношення у хворих 1 та 3 груп не мали статистично значущих відмінностей від контролю і були достовірно нижчими за показники 2 і 4 груп.

Таким чином, у хворих на гідронефроз виявлено порушення балансу деструктивних і синтетичних процесів в ПКМ СТ, яке характеризується підвищенням вмісту в крові фракцій вільного і пептиднозв'язаного ОП у хворих всіх груп, а також білковозв'язаного ОП та співвідношення пептиднозв'язаного і вільного ОП зі збільшенням частки пептиднозв'язаного, у хворих з рецидивним перебігом. Подібна зміна метаболітів колагену свідчить про фібрилогенез, інтенсивність якого не корелює зі ступенем деградації колагену, і збереження деструктивних процесів, що поєднуються з процесами фіброгенезу.

Найбільш виражені зміни показників метаболізму СТ спостерігалися у хворих 2 і 4 груп, особливо у хворих 2 групи з вродженою патологією. Ймовірно, у хворих цих груп порушення репаративної регенерації за часом (уповільнення, прискорення) і за якістю СТ, що утворюється (зміна співвідношення основних компонентів), визначає характер перебігу хвороби і розвиток рецидивів. У хворих з безрецидивним перебігом (1 і 3 групи) ці процеси були більш збалансованими.

Таким чином, наші дослідження дозволили виявити відмінності у вмісті маркерів обміну СТ у хворих з гідронефротичною трансформацією з

наявністю рецидивів порівняно з аналогічними показниками у пацієнтів без рецидивів. Найбільш інформативним виявилось співвідношення рівнів пептиднозв'язаного і вільного ОП у сироватці крові, яке може бути запропоновано в якості маркера оцінки ризику рецидивування.

Відомо, що регуляція метаболізму колагену забезпечується як місцевими, так і системними механізмами. Вивчення концентрації фракцій ОП та продукції цитокінів дозволило виявити деякі факти, які розширюють уявлення про особливості метаболізму СТ і запальної реакції у хворих на гідронефроз. Результати дослідження можуть знайти застосування при прогнозуванні перебігу захворювання і розробці нових напрямків патогенетично обґрунтованої терапії на основі оцінки стану ФССТ.

## **6.2 Дослідження показників стану сполучної тканини та її реакції на пошкодження в умовах обструктивних захворювань органів панкреатодуоденальної зони**

### **6.2.1. Особливості цитокінового профілю у хворих з обструктивними захворюваннями органів панкреатодуоденальної зони, що потребують оперативного втручання**

В основі будь-якого патологічного процесу, в тому числі і гострого, лежить універсальна відповідь організму на ушкодження, що розвивається у відповідності із загальними закономірностями, включаючи всі ланки регуляції, починаючи від загальних керуючих систем до клітини. Ступінь відповіді організму на стресорну ситуацію залежить не тільки від тяжкості агресії, але і від стану адаптаційних резервів організму. Ключова роль у формуванні цієї відповіді і збереження адекватної ауторегуляції належить ФССТ, клітини якої у відповідь на пошкодження виробляють комплекс вазоактивних, про- та протизапальних, просклеротичних, проапоптозних медіаторів – цитокінів.

Серед хірургічних захворювань значне місце займають обструктивні патологічні процеси ПДЗ, що включають етіологічно різні захворювання (в тому числі хронічний панкреатит, стенозуючий папіліт, рубцеві стриктури термінального відділу загальної жовчної протоки і великого дуоденального соска, пухлини головки підшлункової залози та ін. У більшості випадків ускладнення, що розвиваються внаслідок обструкції у вигляді ретенційного хронічного больового панкреатиту, гастро-дуоденостазу часто є першими симптомокомплексами, за якими вперше діагностують основне захворювання, що викликає обструкцію ПДЗ [520]. Всі ці стани вимагають оперативного лікування і характеризуються великою кількістю та тяжкістю ускладнень [448].

Сучасні дані літератури свідчать про те, що процеси запалення, деструкції та малігнізації, які викликають обструкцію ПДЗ, призводять до розвитку фіброзу в тканині печінки і підшлункової залози [414]. Запуск фіброгенезу відбувається за рахунок активності макрофагів і ацинарних клітин в зоні запалення. З участю медіаторної активації вироблення інтерлейкінів, факторів росту та їх надлишкового викиду з одночасною екстравазацією ферментів підшлункової залози, відбувається формування колагенів I-III типів з утворенням міофібробластоподібних клітин в тканині печінки і підшлункової залози. Медіаторами і попередниками їх появи є зірчасті клітини (stellate cells), виявлення яких у біоптатах тканини печінки і підшлункової залози відіграє важливу роль у визначенні лікувальної тактики і прогнозу захворювання та його ускладнень.

Враховуючи це для оцінки тяжкості хірургічної агресії, прогнозу перебігу захворювань доцільно використовувати маркери, які відображають стан ФССТ. З метою підвищення ефективності профілактики ускладнень у хворих з обструкцією ПДЗ, за рахунок урахування стану ФССТ, аналізувалася група цитокінів, які безпосередньо впливають на процеси фіброгенезу: інтерлейкіни IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , АТАФК (IgG) та рівень антитіл до тканини підшлункової залози (АТПЗ).

Результати досліджень дозволили виявити наступні закономірності (табл.6.2.1.1).

Таблиця 6.2.1.1

Результати досліджень у хворих з обструкцією ПДЗ (n=133) до операції

Показники	Контроль	1 група	2 група	3 група
IL-1 $\beta$ , пг/мл	23,9 $\pm$ 2,1	92,1 $\pm$ 9,85*	482 $\pm$ 43,6*	246 $\pm$ 27,7*
IL-2, пг/мл	2,47 $\pm$ 2,9	12,7 $\pm$ 1,72*	32,5 $\pm$ 6,19*	2,04 $\pm$ 1,58
IL-4, пг/мл	12,6 $\pm$ 1,27	10,3 $\pm$ 1,2**	9,1 $\pm$ 1,05*	7,21 $\pm$ 1,35*
IL-6, пг/мл	3,42 $\pm$ 0,55	6,82 $\pm$ 0,57*	37,8 $\pm$ 3,27*	51,3 $\pm$ 5,56*
IL-8, пг/мл	47,2 $\pm$ 0,29	112 $\pm$ 13,8*	193 $\pm$ 32,4*	270 $\pm$ 36,2*
TNF- $\alpha$ , пг/мл	6,2 $\pm$ 0,93	22.6 $\pm$ 3,21*	38,2 $\pm$ 4,12*	75 $\pm$ 6,27*
АТПЗ, оощ	0,15 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01*	0,35 $\pm$ 0,02*
АТАФК (IgG), нг/мл	0,30 $\pm$ 0,15	0,95 $\pm$ 0,26**	2,15 $\pm$ 0,61*	1,13 $\pm$ 0,24*

\*\* – тенденція до збільшення або зменшення значень (0,1>p>0,05)

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем (p<0,05)

При аналізі цитокінового статусу було встановлено, що показники цитокінів у сироватці крові хворих усіх груп не залежали від статі і віку пацієнтів. Показники IL-1 $\beta$  у всіх групах до операції були підвищені відносно норми, найбільш виражено у хворих 2 групи. Була достовірна різниця доопераційних показників між групами (p<0,05). Відомо, що IL-1 $\beta$  при дії патогенних факторів одним з перших включається у реакцію відповіді організму, активуючи Т- і В-лімфоцити, ініціюючи синтез IL-6, TNF- $\alpha$ , надаючи пірогенний ефект. Встановлено, що IL-1 здатний стимулювати проліферацію фібробластів, основних клітинних елементів СТ і продукцію ними колагену, проліферацію ендотеліальних клітин [288].

У хворих 1 і 2 груп незалежно від етіології була різко підвищена концентрація ІЛ-2 порівняно з практично здоровими людьми. При цьому, максимальне значення ІЛ-2 спостерігалось у 2-й групі. У хворих 3 групи, навпаки, рівень прозапального цитокіну ІЛ-2 – на 17,4% ( $p < 0,01$ ) менше, ніж у здорових людей, що ймовірно, пов'язано з наявністю імунодепресії і, отже, з ризиком розвитку системних ускладнень.

Відомо, що основними продуцентами прозапального цитокіну ІЛ-2 є Т-хелпери 1 типу. Розвиток імунодепресії супроводжується істотним зниженням здатності Т-клітин продукувати ІЛ-2 – одного з центральних цитокінів імунної системи [42]. Однією з причин цього зниження є поява в сироватці крові розчинного рецептора для ІЛ-2 (ІЛ-2Р), який є одним з найсильніших інгібіторів ІЛ-2 [72].

Порівняльна оцінка рівня протизапального цитокіну ІЛ-4 показала, що вміст ІЛ-4 є зниженим у хворих всіх груп порівняно з практично здоровими людьми. При цьому, в 1 групі хворих була зареєстрована максимальна концентрація ІЛ-4 серед усіх груп хворих. Вміст ІЛ-4 у крові хворих 3 групи було найменшим. Слід зазначити, що у хворих 3 групи спостерігався досить великий розкид значень, що може бути обумовлено як активізацією імунної відповіді, так і різким виснаженням адаптаційних резервів у окремих хворих. Зниження рівня ІЛ-4 може свідчити про зниження протизапального захисту за рахунок виснаження В-системи імунітету. Особливістю ІЛ-4 є те, що він синтезується активованими CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитами (Th2) і еозинофілами. ІЛ-4 відіграє велику роль у проліферації і диференціюванні В-лімфоцитів, може активувати Т-лімфоцити, інгібує макрофаги і моноцити [44], сприяє проліферації фібробластів та продукції ними цитокінів [359].

Рівні ІЛ-6 і ІЛ-8 були підвищені у всіх групах відносно нормальних величин, найбільш виражено у хворих 3 групи. Даний факт з одного боку свідчить про те, що гострий запальний процес, який розвивається у ПДЗ, сприяє підвищенню рівня прозапальних цитокінів, з іншого – розвиток таких ускладнень як механічна жовтяниця, холестаза та печінкова недостатність ще

більше сприяють підвищенню рівнів ІЛ-6 і ІЛ-8. Між прозапальними цитокінами існують досить складні взаєморегулюючі відносини. Зокрема, ІЛ-6 інгібує продукцію ІЛ-1 і TNF- $\alpha$ , які є обидва активними індукторами синтезу ІЛ-6 [28, 167]. В інших випадках було відзначено синергічну дію ІЛ-1 та ІЛ-6, що призводить до розвитку максимальної відповіді на пошкодження [397]. ІЛ-6 підсилюють зростання ендотелію і нових кровоносних судин, стимулює фібрилогенез [28]. ІЛ-6 продукується в основному лімфоцитами, проте в його синтезі можуть брати участь гепатоцити, клітини Купфера, ендотелію, епітеліальні клітини жовчних проток, фібробласти [436].

ІЛ-6 надає не тільки про-, але і протизапальний ефект, завершує гостру фазу запалення, активує В-лімфоцити, регулює проліферацію клітин печінки, жовчних проток, формування фіброзу, утворення гранульом [356]. ІЛ-8 – хемокин – стимулює і регулює адгезію, хемотаксис лейкоцитів в осередок ураження [202].

ІЛ-8 в даний час розглядається як центральний медіатор неспецифічного захисту організму, пов'язаного з нейтрофілами. Продукція його макрофагами, фібробластами, гепатоцитами дуже швидко включається під дією таких факторів як травма, гіпоксія [488], бактеріальні продукти і прозапальні цитокіни, такі як TNF- $\alpha$  та ІЛ-1 [482].

Зареєстровано підвищення вмісту прозапального цитокіну TNF- $\alpha$  в крові у хворих з обструкцією ПДЗ незалежно від причини захворювання порівняно з практично здоровими людьми, найбільша концентрація якого також була у хворих 3 групи. Рівень TNF- $\alpha$  у хворих 3 групи перевищував норму у 12,4 раза ( $p < 0,001$ ). Необхідно відзначити, що у хворих з обструкцією ПДЗ злоякісного генезу концентрація TNF- $\alpha$  нижча порівняно з хворими з обструкцією ПДЗ, викликаною хронічним запаленням ( $p < 0,05$ ). Оцінюючи рівень TNF- $\alpha$  у крові хворих, слід враховувати, що він, як і ІЛ-6, регулює синтез колагену, ріст і проліферацію фібробластів [358], функціональна активність яких визначає структуру післяопераційного рубця.

Активация запального процесу викликає деградацію фібрилярного колагенового матриксу.

З цієї точки зору цікавим є встановлений нами факт появи в крові хворих з обструкцією ПДЗ антитіл до атипівних форм колагену АТАФК (IgG). Найбільш високий рівень антитіл був у хворих 2 групи. Відомо, що сполучнотканинні структури різних органів і тканин характеризуються специфічним для них співвідношенням типів колагену. Неадекватна гістоархітектоніка може грати роль самостійного патогенетичного фактора у підтримці активності запального процесу, хронізації хвороби [427], визначаючи її прогноз. Поява атипівних мінорних форм колагену, не характерних для даного органу чи тканини, може порушувати організацію надмолекулярних структур та взаємодію колагену з іншими компонентами СТ. Раніше нами було показано, що такого роду порушення можуть бути первинною основою розвитку патологічних процесів [490]. Можна припустити, що розвиток обструкції на тлі хронічних захворювань ПДЗ веде до порушення синтезу колагену, внаслідок чого з'являються його атипівні форми, до яких можуть утворюватися антитіла. Причому якщо антитіла до колагенів I і II типів є характерними для аутоімунних захворювань, то антитіла до атипівних колагенів, є відображенням аномальної будови колагену. Зміна антигенної структури колагену може стати причиною не тільки розвитку фіброзу, але й аутоімунних реакцій, що підтверджується підвищенням рівня антитіл до тканини підшлункової залози у цих хворих.

Можна припустити, що розвиток виражених імунних пошкоджень клітин і стромы підшлункової залози, привів до запуску фіброгенезу в тканині підшлункової залози при обструкції ПДЗ та прогресуванню цих процесів після оперативних втручань. Встановлено, що у всіх групах хворих, в тому числі і в 1 групі були пацієнти, у яких АТАФК (IgG) з'являлися в пізньому післяопераційному періоді (пізніше 10-х післяопераційних діб). Ці зміни відбувалися на фоні цитокінового дисбалансу, у тому числі імунодепресивного стану, і характеризувалися появою антитіл до тканини

підшлункової залози на тлі ліквідації обструкції. Розвиток або продовження цих процесів в тканині оперованої підшлункової залози призводив до значного погіршення перебігу післяопераційного періоду як раннього, так і пізнього, зі значним погіршенням якості життя пацієнтів і розвитком хронічних захворювань підшлункової залози. Основною етіопатогенетичною ланкою розвитку цих ускладнень було прогресування фіброзу в тканині підшлункової залози. Однак отримані дані вимагають подальшого аналізу з урахуванням морфологічних змін в тканині печінки і підшлункової залози.

Виражений дисбаланс в системі цитокінів може відігравати визначальну роль у розвитку ранніх післяопераційних ускладнень у обстежених хворих за рахунок порушення процесів репаративної регенерації. Відомо, що розвиток фізіологічної регенерації в будь-якому осередку тканинного пошкодження можливий тільки при наявності збалансованості у функціональному стані міжклітинних імуномодуляторів – прозапальних IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  та їх антагоніста протизапального цитокіну IL-4, що відіграють провідну роль в характері формування регенераторно-відновних реакцій [412]. При виникненні їх дисбалансу в механізмах регенерації виникають патофізіологічні зрушення, наслідком яких є: стимуляція апоптогенних ефектів, порушення у процесах епітелізації травматичних дефектів, тканинного ремоделювання та відновлення нервової трофіки [338].

Отже, у всіх хворих з обструкцією ПДЗ, незалежно від нозології, при надходженні в клініку мав місце дисбаланс в системі регуляції ФССТ на рівні міжклітинних медіаторів. При цьому розвиток і тяжкість післяопераційних ускладнень залежали від ступеня вираженості вихідного дисбалансу цитокинового профілю, в тому числі зниження рівня протизапального захисту, особливо у пацієнтів з тяжкими післяопераційними ускладненнями. Розвиток обструкції ПДЗ на тлі хронічних захворювань цієї області супроводжувався появою в крові хворих антитіл до атипівих форм колагену, що може вести до порушення репаративної регенерації та розвитку



аутоімунних ушкоджень, а, отже, до погіршення післяопераційного перебігу і віддаленого прогнозу.

Таким чином, встановлено, що процеси запалення, деструкції та малігнізації, які викликають обструкцію ПЗД, призводять до розвитку цитокінового дисбалансу і порушення регуляції адаптаційних механізмів, у тому числі й на рівні ФССТ. Ці порушення багато в чому визначають розвиток і тяжкість післяопераційних ускладнень, а також прогноз захворювання.

Отримані в роботі результати, на наш погляд, дозволяють наблизитися до відповіді на питання про роль ФССТ у розвитку системної відповіді на ушкодження і підтверджують уявлення, яке формується в останні роки, що механізми її реалізації слід шукати в порушенні адекватності міжклітинних взаємодій.

### **6.2.2. Особливості стану сполучної тканини у хворих з обструктивними захворюваннями органів панкреатодуоденальної зони, що потребують оперативного втручання**

При проведенні комплексного гістологічного і гістохімічного дослідження інтраопераційних гепато- і панкреатобіоптатів у хворих з обструктивними захворюваннями ПДЗ встановлено наступне.

При мікроскопічному аналізі гістологічних препаратів печінки виявлялися деструктивні зміни, які були пов'язані з порушенням радіального рисунку печінкових трабекул, розширенням центральних вен, явищами тканинного набряку.

Гепатоцити втрачали полігональну форму, їх цитоплазма набувала зернистості. Спостерігалися клітини різних розмірів – від дрібних з невеликим ядром до крупних набухлих гепатоцитів з нечіткими контурами. При забарвленні суданом виявлялася дифузно-осередкова жирова дистрофія клітин печінки (рис. 6.2.2.1, 6.2.2.2).

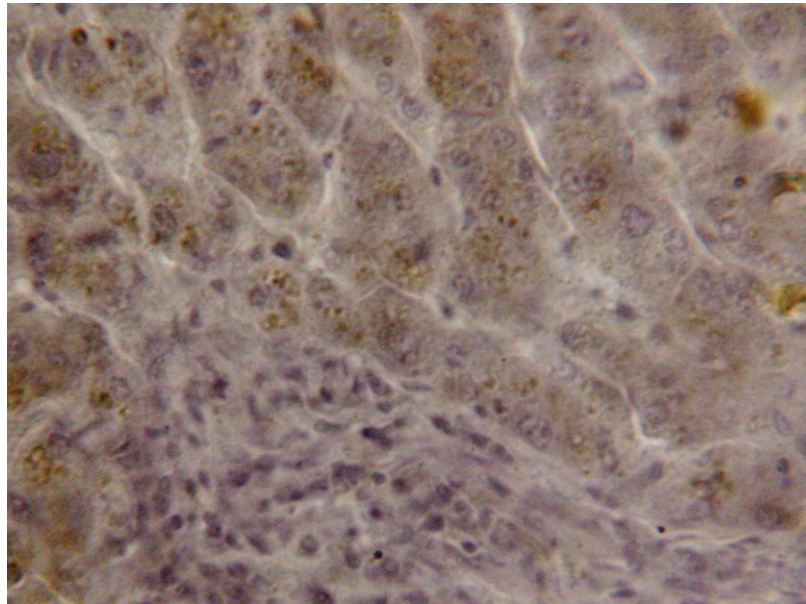


Рис. 6.2.2.1 – Фрагмент печінки. Жирова дистрофія гепатоцитів. Фіброз. Судан червоний. Ок.10, об. 40

В усіх препаратах відмічали розширені центральні вени, повнокровні внутрішньочасточкові капіляри, нерівномірність заповнення капілярних синусів клітинами крові, що свідчить про порушення кровообігу органу. Поблизу триад виявлялися інфільтрати, які склалися з круглоклітинних елементів, плазмоцитів та еозинофілів, що свідчить про перебіг запального процесу (рис. 6.2.2.3, 6.2.2.4).

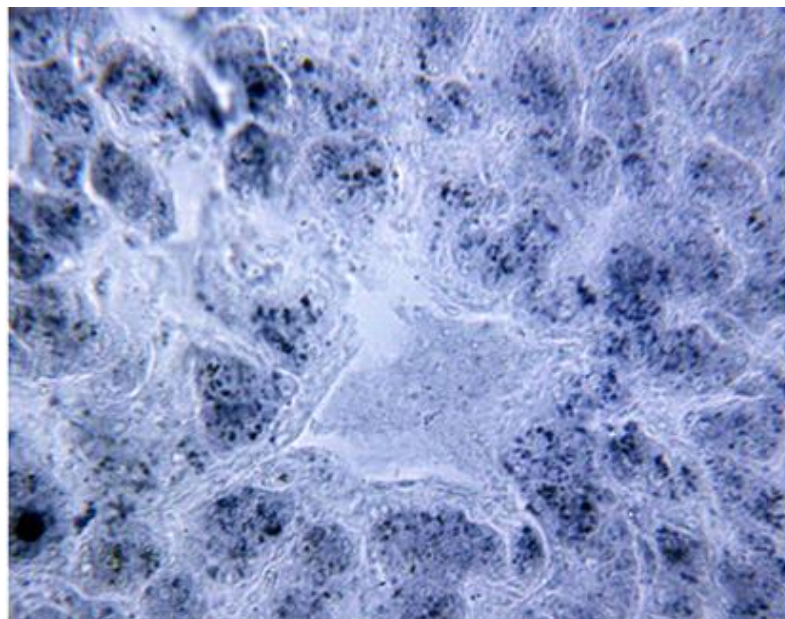


Рис. 6.2.2.2 - Фрагмент печінки. Жирова дистрофія гепатоцитів. Судан чорний. Ок.10, об. 40

Вздовж портальних трактів спостерігали формування прошарків СТ різної товщини, що порушувало типовий радіальний рисунок печінкових трабекул (рис. 6.2.2.1, 6.2.2.3, 6.2.2.4). На ділянках добре візуалізувалися Купферовські клітини, які були збільшені за розмірами, мали яскраво забарвлені базофільні ядра, окремі набували зірчастої форми.

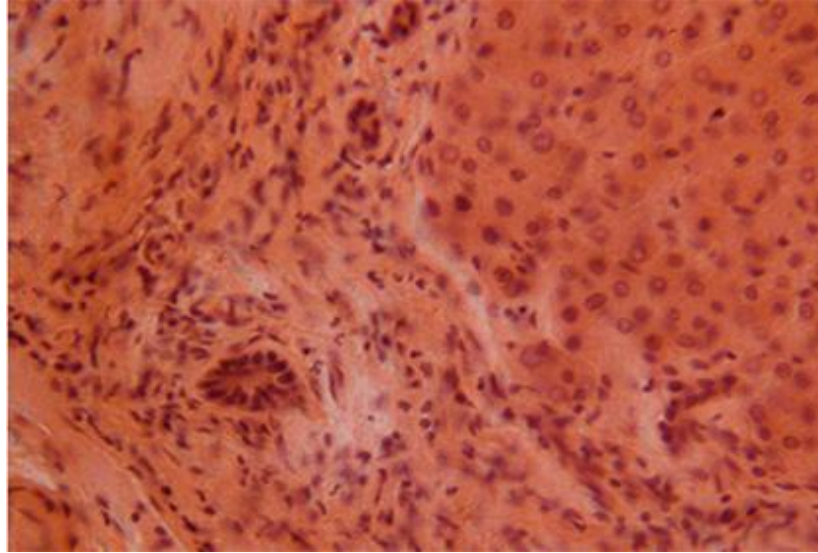


Рис. 6.2.2.3 – Фрагмент печінки хворого на гепатит. Фіброз в портальній зоні. Лімфоїдна інфільтрація. Гематоксилін і еозин. Ок.10, об. 20

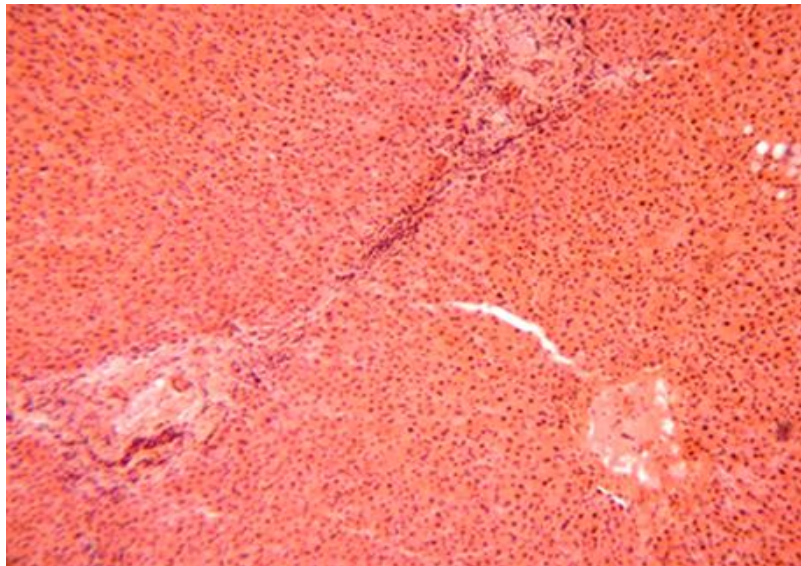


Рис. 6.2.2.4 – Фрагмент печінки хворого на хронічний гепатит. Розширені центральні вени. Лімфо-гістіоцитарна інфільтрація. Гематоксилін і еозин. Ок.10, об. 10

У всіх досліджених біоптатах були виявлені подібні зміни, характерні для розвитку запальних явищ з паралельним розвитком деструктивно-дистрофічних змін в тканині печінки.

Деструкція тканинних і клітинних структур печінки веде до позаклітинного вивільнення лізосомальних ферментів і активних метаболітів кисню, а також виділення з лейкоцитів, що мігрують у вогнище запалення, їх активних субстанцій. Внаслідок цього у вогнищі запалення і в сироватці крові накопичуються медіатори запалення і пошкодження (неферментні протеїни, лізосомальні і протеолітичні ферменти, цитокіни та ін.). Ці процеси ведуть до збільшення активності колагенолізу з переважанням розпаду колагену [214].

Наслідком цих впливів на СТ є вторинна альтерація, яка безпосередньо не залежить від пошкоджуючого агента, вона є реакцією організму на вже викликане шкідливим фактором пошкодження. Стереотипізм змін полягає в деструкції ПКМ, судин і колагенових волокон, порушенні синтезу колагену і збірки волокон, що виникають у СТ незалежно від характеру пошкоджуючої дії.

В свою чергу порушення динамічної рівноваги між рівнями біосинтезу та катаболізму колагену, підвищене утворення продуктів його руйнування (амінокислоти, пептиди) підсилює ріст і диференціювання фібробластів, продукцію колагену і фібрилогенез, що веде до переважання синтезу над катаболізмом, та накопиченню колагену [515] і, отже, активації фіброзно-склеротичних процесів, так як вміст колагену в ПКМ залежить не тільки від швидкості його біосинтезу, але також і від інтенсивності його розщеплення колагенолітичними ферментами [193].

Ймовірно, в результаті пошкодження регуляторні шляхи, що впливають на деградацію ПКМ, порушуються і відбувається патологічна експресія регуляторних білків. Так, у хворих з обструкцією ПДЗ незалежно від причини захворювання, нами зареєстровано підвищення вмісту TNF- $\alpha$  в

крові, який може стимулювати експресію колагенази, впливаючи на метаболізм і проліферацію фібробластів.

TNF- $\alpha$  ініціює міграцію клітин крові в осередок пошкодження, що підтверджується збільшенням співвідношення мононуклеарів і гранулоцитів, стимулює кисневий метаболізм і фагоцитоз, сприяючи санації поверхні рани від гнійно-некротичних мас і прискоренню настання фази регенерації. З іншого боку, TNF- $\alpha$  бере участь у регуляції ремоделювання СТ.

Цей цитокін активує проліферацію фібробластів [63] і продукцію профіброгенних факторів (IL-1 $\beta$ , фактору росту фібробластів), компонентів ПКМ (колагену і фібронектину). У той же час, TNF- $\alpha$  стимулює секрецію ММП, зокрема колагенази, стромелізина, желатинази [358], знижує синтез тканинних інгібіторів ММП, беручи участь в механізмах пригнічення надмірного розростання СТ, надаючи за механізмом зворотного зв'язку прямий супресорний вплив на експресію індуктора фіброзу TGF- $\beta$ 1, накопичення якого сприяє швидкому розвитку фібропластичних процесів [357].

При гістологічному дослідженні препаратів підшлункової залози виявлено порушення структурної організації органу, яке було пов'язане із склерозом строми і атрофією часточок.

В усіх зразках спостерігали явища тканинного набряку, розширення і повнокров'я кровоносних судин, що свідчить про порушення регіонарного кровообігу. Ацинозний малюнок був нечітким. Типову часточкову будову порушувала наявність прошарків СТ різної товщини. В міжчасточкових просторах виявляли лімфоїдну інфільтрацію, що віддзеркалює перебіг запального процесу (рис. 6.2.2.5).

Часточки підшлункової залози були переважно дрібними, склалися з ацинусів із невеликою кількістю ацинарних клітин і розширених панкреатичних протоків.

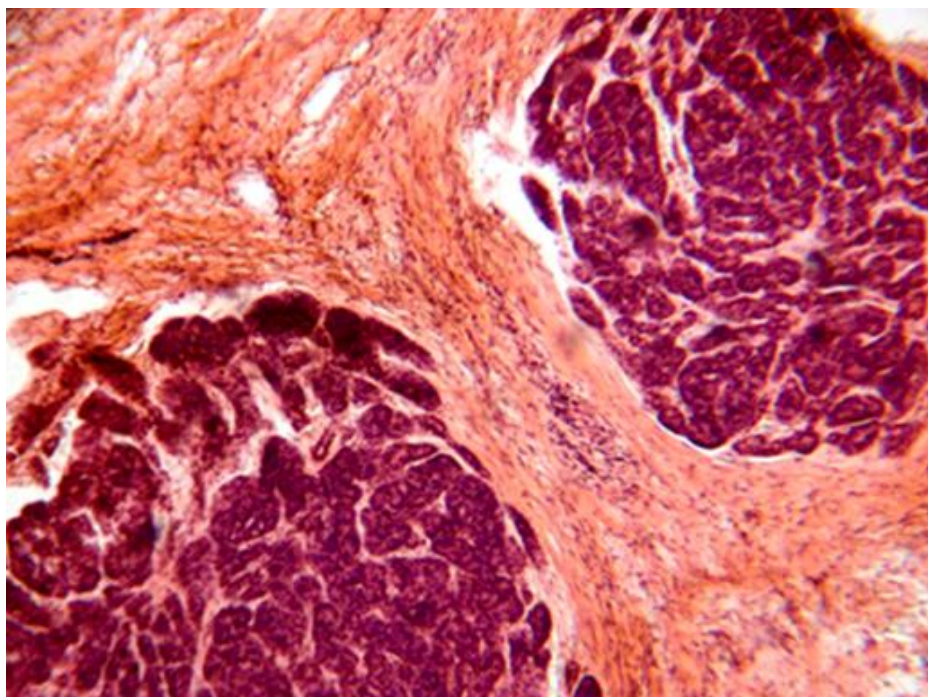


Рис. 6.2.2.5 – Фрагмент підшлункової залози хворого на хронічний панкреатит. Склероз строми. Атрофія часточок. Лімфоїдна інфільтрація міжчасточкових просторів. Гематоксилін і еозин. Ок.10, об. 20

При забарвленні суданом виявлялася дифузно-осередкова жирова дистрофія підшлункової залози (рис. 6.2.2.6).

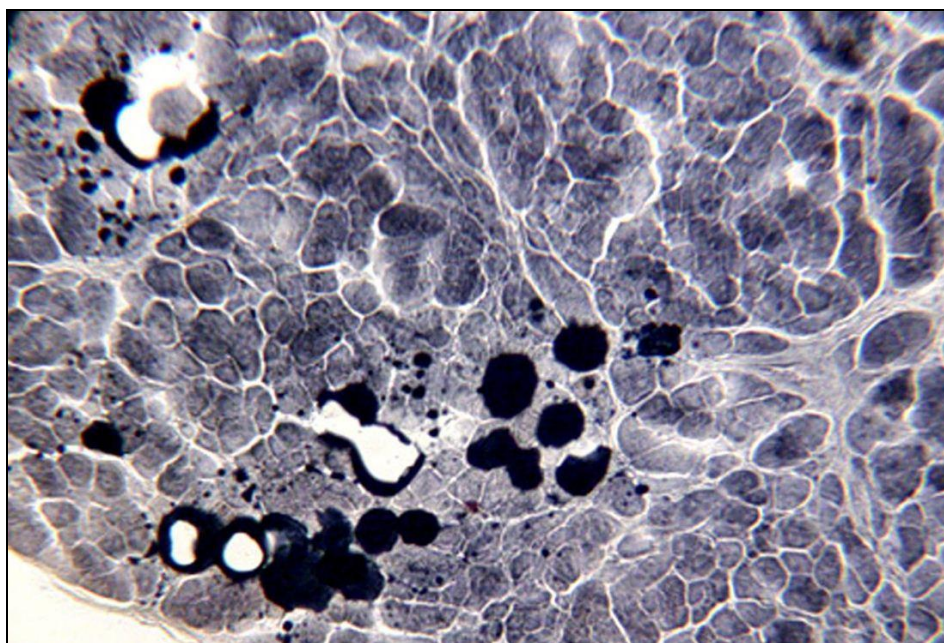


Рис. 6.2.2.6 – Фрагмент підшлункової залози. Жирова дистрофія. Судан чорний. Ок.10, об. 10

За даними проведених досліджень, дифузно поширений міжчасточковий фіброз, що охоплює більшу частину часточок підшлункової залози, поєднувався з внутрішньочасточковим септально-періацинарним фіброзом підшлункової залози, який характеризувався наявністю в часточках фіброзних септ різної товщини, а також ділянок концентричного періацинарного фіброзу. При обструкції головного панкреатичного протоку розвивався мозаїчно поширений міжчасточковий фіброз підшлункової залози.

Зміни в тканині підшлункової залози були характерні для всіх біоптатів, незалежно від нозології (як при доброякісних запальних обструктивних процесах, так і при онкологічних обструкціях).

У всіх досліджених препаратах були виявлені зірчасті клітини, колаген I і III типів, міофібробластоподібні клітини, що свідчило про активацію фіброзно-склеротичних процесів, збільшення кількості та підвищення рівня синтетичної активності колагенпродукуючих клітин.

Міофібробласти відіграють ключову роль у загоєнні ран, активуюючись після пошкодження тканини. Протягом репаративного процесу вони виділяють інтерлейкіни, ейкозаноїди, фактори росту, а також секретують колаген та інші білки ПКМ СТ. У відповідь на прозапальні цитокіни, які секретуються пошкодженими епітеліальними клітинами та лейкоцитами, міофібробласти починають секретувати білки ПКМ та фактори росту. Тривала персистенція міофібробластів призводить до розвитку фіброзу і найчастіше до порушення функції органу [145, 387].

При гістохімічному дослідженні в зонах дифузно поширеного стрічкоподібного міжчасточкового фіброзу і септально-періацинарного внутрішньочасточкового фіброзу виявлялася підвищена кількість активованих зірчастих клітин, а також значне накопичення колагену I і III типів порівняно з нормальним їх вмістом. За результатами поляризаційної мікроскопії було виявлено переважне накопичення колагену в зонах з вираженою запальною інфільтрацією. При фарбуванні пікросіріусом

червоним колаген I типу виявлявся у вигляді товстих пучків, що розташовувались в області фібротизації. Пучки колагенових волокон I типу мали жовто-червоне світіння. Колаген III типу виявлявся у вигляді невеликих тонких пучків і давав слабе світіння зеленуватого відтінку (рис. 6.2.2.7).

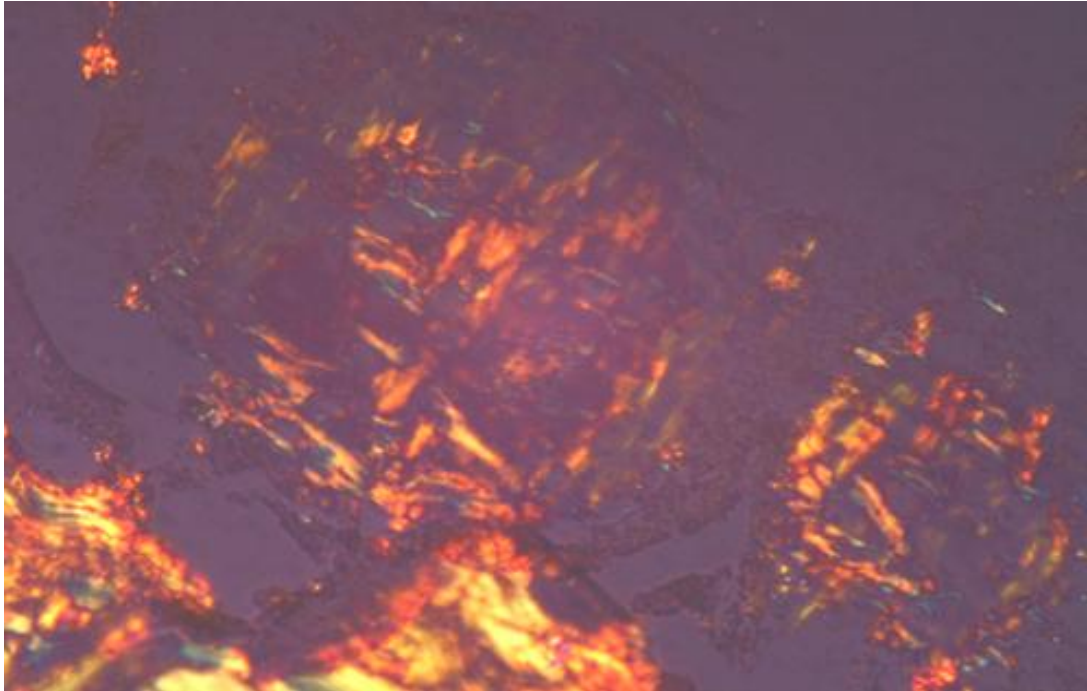


Рис. 6.2.2.7 – Ділянки фіброзу підшлункової залози. Колаген I і III типів. Забарвлення пікросіріусом червоним. Біосинтез колагену. Polmy-A. Ув. 80

В умовах патології відбувається зміна співвідношення типів колагену, характерного для сполучнотканинних структур органів і тканин. На ранніх і гострих стадіях відзначається накопичення колагену III типу, який у міру дозрівання СТ змінюється на колаген I типу. Можна припустити, що переважання колагену III типу в досліджуваних біоптатах свідчить про високу активність репаративних процесів, що, ймовірно, можна розглядати як адекватну відповідь на пошкодження. В той же час перевага грубої мережі волокон колагену I типу свідчить про виражені склеротичні зміни в органі.

Накопичення в тканинах колагенів всіх типів, з явним переважанням I або III типів, у хворих різних груп, супроводжувалося активацією секреції цитокінів. Активація клітин цитокінами, продукція і накопичення колагенів I



і III типів є основною патогенетичною ланкою фіброгенезу. В літературі є дані про стимулюючий вплив цитокінів на проліферацію фібробластів і колагеногенез [452].

Таким чином, проведені дослідження показали, що на відміну від нормальної підшлункової залози, яка містить невелику кількість фібрилярного колагену III типу в міжчасточкових септах, в стінках великих і дрібних протоків [515], при розвитку панкреатичного фіброзу посилюється синтез активованими зірчастими клітинами і накопичення в тканині підшлункової залози переважно фібрилярних колагенів I та III типу.

При електронномікроскопічному дослідженні виявлена збільшена кількість матрикссинтезуючих клітин (зірчастих клітин, міофібробластів) в біоптатах пошкодженої печінки (рис. 6.2.2.8, 6.2.2.9, 6.2.2.10).

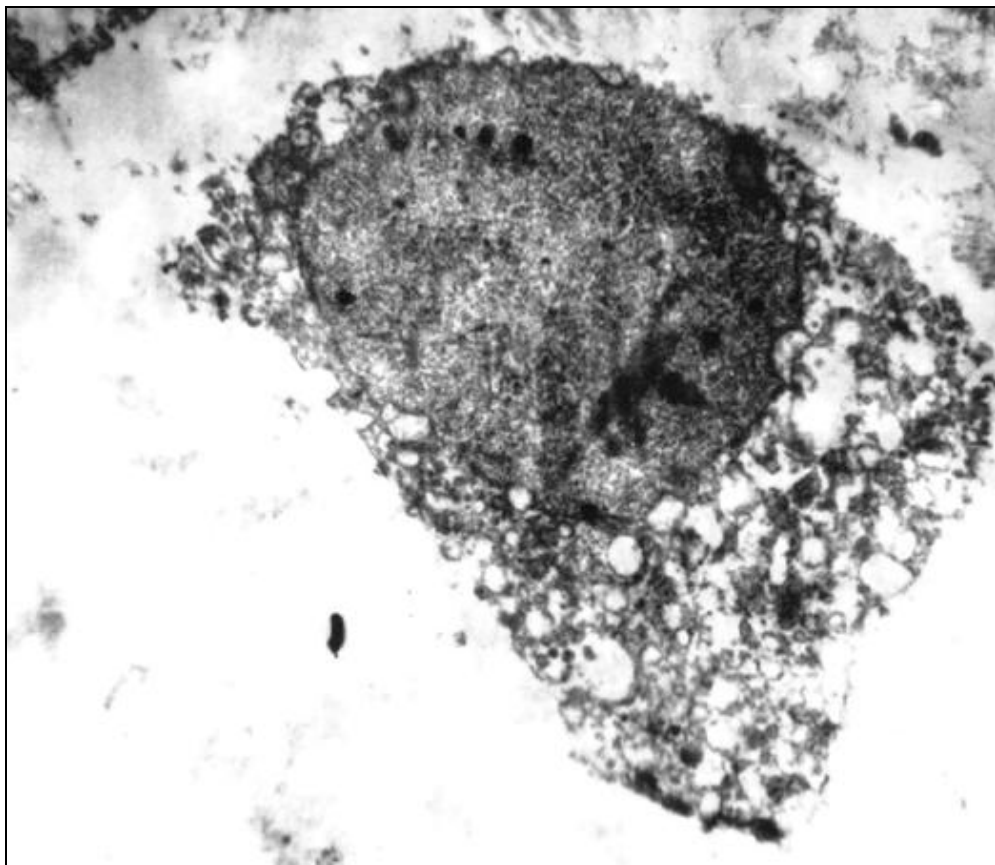


Рис. 6.2.2.8 – Печінка. Зірчата клітина. Гіпохромне ядро з ділянками гіперконденсації хроматину. У цитоплазмі скупчення ліпідів. Контрастування по Рейнольдсу. ЭМВ-100БР. Ув. 14500

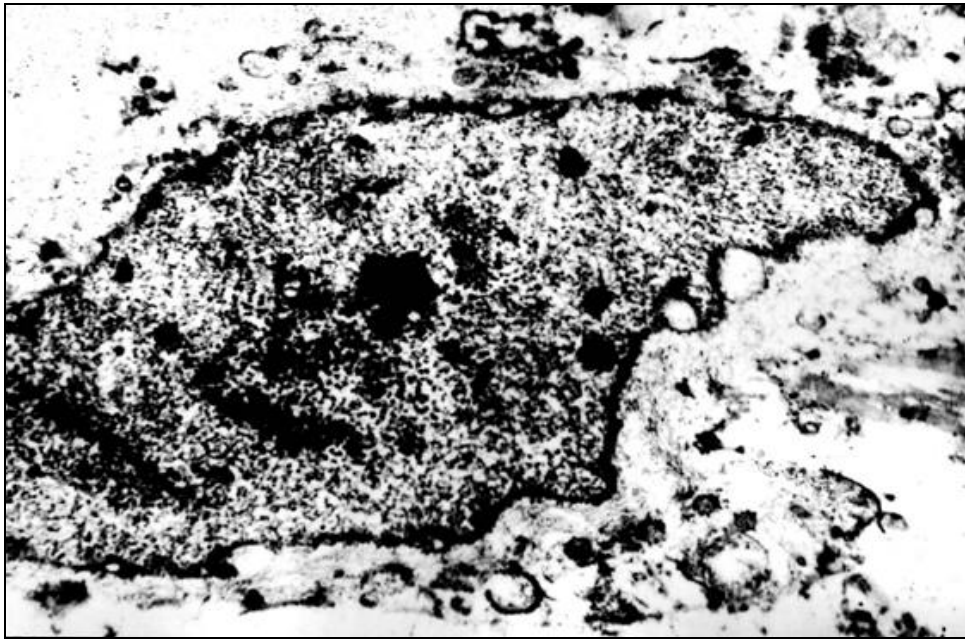


Рис. 6.2.2.9 – Ділянка фіброзу печінки. Міофібробластоподібна клітина. Контрастування по Рейнольдсу. ЭМВ-100БР. Ув. 20400

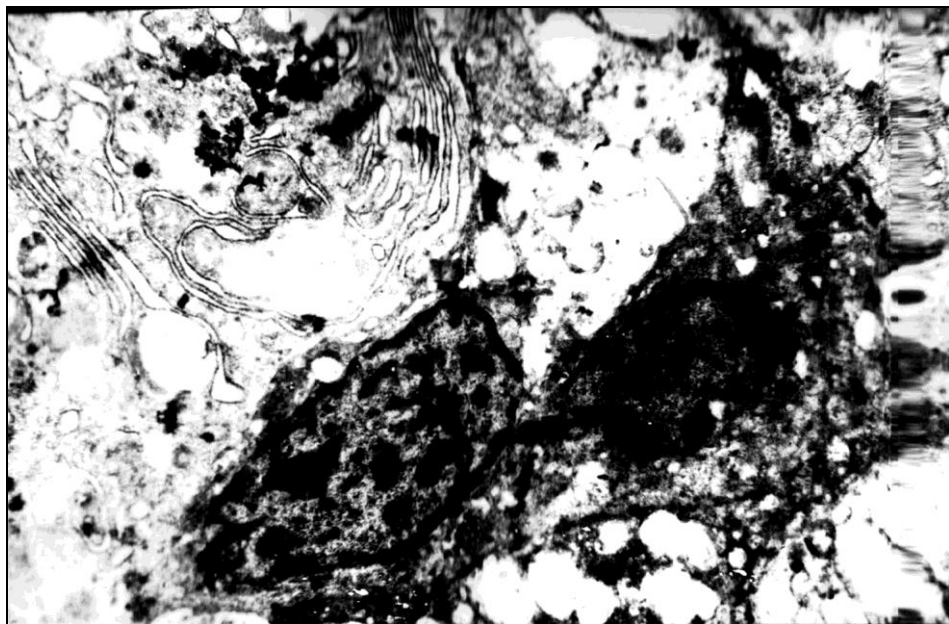


Рис. 6.2.2.10 – Міофібробластоподібні клітини, прилеглі до гепатоциту. Контрастування по Рейнольдсу. ЭМВ-100БР. Ув. 10300

Міофібробластоподібні клітини локалізувалися в осередках фіброзу (рис. 6.2.2.9, 6.2.2.10) та характеризувалися високою мітотичною активністю і біосинтезом колагенів I та III типів. Відомо, що активуючим фактором для

колагенпродукуючих клітин може бути медіаторний вплив макрофагів і лімфоцитів. У дослідженнях, проведених в культурі клітин, отриманих з підшлункової залози у хворих на панкреатит, було доведено, що при активації зірчастих клітин прозапальними цитокінами і факторами росту, вони можуть придбати міофібробластоподібний фенотип [113].

Панкреатичні зірчасті клітини локалізувалися періацинарно і внутрішньоглобулярно. Їх характерною особливістю була наявність крапель жиру в цитоплазмі, які займали практично весь об'єм цитоплазми (рис. 6.2.2.11).

Вони мали невелике гіпохромне ядро з ділянками конденсації хроматину, яке розташовувалося центрально або асиметрично. Поруч розташовувалися зірчасті клітини з помірною щільністю ліпідних крапель у цитоплазмі і міофібробластоподібні клітини, цитоплазма яких була заповнена філаментозними структурами (рис. 6.2.2.12, 6.2.2.13).

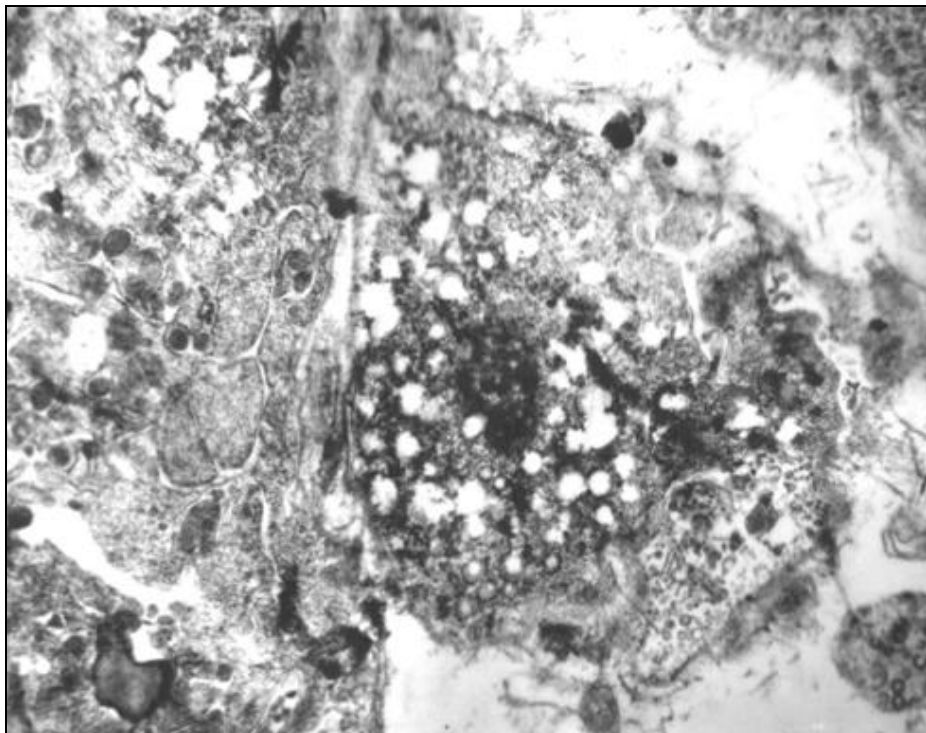


Рис. 6.2.2.11 – Підшлункова залоза. Зірчаста клітка з невеликим ядром і скупченням ліпідів у цитоплазмі. Контрастування по Рейнольдсу. ЕМВ-100БР. УВ. 17100

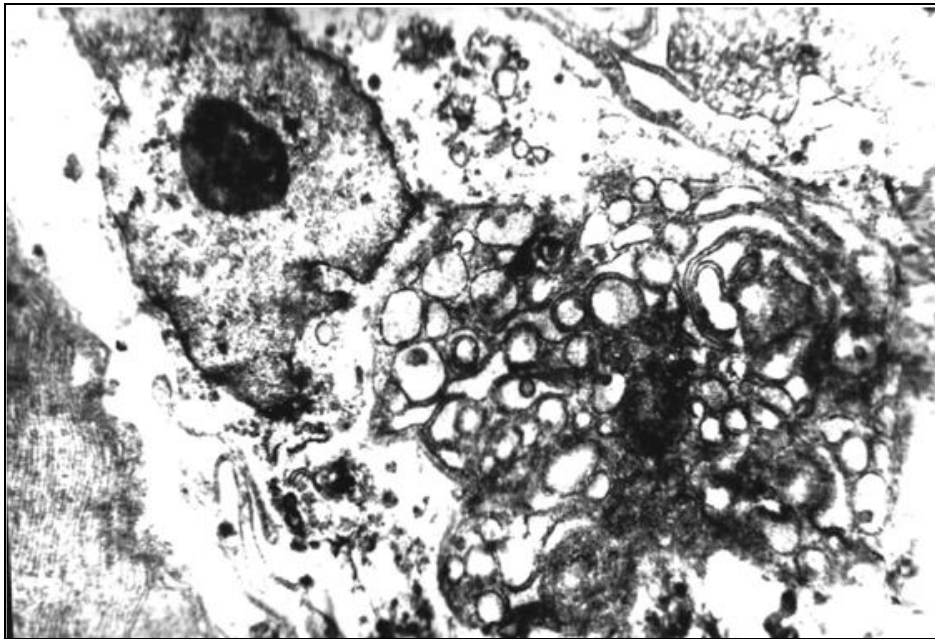


Рис. 6.2.2.12 – Зірчаста і міофібробластична клітини. Підшлункова залоза. Контрастування по Рейнольдсу. ЭМВ-100БР. Ув. 14500

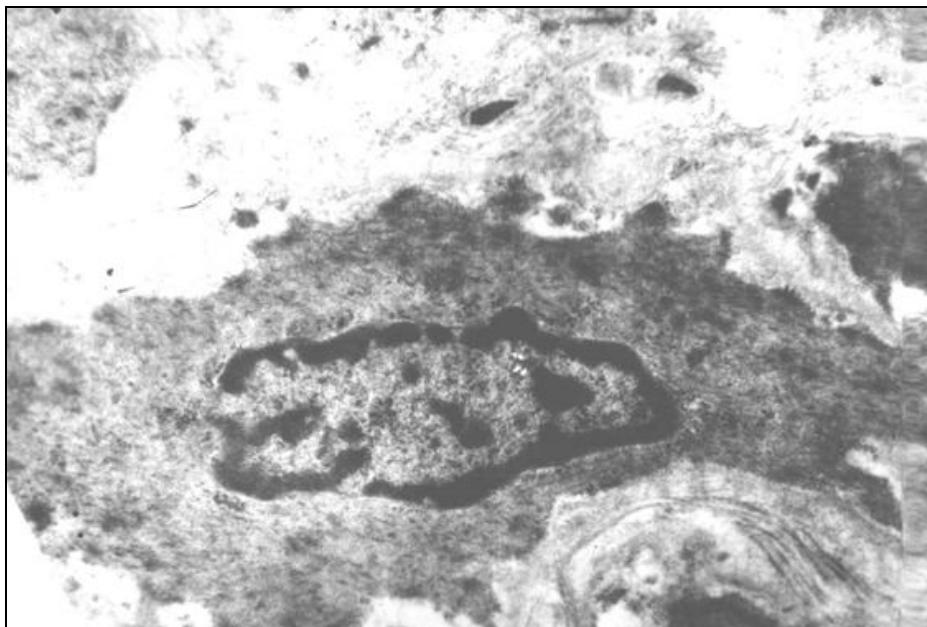


Рис. 6.2.2.13 – Підшлункова залоза. Осередок фіброзу. Міофібробластоподібна клітина. Цитоплазма з філаментозними структурами. Контрастування по Рейнольдсу. ЭМВ-100БР. Ув. 17400

Виявлення зірчастих клітин у всіх біоптатах підшлункової залози і печінки підтверджувало дані про активацію процесу фіброгенезу паралельно з запальними та онкологічними процесами при обструкції ПДЗ. Відомо, що

при пошкодженні основним продуцентом ПКМ в печінці є зірчасті клітини [119].

Внаслідок пошкодження спостерігається їх активація або диференціювання в фіброгенні міофібробласти. Присутність міофібробластів в поєднанні з переважанням колагену I типу в зонах пошкодження може свідчити про порушення процесу нормальної репарації. У розвитку фіброзно-склеротичних змін в печінці і підшлунковій залозі значну роль відіграє депонування фібрилярного колагену I типу, який не визначається в нормальній підшлунковій залозі і відноситься до фібрилоутворюючих колагенів і виявляється переважно в склеротично зміненій і рубцевій тканині.

Будучи спочатку позитивним, процес загоєння стає патологічним в умовах безконтрольного ремоделювання ПКМ та формування рубцевої тканини. В деяких випадках, це може призвести до недостатності органу та смерті [23].

Встановлено, що грубі гістологічні зміни і специфічна перебудова ПКМ в печінці і підшлунковій залозі з переважанням колагену I типу супроводжувалися, як правило, значними змінами цитокінового профілю, що свідчило про зниження, а в ряді випадків виснаження, резервів адаптації. Можна припустити, що розвиток післяопераційних ускладнень, в тому числі поліорганної недостатності, значною мірою зумовлений виявленими змінами. Оскільки незворотність фіброзно-склеротичного процесу пояснюється тим, що при тривалому фіброзі в печінці накопичується переважно колаген I типу, виявлені зміни можуть розглядатися як підстава для несприятливого віддаленого прогнозу [408].

У той же час у хворих з адекватною імунною відповіддю, але зниженням реактивності СТ, яка проявилася відсутністю тенденції до активації синтезу і накопичення колагену, ймовірні ускладнення, пов'язані зі зниженням швидкості процесів замісної регенерації і загоєння ран.

Таким чином, оцінка функціонального стану СТ може лежати в основі оцінки ризику розвитку післяопераційних ускладнень запального,

деструктивного, системного і поліорганного характеру в умовах гострої обструктивної патології ПДЗ. Ступінь фіброзних змін в паренхіматозних органах і активність склеротичного процесу є важливим прогностичним критерієм, що визначає якість життя пацієнтів у віддаленому періоді.

Враховуючи, що однією з найбільш актуальних проблем в хірургічній практиці продовжує залишатися проблема зниження ризику розвитку післяопераційних ускладнень і рецидивів, в нашій роботі була поставлена мета виявити критерії для оцінки резервів фізіологічної адаптації ФССТ, які не залежать від конкретної нозології і можуть бути додатковим універсальним критерієм для вибору тактики ведення хворого.

Для вирішення поставленої задачі нами були обстежені хворі з гідронефрозом і різними видами патології ПДЗ. Будь-яка операція супроводжується місцевою та системною відповіддю на хірургічну травму і може призвести до збільшення вже наявних порушень адаптаційних резервів. Встановлено, що у реалізації цієї відповіді однією з визначальних ланок є функціональний стан СТ та її реакція на пошкодження. Передопераційний фон на рівні ФССТ впливає на результат хірургічного лікування. Порушення процесів регенерації, неспроможність операційних швів, утворення спайок та інші ускладнення важко прогнозовані без урахування реакції СТ на пошкодження.

Існує безліч критеріїв для оцінки операційних ризиків, які ґрунтуються на аналізі загальноклінічних даних і залежать від виду патології. На їх підставі вибирається тактика оперативного лікування. Однак до теперішнього часу методів, які виключають помилки при оцінці ризику післяопераційних ускладнень не існує. Тому надзвичайно важливо доповнити існуючі методи аналізом фізіологічних резервів СТ, оскільки саме вони вирішальним чином впливають не тільки на перебіг процесів репарації, але і визначають адаптаційні можливості регуляторних систем всього організму. Зрив адаптації на рівні ФССТ неминуче призводить до цілого ряду локальних і системних ускладнень.

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ КОРЕЛЯЦІЙНИХ ЗВ'ЯЗКІВ ТА МЕТААНАЛІЗ ОТРИМАНИХ ДАНИХ

У механізмі регуляції процесів на рівні ФССТ задіяно дуже багато факторів. Це механізми гормональної регуляції, які безпосередньо беруть участь в запуску певних процесів в структурах СТ, наприклад, кальцитонін, остеокальцин та інші [102, 407, 437]. Великий вплив мають гормони дія яких опосередкована, такі як паратиреоїдний гормон, інсулін, глюкокортикоїди, серотонін, адреналін та ін. [309, 466]. Певний вплив мають навіть такі гормони як естрадіол [107, 261, 323, 330, 377].

В регулюванні процесів в СТ задіяні майже всі компоненти імунної системи. Насамперед її клітинна ланка, майже усі класи лімфоцитів та макрофагів [108, 240, 241]. Особливу роль мають клітини макрофагального ряду, які є невід'ємною частиною СТ. Насамперед це фіброкласти, остеокласти, хондрокласти та подібні тканиннспецифічні клітини [31, 60, 255, 396].

Безпосередньо на активацію проліферативних процесів в СТ впливають механізми гемостазу. Найбільш вагома дія тромбоцитарних факторів.

Дія усіх процесів регулювання СТ опосередкована молекулярними міжклітинними медіаторами. Усі вказані процеси взаємопов'язані, мають дуже багато зворотних зв'язків. Наприклад, такий класичний інтерлейкін як ІЛ-6, є також активатором фібробластів, які є одночасно також і продуцентами ІЛ-6.

В зв'язку с цим, були досліджені взаємозв'язки між рівнями різних цитокінів у тварин експериментальних груп.

Результати аналізу кореляцій в контрольній групі щурів, яку складали інтактні тварини, представлено в таблиці 7.1.

Таблиця 7.1

## Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у інтактних щурів

Цитокіни	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипо-нектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	- 0,36	- 0,65	0,30	0,36	-
OPG	-	-	-	-	-	-	-
IL-1RA	- 0,36	-	-	0,42	-	- 0,46	0,41
TGF- $\beta$ 1	- 0,65	-	0,42	-	-	-	-
Адипо-нектин	0,30	-	-	-	-	-	0,35
Вісфатин	0,36	-	- 0,46	-	-	-	- 0,34
IL-17	-	-	0,41	-	0,35	- 0,34	-

Виявлено позитивну кореляцію між рівнем адипонектину та рівнем IL-17 ( $r = 0,35$ ) ( $p < 0,05$ ), негативну кореляцію між рівнем вісфатину та рівнем IL-17 ( $r = - 0,34$ ) ( $p < 0,05$ ) та позитивну кореляцію між рівнем IL-1RA та рівнем IL-17 ( $r = 0,41$ ) ( $p < 0,05$ ). Взаємопов'язаними також виявилися рівні RANKL та адипонектину – позитивна кореляція ( $r = 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та вісфатину – позитивна кореляція ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), а також RANKL та IL-1RA – негативна кореляція ( $r = - 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ). Між рівнем IL-1RA та рівнем вісфатину спостерігалася негативна кореляція ( $r = - 0,46$ ) ( $p < 0,05$ ), рівнем IL-1RA та рівнем вісфатину спостерігалася негативна кореляція ( $r = - 0,46$ ) ( $p < 0,05$ ) та між рівнем TGF- $\beta$ 1 та RANKL – негативна кореляція ( $r = - 0,65$ ) ( $p < 0,05$ ).

У групі з порушенням метаболізму кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів (табл.7.2) виявлено позитивну кореляцію між рівнем TGF- $\beta$ 1 та рівнем IL-17 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), між рівнем OPG та рівнем адипонектину ( $r = 0,56$ ) ( $p < 0,05$ ) та між рівнем IL-1RA та рівнем OPG ( $r = 0,50$ ) ( $p < 0,05$ ), крім того спостерігалася позитивна кореляція між рівнем адипонектину та рівнем IL-1RA ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ).



Таблиця 7.2

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у щурів з глюкокортикоїдною моделлю порушень метаболізму кісткової тканини

Цитокіни	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипо-нектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	-	-	-	-	-
OPG	-	-	0,50	-	0,56	-	-
IL-1RA	-	0,50	-	-	0,29	-	-
TGF- $\beta$ 1	-	-	-	-	-	-	0,29
Адипо-нектин	-	0,56	0,29	-	-	-	-
Вісфатин	-	-	-	-	-	-	-
IL-17	-	-	-	0,29	-	-	-

Результати аналізу кореляцій у групі щурів з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запальним процесом, представлені в табл.7.3.

Таблиця 7.3

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у щурів з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запаленням

Цитокіни	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипо-нектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	-	-	-	-	0,29
OPG	-	-	- 0,50	0,55	- 0,36	-	0,52
IL-1RA	-	- 0,50	-	- 0,30	-	0,33	-
TGF- $\beta$ 1	-	0,55	- 0,30	-	-	- 0,30	-
Адипо-нектин	-	- 0,36	-	-	-	-	- 0,30
Вісфатин	-	-	0,33	- 0,30	-	-	0,58
IL-17	0,29	0,52	-	-	- 0,30	0,58	-

В цій групі спостерігалася позитивна кореляція між рівнем RANKL та рівнем IL-17 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), між рівнями OPG та TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,55$ )

( $p < 0,05$ ), OPG та IL-17 ( $r = 0,52$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та вісфатину ( $r = 0,33$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-17 та вісфатину ( $r = 0,58$ ) ( $p < 0,05$ ), а також негативна кореляція між рівнями OPG та IL-1RA ( $r = - 0,50$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та адипонектину ( $r = - 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та IL-1RA ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та вісфатину ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-17 та адипонектину ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ).

У групі щурів з ХНН (табл.7.4) позитивна кореляція відзначалася між рівнями OPG та RANKL ( $r = 0,59$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та вісфатину ( $r = 0,48$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та IL-17 ( $r = 0,51$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та адипонектину ( $r = 0,47$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та IL-17 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-17 та вісфатину ( $r = 0,84$ ) ( $p < 0,05$ ). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та IL-1RA ( $r = - 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та адипонектину ( $r = - 0,63$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-1RA ( $r = - 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та TGF- $\beta$ 1 ( $r = - 0,53$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та вісфатину ( $r = - 0,32$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та IL-17 ( $r = - 0,58$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та вісфатину ( $r = - 0,73$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-17 ( $r = - 0,43$ ) ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 7.4

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у щурів з хронічною нирковою недостатністю

Цитокіни	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипонектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	0,59	- 0,29	-	- 0,63	0,48	0,51
OPG	0,59	-	- 0,31	-	-	-	-
IL-1RA	- 0,29	- 0,31	-	- 0,53	-	- 0,32	- 0,58
TGF- $\beta$ 1	-	-	- 0,53	-	0,47	-	0,29
Адипонектин	- 0,63	-	-	0,47	-	- 0,73	- 0,43
Вісфатин	0,48	-	- 0,32	-	- 0,73	-	0,84
IL-17	0,51	-	- 0,58	0,29	- 0,43	0,84	-

Результати аналізу кореляцій у групі щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом представлені в таблиці 7.5.

Таблиця 7.5

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у щурів з хронічною нирковою недостатністю та глюкокортикоїдним впливом

Цитокіни	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипо-нектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	- 0,52	0,61	- 0,39	0,55	0,54
OPG	-	-	-	-	-	- 0,28	0,64
IL-1RA	- 0,52	-	-	- 0,29	-	- 0,31	-
TGF- $\beta$ 1	0,61	-	- 0,29	-	-	0,43	0,46
Адипо-нектин	- 0,39	-	-	-	-	- 0,37	- 0,43
Вісфатин	0,55	- 0,28	- 0,31	0,43	- 0,37	-	-
IL-17	0,54	0,64	-	0,46	- 0,43	-	-

У цієї групи позитивна кореляція відзначалася між рівнями TGF- $\beta$ 1 та RANKL ( $r = 0,61$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та вісфатину ( $r = 0,55$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та IL-17 ( $r = 0,54$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-17 ( $r = 0,64$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та вісфатину ( $r = 0,43$ ) ( $p < 0,05$ ). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та IL-1RA ( $r = - 0,52$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та адипонектину ( $r = - 0,39$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та вісфатину ( $r = - 0,28$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та вісфатину ( $r = - 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та TGF- $\beta$ 1 ( $r = - 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та вісфатину ( $r = - 0,37$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-17 ( $r = - 0,43$ ) ( $p < 0,05$ ).

Для вирішення завдань дослідження недостатньо розглядати лише приватні зв'язки між окремими цитокінами, важливо узагальнити всі отримані дані та виявити ієрархію їх взаємозв'язків. За отриманими нами даними та узагальненням даних літератури, загальні механізми регуляції ФССТ можна представити у вигляді схеми, яка поєднує процеси регуляції

системою міжклітинних медіаторів, енергетичного обміну, елементи нервової та імунної регуляції (рис.7.1). Ключовими ланками або перемикачами цієї системи є міжклітинні медіатори.

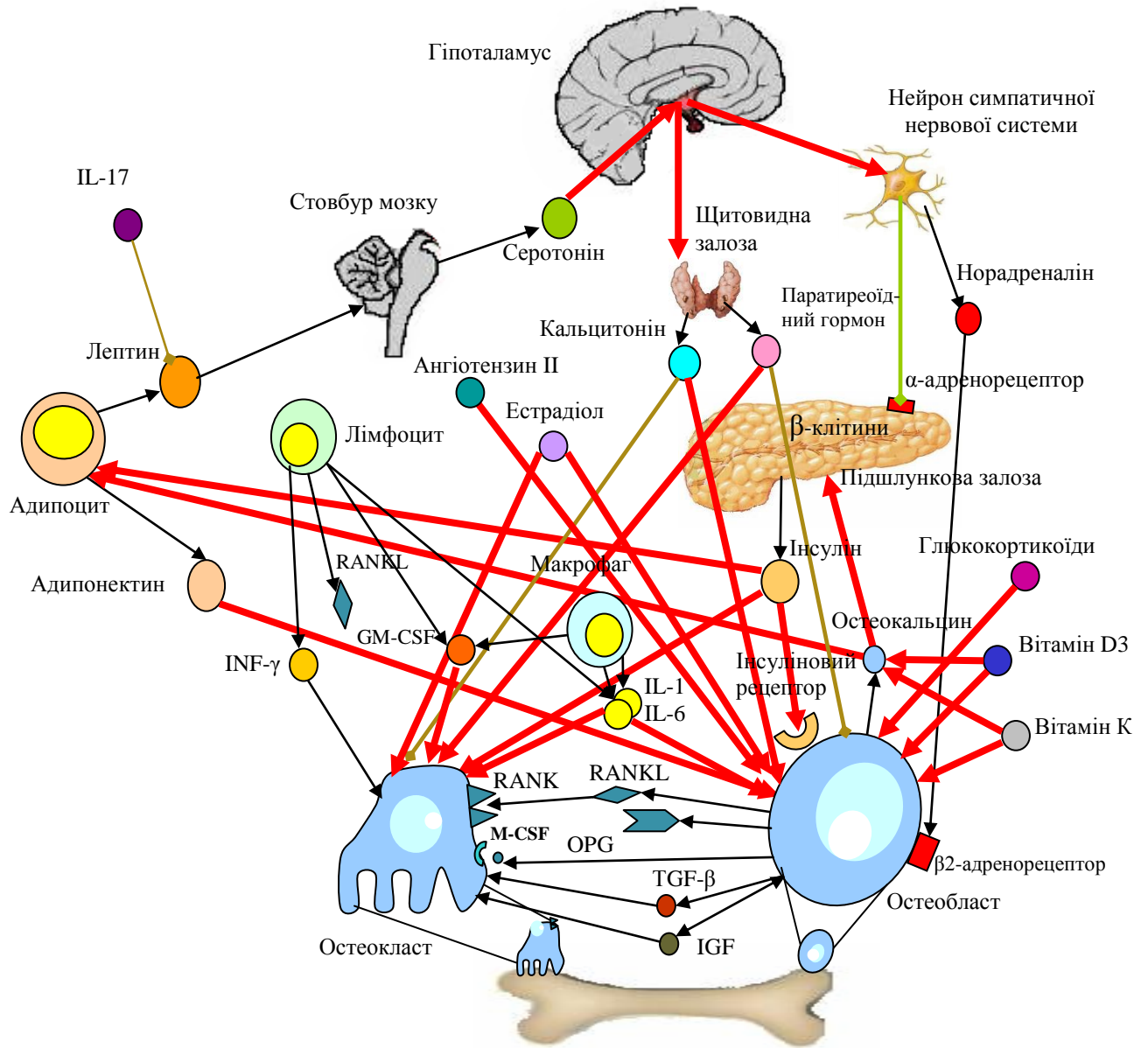


Рис. 7.1 – Загальна схема регуляції процесів ремоделювання СТ та енергетичного обміну організму системою міжклітинних медіаторів та гормонів

Узагальнююча схема, що відтворює впливи різних міжклітинних медіаторів на різних учасників двох протилежних процесів ремоделювання СТ – синтезу та резорбції кісткової тканини – остеобластів та остеокластів, представлено на рис. 7.2.

Як можна бачити, частина молекулярних медіаторів впливає на остеокласти, які відповідальні за резорбцію, частина – на остеобласти, які відповідальні за синтез.

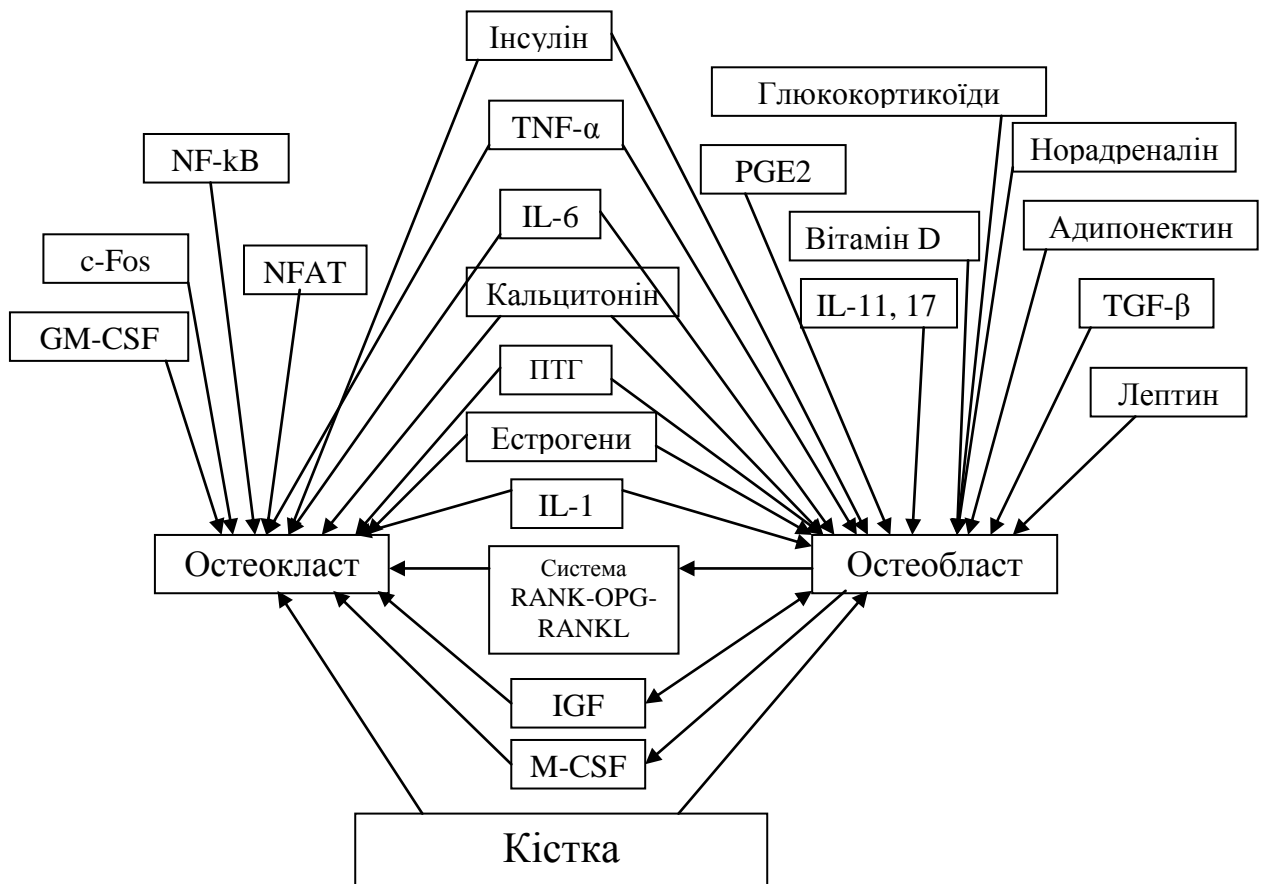


Рис. 7.2 – Загальна схема регуляції процесів ремоделювання СТ системою міжклітинних медіаторів та гормонів

Такі посередники як TNF- $\alpha$ , IL-6, кальцитонін, паратиреоїдний гормон, IL-1, інсулін та естрогени мають дію через остеокласти та остеобласти на резорбцію та синтез – одночасно. Особливе місце в ремоделюванні СТ має система RANK-RANKL-OPG, специфічна для кісткової тканини, яка відіграє ключову роль в процесах регуляції [40, 41].

Таким чином, регуляторні процеси на рівні ФССТ знаходяться під управлінням різних регуляторних шляхів. Найбільш значущими з них є: система RANK-RANKL-OPG; тромбоцитарна ланка, що включає регуляторний шлях, реалізований через тромбоцитарні фактори росту; адипокінова ланка. У той же час багато цитокінів беруть участь у реалізації

відразу декількох регуляторних шляхів. Так, наприклад, відомо, що ІЛ-6 є прозапальним цитокіном, стимулюючим запальні процеси на початковому етапі їх розвитку [302].

Поряд із цим також відома пригнічувальна дія ІЛ-6 на запальну реакцію шляхом гальмування синтезу ряду прозапальних субстанцій. На більш пізніх етапах запального процесу ІЛ-6 входить до сигнального шляху активації фібробластів і при цьому стимулює протизапальні процеси. Так, встановлено, що ІЛ-6 пригнічує синтез ІЛ-1 і TNF- $\alpha$  [397], але індукує продукцію рецепторного антагоніста ІЛ-1 (ІЛ-1 RA) і апоптоз нейтрофілів. Таким чином, дія ІЛ-6 дуже різнопланова. З одного боку він є дуже важливим прозапальним цитокіном, з іншого він діє як індуктор протизапальних процесів, пригнічує синтез багатьох «ранніх» прозапальних цитокінів, та активує синтез протизапального цитокіну (ІЛ-1 RA), що миттєво блокує активність прозапального ІЛ-1. У зв'язку з цим літературні дані щодо кореляційних зв'язків інтерлейкінів на різних стадіях різних патологічних процесів багато в чому суперечливі. Для інших інтерлейкінів також є суперечливі відомості про їх участь у різних регуляторних шляхах залежно від стадії, локалізації та особливостей конкретної патології. Тому кореляційний аналіз дає інформацію про стан регуляторних взаємозв'язків тільки в дуже обмеженому часовому інтервалі. За цими даними складно судити про порушення цитокінового балансу, який в теперішній час вважається важливим фактором розвитку патології, що знижує достовірність діагностики та прогнозу.

Таким чином, аналіз відхилень та приватних кореляцій не дає можливості виявити загальні закономірності реакції ФССТ на пошкодження та механізми ремоделювання СТ. Тому найбільш значущим представляється аналіз не дисбалансу окремих цитокінів, а дисбалансу регуляторних шляхів, до яких вони входять. Для аналізу дисбалансу регуляторних шляхів недостатньо лише оцінки локальних кореляційних зв'язків, необхідний одночасний аналіз кореляційної матриці, що забезпечує оцінку взаємозв'язків між усіма параметрами системи і виявлення основних груп факторів, що

характеризують взаємодію основних регуляторних шляхів, які впливають на формування патології.

Для узагальнення, мінімізації даних та виявлення основних компонентів механізмів регуляції, проведений метааналіз даних за допомогою статистичних методів, а саме факторного аналізу. Метод заснований на аналізі матриці кореляцій всіх наявних даних, групуванні та інтерактивній процедурі максимізації дисперсії.

Нами був проведений факторний аналіз рівнів усіх досліджених показників. На першому етапі була обчислена оптимальна кількість факторів, що можливо обрати. Було задіяне кілька критеріїв виділення факторів (наприклад, критерій «кам'янистого осипу» Кеттелла). Графік власних значень з використанням критерію «осипу» Кеттелла наведено на рис. 6.3. За Кеттеллом, точка на графіку, де безперервне падіння власних значень зліва направо уповільнюється, і після якої рівень інших власних значень відображує тільки випадковий «шум», відповідає числу факторів. На рис.7.3 ця точка відповідає числу факторів, рівному 3 (як показано стрілкою).

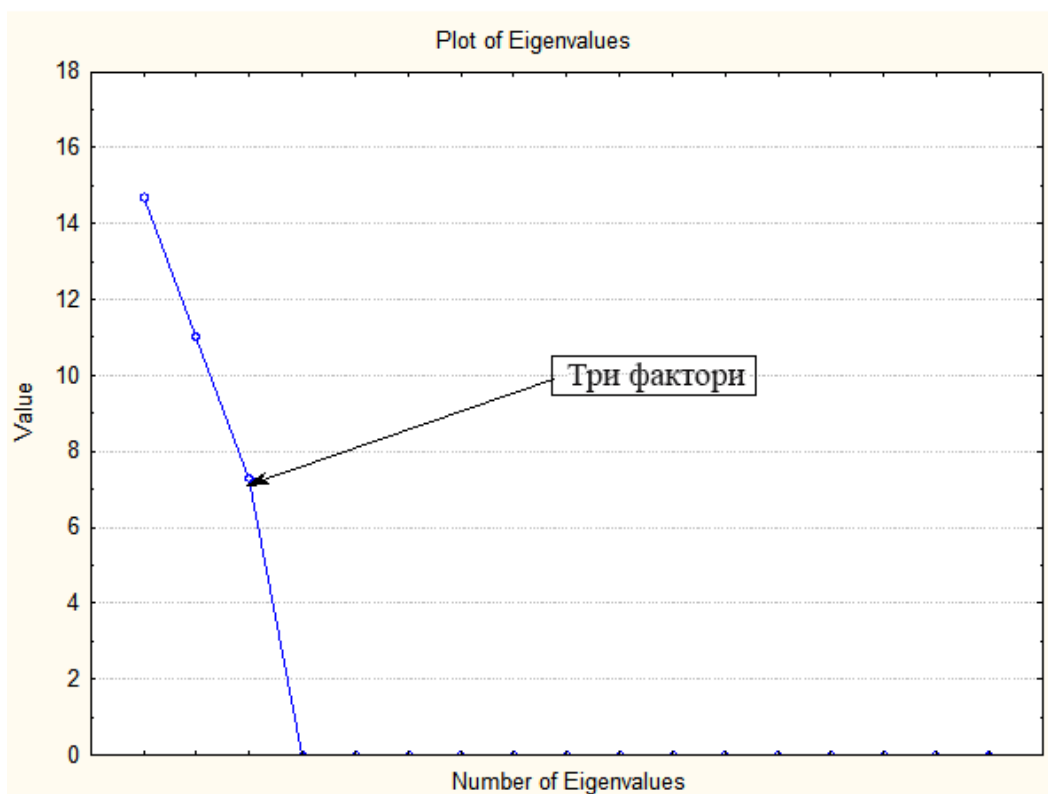


Рис. 7.3 – Процедура витягу факторів з використанням критерію Кеттелла

Таблиця с власними значеннями, відсотком загальної дисперсії, накопиченими власними значеннями та накопиченими відсотками представлена нижче (табл.7.6).

Таблиця 7.6

## Витяг факторів у факторному аналізі

Eigenvalues Extraction: Principal components				
Value	Eigenvalue	% Total variance	Cumulative Eigenvalue	Cumulative %
1	14,68217	44,49143	14,68217	44,4914
2	11,03969	33,45360	25,72186	77,9450
3	7,27814	22,05497	33,00000	100,0000

Як видно з таблиці, власне значення для першого фактора дорівнює 14,68217, тобто частка дисперсії, що пояснюється першим фактором дорівнює приблизно 44,5%. Другий та третій фактори включають у себе близько 11% та 7% дисперсії відповідно. У відповідності до критерію Кайзера, необхідно залишити фактори з власними значеннями більшими 1. З наведеної вище таблиці виходить, що за критерієм Кайзера необхідно вибрати три фактори. Це підтверджує адекватність вибору кількості факторів, а також попередні результати.

Найбільш адекватними обчислювальними методами обертання для отримання простої структури є методи обертання групи Varimax. Результати обертання факторів Varimax виявили, що найвищі навантаження змінних розподілені достатньо рівномірно між всіма трьома факторами, з чого можна зробити висновок, що число факторів обрано правильно. Якщо змінна не віднесена до жодного з факторів, то її привласнюють фактору, за яким змінна має найвищі навантаження. Неоднозначну змінну (RANKL), яка має приблизно однакові за абсолютною величиною максимальні навантаження за



двома факторами, відносять до факторів 2 та 3. Наглядне розподілення змінних за факторами представлено на рис. 7.4.

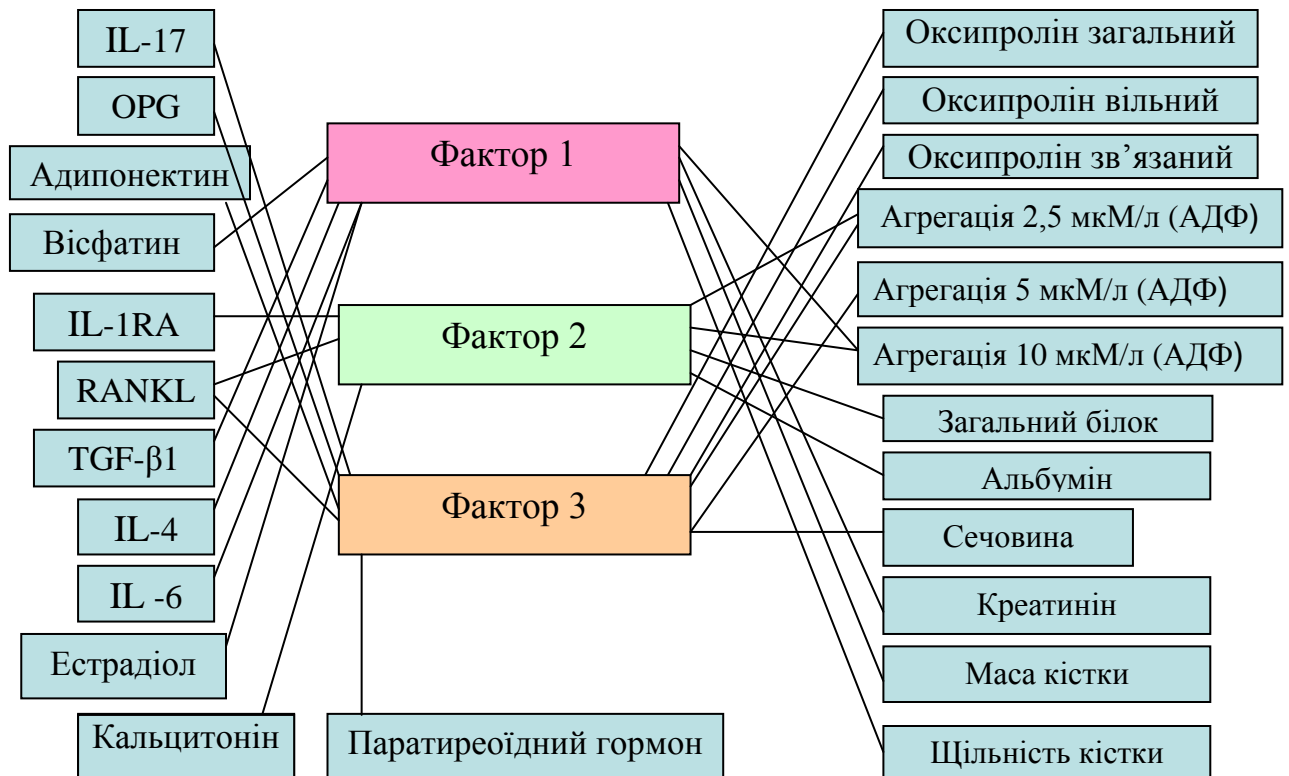


Рис. 7.4 – Профілі показників, що характеризують фактори, які змінюють характер ремоделювання СТ

Перший фактор об'єднує рівні IL-6, IL-4, TGF- $\beta$ 1, вісфатину, масу та щільність кістки. Крім того, цьому фактору відповідають параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктору 10 мкмоль/л (рис. 7.5).

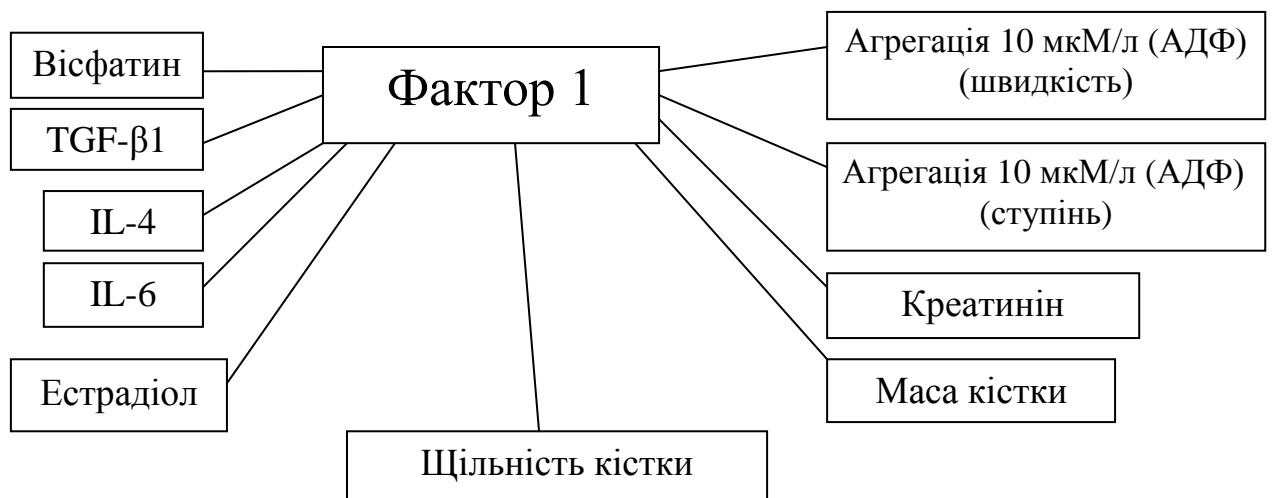


Рис. 7.5 – Профілі показників, що характеризують «Фактор 1»

Оскільки до цього фактору відноситься ключовий показник патологічного ремоделювання найбільшої за масою частини СТ – кісток (їх маса та щільність), то інші показники цього фактору є, з найбільшою вірогідністю, найвагомішими у механізмі для маніфестації патологічного процесу. ІЛ-6 є дуже мультифункціональним фактором міжклітинної взаємодії, який можна розглядати не тільки як прозапальний, але і як протизапальний цитокін. Його роль набагато многогранніша.

Вважається, що біологічна роль ІЛ-6, в першу чергу, полягає в індукції відновлювальних механізмів і активації імунного захисту (активація і диференціювання Т-клітин, визрівання В-клітин, посилення гемопоезу). Синтез ІЛ-6 активується багатьма чинниками.

В різних випадках його продукують різні клітини. При запаленні, травмах, гіпоксії, дії бактеріальних ендотоксинів ІЛ-6 синтезується активованими моноцитами/макрофагами, менше фібробластами, ендотеліальними клітинами [73]. ІЛ-6, поряд з клітинами імунної системи продукується клітинами СТ, та клітинами різних інших тканин.

Особливо несподіваним виявився факт його секреції жировою тканиною, причому в досить великих кількостях. Жирова тканина метаболічно дуже активна і виробляє більше 30 регуляторних пептидів – адипокінів [10, 294, 321, 369]. Жирова тканина після імунної системи є другим за величиною джерелом ІЛ-6 і продукує до 10-35 % циркулюючого цитокіну [144].

При ожирінні, метаболічному синдромі, цукровому діабеті 2 типу, що супроводжуються запаленням жирової тканини, секреція ІЛ-6 підвищується і його концентрація в крові зростає. Джерелом цитокіну при цьому є не тільки адипоцити, але і макрофаги, що інфільтрують жирову тканину. Причиною надмірної продукції ІЛ-6 може бути також типова для запалення жирової тканини гіпертрофія адипоцитів. Відомо, що гіпертрофовані жирові клітини продукують більше цитокіну, ніж не гіпертрофовані [144].

М'язовим клітинам також властива функція секретування ІЛ-6. Це стало підставою віднести цей цитокін також до «міокінів» – групи регуляторних субстанцій, що виробляються м'язовою тканиною [268]. Секреція ІЛ-6 помірно підвищена при активній діяльності скелетних м'язів, при хронічному слабо вираженому запальному процесі і максимально стимульована при гострій вираженій запальній реакції, такий як, наприклад, сепсис.

Таким чином, джерелом продукції ІЛ-6 є не тільки клітини імунної системи, але також клітини, які не мають до неї прямого відношення. Так, експресія ІЛ-6 виявлена в остеобластах, клітинах стромы кісткового мозку, кератиноцитах, синовіальних клітинах, хондроцитах, епітеліоцитах тонкої кишки, клітинах Лейдіга в яєчках, фолікулярно-зірчастих клітинах гіпофіза, клітинах стромы ендометрія, клітинах трофобласта і гладких м'язових клітинах кровоносних судин [73].

Дуже важливим є той факт, що дія ІЛ-6 розповсюджується на дуже різні тканини – він має дуже багато клітин-мішеней (таргет-клітин). ІЛ-6 реалізує свою дію шляхом утворення рецепторного комплексу на мембранах таргет-клітин.

Рецепторний комплекс складається з двох частин: специфічного рецептора ІЛ-6 і неспецифічного трансмембранного рецептора gp130. Останній є відповідальним за проведення сигналу всередину клітини. gp130 не специфічний для ІЛ-6. Він забезпечує подальше проведення сигналів всередину клітин і багатьох інших цитокінів і зустрічається практично у всіх видах клітин. Існує два види специфічного рецептора ІЛ-6: пов'язаний з мембраною клітин (ІЛ-6R) і розчинний, вільно циркулюючий в крові (s ІЛ-6R). Обидва ці рецептори активуються при приєднанні ІЛ-6.

За останні роки в літературі представлені дані про роль ІЛ-6 в патогенезі ряду захворювань, що супроводжуються підвищенням резорбції кісткової тканини: гіперпаратиреоз, хвороба Педжета, мієломна хвороба, ревматоїдний артрит, тиреотоксикоз, синдром Маккьюн-Олбрайта, ниркова остеодистрофія [486, 496].

Таким чином, підвищення швидкості ремоделювання і втрату кісткової тканини, які притаманні деяким захворюванням, можна пояснити не тільки надмірною діяльністю остеокластів внаслідок підвищеної продукції або посилення ефектів таких цитокінів, як ІЛ-6, але і змінами регулювання на рівні всієї ФССТ.

До «Фактору 1» було віднесено також дуже важливий цитокін, регулююча дія якого важлива на системному рівні – ІЛ-4. ІЛ-4 є сильним ростовим фактором для В-лімфоцитів. Сприяючи активації і розмноженню клітин, що покояться, він підсилює вироблення ІgЕ і ІgG, підтримує проліферацію серозних тучних клітин. За своїми функціями він є двійником або антагоністом деяких цитокінів. Так, ІЛ-4 здатний пригнічувати секрецію макрофагами ІЛ-1, ІЛ-6, TNF, підвищувати експресію антигенів HLA I і II класів (таких як інтерферон), посилювати проліферацію Т-лімфоцитів і активованих зрілих Т-клітин. Таким чином, ІЛ-4 відіграє важливу роль у розвитку алергічних та протизапальних реакцій.

Особливість ІЛ-4, що відрізняє його від інших цитокінів, полягає в наявності видової специфічності. Так, ІЛ-4 людини справляє біологічний вплив на клітини людини і мавп, але не мишей. У свою чергу ІЛ-4 миші діє тільки на клітини мишей. Джерелом ІЛ-4 є Т-хелпери, стимульовані мітогеном, гладкі клітини, неідентифіковані клітини стромы кісткового мозку. ІЛ-4 – продукт субпопуляції активованих Т-клітин – діє через специфічний рецептор, виявлений на Т-клітинах, що покояться, В-клітинах, макрофагах, тучних клітинах, та стромальних клітинах кісткового мозку, клітинах печінки, фібробластах [164].

Рецептори до ІЛ-4 представлені на поверхні клітин-мішеней. При цьому їх кількість збільшується в 5-10 разів при тій чи іншій формі активації клітин. Мішені регуляторної дії ІЛ-4, що мають відповідні рецептори, відносяться до найрізноманітніших клітинних типів.

Встановлена пряма залежність ступеня інтенсивності експресії фагоцитами цитокінових рецепторів ІЛ-4 та функціональної активності

клітин, залучених в індукційну фазу імунної відповіді, яка зумовлює якість презентації антигену ефекторним клітинам [170].

Регулює IL-4 і розвиток кістковомозкових клітин-попередників. Якщо IL-4 діє не в комплексі з іншими факторами він не змінює інтенсивність проліферації цих клітин, але посилює мітотичні процеси в поєднанні з іншими ростовими факторами. ТанDEM IL-4 з гранулоцитарним колонієстимулюючим фактором забезпечує більш активне розмноження клітин гранулоцитарного і моноцитарного паростків диференціювання, танDEM з еритропоетином – еритроїдних попередників, з IL-1 – розмноження клітин-попередників мегакаріоцитарного шляху розвитку.

До «Фактору 1» відійшов ще один дуже активний цитокін – TGF- $\beta$ 1. Це мультипотентний цитокін, що є важливим модулятором клітинного росту, запалення, проліферації і диференціювання, позаклітинного матричного депонування та апоптозу [291]. Існує три ізоформи TGF- $\beta$  - TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, кожна ізоформа кодується своїм унікальним геном, розташованим на різних хромосомах. Основною ізоформою, яка секретується клітинами імунної системи, є TGF- $\beta$ 1.

TGF- $\beta$  секретуються більшістю типів клітин, в основному в латентній формі, і володіють трьома основними біологічними функціями: інгібують проліферацію більшої частини клітин, але можуть стимулювати ріст деяких мезенхімальних клітин, надають імуносупресивний вплив і підсилюють формування ПКМ. Подвійний ефект TGF- $\beta$  обумовлений тим, що він діє як на клітини, що покояться, так і на активовані клітини. Незрілі клітини, що покояться, TGF- $\beta$  стимулює, в той час як та ж сама популяція клітин, але активованих, їм пригнічується. Є також дані, що локально TGF- $\beta$  посилює запалення, в той час як системно – інгібує його [313].

Вплив TGF- $\beta$  на клітину забезпечується завдяки сигнальному шляху TGF- $\beta$ , що включає специфічні мембранні рецептори та внутрішньоклітинні медіатори і регулює безліч біологічних процесів, у тому числі морфогенез, ембріональний розвиток, диференціювання стовбурових клітин, імунну

відповідь, запалення, а також формування і деградацію ПКМ. Рецепторами до TGF- $\beta$  є мембранні серин-треонінкінази I і II типів, а внутрішньоклітинний етап сигнального шляху TGF- $\beta$  підрозділяється на класичний і альтернативний.

Класичний шлях включає активацію білків Smad2 та Smad3, їх гетеромеризацію з участю кооперуючого Smad4 і проникнення гетеромерного комплексу всередину ядра, де вони виконують функцію активатора транскрипції генів, відповідальних за формування і деградацію ПКМ [313].

Дослідження останніх років показали, що TGF- $\beta$  задіяні в реалізації декількох сигнальних шляхів, TGF- $\beta$  можуть активувати не тільки канонічний каскад білків Smad, але і інші сигнальні шляхи. Завдяки цьому здійснюється перехресна взаємодія між різними шляхами. TGF- $\beta$  стимулює деградацію ПКМ в першу чергу через не-Smad альтернативні шляхи, що призводить до підвищеної експресії генів ММП, активатора плазміногену та ін., викликаючи протеолітичну деструкцію ПКМ [178]. Наявність багатьох рівнів і різних механізмів регулювання формування та деградації ПКМ роблять сигнальні шляхи TGF- $\beta$  (класичний і альтернативні) ключовою ланкою, що впливає на його будову.

Таким чином, можливість інтеграції декількох сигнальних шляхів безпосередньо і опосередковано, що активуються TGF- $\beta$ , розглядається в даний час в якості одного з можливих механізмів його неоднозначного функціонування.

Зміна активності різних компонентів сигнального шляху TGF- $\beta$  пов'язана з цілою низкою спадкових порушень СТ. При синдромі Марфана через порушення функції фібриліну, порушується секвестрація латентного комплексу TGF- $\beta$ , що робить його більш доступним для активації і веде до підвищення його концентрації.

Вважається, що цілий ряд проявів синдрому Марфана, зокрема аневризми аорти, обумовлені саме підвищенням активності сигнального

шляху TGF- $\beta$  [287]. Синдром Льюїса-Дитца 1-го і 2-го типу, виділений нещодавно із синдрому Марфана, викликаний мутаціями в обох субодиницях рецептора до TGF- $\beta$  (TBR1 і TBR2 відповідно). І хоча мутантні рецептори TGF- $\beta$  не в змозі передавати сигнали всередину клітини, незмінені рецептори (вони експресуються у гетерозиготних пацієнтів) надмірно активно реагують на TGF- $\beta$ , що фактично виражається в підвищеній активності сигнального шляху TGF- $\beta$ . Підвищення концентрації TGF- $\beta$  також спостерігається при судинному типі синдрому Елерса-Данло, що може бути обумовлено спробою компенсувати відсутність колагену III типу у цих пацієнтів [178].

Крім того, TGF- $\beta$  є профібротичним цитокіном, який стимулює продукцію білків ПМК в різних органах, надмірна експресія якого призводить до розвитку фіброзу [183]. Так, підвищена експресія TGF- $\beta$ 1 крім потовщення стулок і їх дисфункції викликає формування кардіального фіброзу, а збільшення вмісту білків ПМК в міокарді – появу його систолічної і діастолічної дисфункції [156].

TGF- $\beta$ 1 відіграє важливу роль в метаболізмі кісткового мозку, обговорюється його можлива роль як регулятора остеокласт-остеобластної взаємодії. Він стимулює проліферацію і диференціацію остеобластів і пригнічує кісткову резорбцію.

Те, що TGF- $\beta$  був віднесений до одного фактору («Фактору 1») з IL-4 і IL-6 відповідає його тісній взаємодії з ними у процесі регулювання активності ФССТ. Так само, як і IL-6, що також відійшов до «Фактору 1», він є багатофункціональним регулятором запального процесу.

Наступним цитокіном, що увійшов до «Фактору 1» був вісфатин. Він має властивості цитокіну і ферменту, що бере участь у біосинтезі нікотинамід-аденін-дінуклеотиду. Вісфатин синтезується переважно в вісцеральній жировій тканині. Він має інсулін-імітуючу дію, стимулюючи транспорт глюкози в периферичні тканини і гальмуючи продукцію глюкози гепатоцитами. Подібно до інсуліну, вісфатин пов'язує інсуліновий рецептор і стимулює аутофосфорилування рецептора і фосфорилування тирозину

інших білків, включаючи білки-субстрати рецептора інсуліну. Цей адипокін має інші місця зв'язування з рецепторами клітинної поверхні, ніж інсулін, і не конкурує з ним [376].

Іншим важливим аспектом біологічної ролі вісфатина є його імуномодуляторний ефект. Поряд з адипоцитами, значна кількість циркулюючого вісфатина виробляється макрофагами. При впливі на судинну стінку прозапальних агентів (наприклад, ліпопротеїдів низької щільності) експресія вісфатину макрофагами в місці пошкодження значно підвищується [157]. Рекombінантний вісфатин активізує лейкоцити і стимулює синтез цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) [375]. Тобто він знаходиться в одному колі регулювання, через зворотні зв'язки, із найбільш активними прозапальними цитокінами. Отже зміни рівнів всіх вищеназваних цитокінів є відображенням регулювання запального процесу на рівні ФССТ.

До «Фактору 1» відійшли також показники агрегації тромбоцитів, що отримані при індукції високими концентраціями АДФ. Відомо, що АДФ є одним із сильних індукторів агрегації тромбоцитів і виділяється із секреторних гранул тромбоцитів на стадії початкової активації під впливом колагену і тромбіну [331]. Якщо первинну відповідь на АДФ не буде підтримано вторинною агрегацією, то у відсутності фібриногену відбувається десенситизація рецепторів, що призводить до дезагрегації тромбоцитів. Вторинна агрегація опосередкована внутрішньоклітинною передачею сигналу через G-протеїни з підвищенням внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. У результаті активації простагландин-тромбоксанової системи відбувається секреція фактора Віллебранда (vWF), Р-тромбоглобуліна, тромбоспондина, фібронектина та інших активних компонентів з  $\alpha$ -гранул, що запускає процес вторинної агрегації.

Літературні дані свідчать про те, що в розвитку тромботичних процесів значну роль відіграє судинне запалення. Тромбоцити, які активно беруть участь у цьому процесі, здатні реагувати як на прозапальні, так і на протромботичні стимули [153]. Викид прозапальних цитокінів та хемокінів,



що містяться в  $\alpha$ -гранулах тромбоцитів, веде до зростання активації Т-клітин та міграції моноцитів. Ці молекули взаємодіють зі специфічними для них рецепторами, присутніми на тромбоцитах, викликають подальшу активацію тромбоцитів, експресію на них Р-селектину і CD40L. У результаті відбувається взаємодія тромбоцитів з лейкоцитами та утворення лейкоцитарно-тромбоцитарних агрегатів. Після цього посилюється експресія тканинного фактора з моноцитів, який викликає генерацію тромбіну на поверхні тромбоцитів, що підвищує прокоагулянтну активність крові та її згортання, а також посилення синтезу цитокінів та подальший розвиток запального процесу [248].

Таким чином, активація системи згортання є провідним індуктором запалення. Біологічний сенс активації системи згортання полягає в досягненні локального гемостазу. Водночас активований в ході біологічного ефекту згортання фактор Хагемана стає центральною ланкою подальшого розвитку запалення. Важливо, що з трьох концентрацій індуктора (АДФ) до «Фактору 1» відійшов тільки показник з найбільшою концентрацією. Враховуючі, що дуже важливим індуктором агрегації тромбоцитів є колаген, та те, що ці індуктори (колаген і АДФ) підсилюють дію кожного з них, можна стверджувати, що деструкція колагену не є тим фактором, що індукує агрегацію в даному випадку. Тобто реакція на деструкцію колагену з боку тромбоцитів не є тим показником, що пов'язаний з показниками, що згруповані у «Факторі 1». Таким чином, показники «Фактору 1» пов'язані багатьма зворотними зв'язками та практично усі відповідають запаленню в механізмах регуляції ФССТ.

Нам не вдалося встановити місце естрадіолу у регуляторних механізмах ФССТ. Відомо, що естрадіол викликає диференціювання ранніх остеобластів (клітин кісткоутворення), стимулює синтез колагену в кістці і інгібує активність остеокластів. Але у «Факторі 1» немає показників, що відповідають цим процесам.

Аналізуючи показники, що входять до «Фактору 1», треба зазначити, що міжклітинні медіатори (цитокіни та фактори росту) відіграють основну роль як у регуляції гострого та хронічного запалення, так і в ремоделюванні СТ. Наші данні підтверджуються і даними літератури. Такі цитокіни як ІЛ-6, ІЛ -1, TNF- $\alpha$ , та інші розглядаються також в якості важливих локальних медіаторів остеокласт-опосередкованої кісткової резорбції на тлі дефіциту естрогенів при постменопаузальному остеопорозі [407].

Примітно, що хронічне запалення також асоціюється з гіперпродукцією прозапальних цитокінів ІЛ-1, TNF- $\alpha$  та ІЛ-6, недоліком синтезу ІЛ-4, ІЛ-10 і рецепторних антагоністів ІЛ-1 та інших, що мають певну протизапальну активність [98]. В цілому, в основі запалення, що в подальшому веде к змінам на рівні ФССТ лежать загальні механізми, пов'язані з дисбалансом продукції прозапальних та протизапальних цитокінів.

Виявилось, що у «Факторі 2» (рис.7.6) згруповані показники, що відповідають за інші ланки регулювання ФССТ.

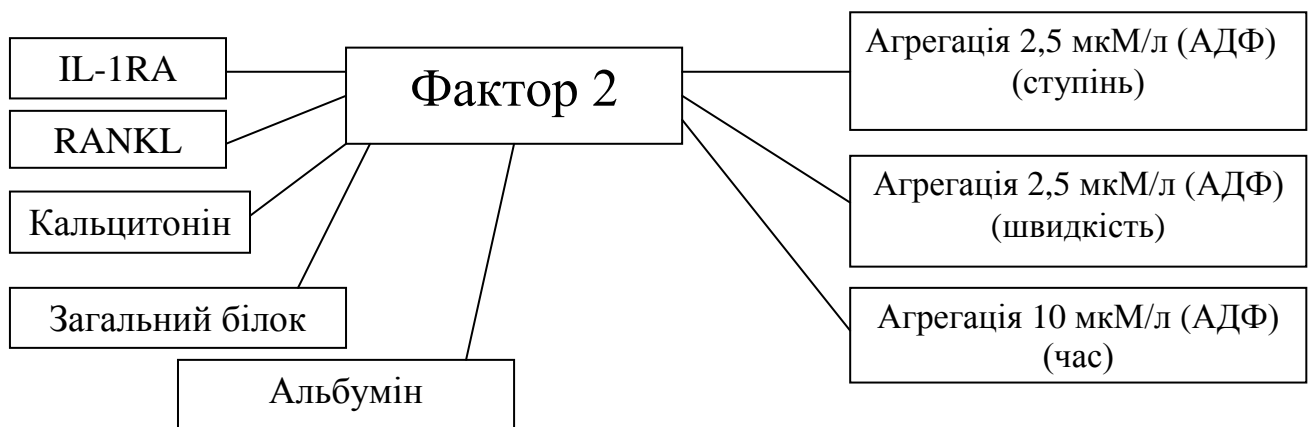


Рис. 7.6 – Профілі показників, що характеризують «Фактор 2»

«Фактору 2» відповідають рівні ІЛ-1РА, RANKL, кальцитоніну, параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 та 10 мкмоль/л, а також добова концентрація загального білку та альбуміну в сечі.

IL-1RA є рецепторним антагоністом IL-1 та одним з найважливіших протизапальних факторів. Даний цитокін в гострій фазі запалення продукують переважно макрофаги і моноцити, а також нейтрофіли, фібробласти, гепатоцити, ендотеліальні клітини, дендритні клітини. Механізм дії IL-1RA полягає в блокаді клітинного рецептора, специфічного для IL-1 $\alpha$  та IL-1 $\beta$  [368]. Тим самим відбувається регуляція активності потужного цитокіну запалення – IL-1, в тому числі і небажаних його ефектів для організму при надлишковій продукції.

Таким чином, оптимальний баланс співвідношення IL-1RA та IL-1 забезпечує адекватну реакцію організму у відповідь на пошкодження, а його зміна неминуче призводить до порушення функціонування цитокінової мережі, а, отже, і імунної системи в цілому.

Білок RANKL є членом суперсімейства TNF. RANKL виявлений у багатьох органах і тканинах: лімфатичних вузлах, кістковому мозку, тимусі, селезінці, пейєрових бляшках, мозку, серці, шкірі, скелетних м'язах, печінці, нирках, легнях і тканині молочної залози. Експресія RANKL відбувається під впливом ряду гормонів, факторів росту, пептидів і цитокінів (1,25-дігідроксівітаміну D, TNF- $\alpha$ , кісткового морфогенетичного білка 2, IL-1, IL-17) [284].

Продукується RANKL клітинами остеобластичної лінії, стромальними клітинами кісткового мозку, синовіальними клітинами, активованими Т-клітинами, В-клітинами, фібробластами, хондроцитами, ендотеліальними клітинами [317]. RANKL є трансмембранним білком, розчинним лігандом, який зв'язується з OPG та відіграє координуючу роль в остеокластогенезі, диференціюванні, активації і апоптозі остеокластів.

Важливим підготовчим етапом утворення остеокластів є активація RANKL, яка відбувається за допомогою зв'язування з RANK, розташованим на преостеокластах. OPG, що є природним рецептором-пасткою для RANKL, конкурує з RANK за зв'язування з RANKL. Блокуючи цей процес, OPG

пригнічує кісткову резорбцію, віддаючи пріоритет кістковому утворенню [20, 37].

Порушення зв'язування RANKL і OPG – істотна ланка патогенезу багатьох захворювань, що протікають із збільшенням кількості RANKL і супроводжуються посиленням кісткової резорбції [249, 259, 260, 304]. Сигнальний шлях RANKL також залучений в процес розвитку серцево-судинних захворювань, зокрема кальцифікації артерій і аорти, імунних і рідкісних генетичних захворювань [374].

Кальцитонін є поліпептидним гормоном, який секретується парафолікулярними С-клітинами щитовидної залози. У нормі кальцитонін бере участь у регуляції кальцієвого обміну, будучи фізіологічним антагоністом паратиреоїдного гормону. Кальцитонін має здатність знижувати рівень кальцію сироватки крові шляхом пригнічення кісткової резорбції та каналцевої реабсорбції кальцію.

У остеocyтах кальцитонін пригнічує ферменти, що руйнують кісткову тканину, в клітинах ниркових каналців – викликає підвищений кліренс і виділення іонів кальцію, магнію, фосфору, калію, натрію і тим самим сприяє зниженню концентрації кальцію в крові. Синтез і вивільнення кальцитоніну регулює рівень позаклітинного кальцію: його підвищення стимулює синтез і секрецію гормону, а зниження – інгібує ці процеси [69].

Таким чином виявилось, що показники, що сгруповані до «Фактору 2», пов'язані багатьма зворотними зв'язками при ремоделюванні СТ, зокрема кісткової тканини. Той факт, що до цього «фактору» відійшли показники агрегації тромбоцитів при найнижчій концентрації зовнішнього індуктору – АДФ 2,5 мкмоль/л, а саме швидкість та ступінь агрегації, може бути пов'язаний з попереднім активуванням агрегації колагеном. Такі зміни показників характерні для фази компенсації обмінних процесів в ФССТ.

«Фактор 3» поєднує рівні IL-17, OPG, RANKL, адипонектину, паратиреоїдного гормону, усіх фракцій ОП та параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 та 5 мкмоль/л (рис.7.7).



Рис. 7.7 – Профілі показників, що характеризують «Фактор 3»

IL-17 проявляє виражену прозапальну активність *in vitro* і *in vivo*, здатний індукувати синтез різних медіаторів запалення, включаючи TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, тим самим сприяючи розвитку аутоімунних патологічних реакцій [289]. Активація експресії IL-1 та IL-6, що мають деструктивний потенціал у запальному процесі, а також експресії MMP-9 призводить до тканинного ремоделювання і викиду продуктів деградації колагену. Водночас IL-17 виконує важливу фізіологічну функцію, беручи участь у захисті організму від бактеріальних і грибкових інфекцій.

За сучасними уявленнями, центральне місце в ініціюванні, регуляції і підтримці різноманітності імунної відповіді відіграють CD4<sup>+</sup> Т-хелперні клітини (Th). Утворення Th-клітин пов'язано зі стимуляцією Т-клітин за допомогою Т-клітинних рецепторів, костимуляторних молекул і цитокінів, що утворюються в процесі вродженої імунної відповіді. До недавнього часу превалювала концепція про існування двох популяцій Th-клітин: Th1-клітини, активовані IL-12, що синтезують INF- $\gamma$  і опосередковують клітинні імунні реакції; і Th2-клітини, що секретують IL-4, IL-5, IL-13 і опосередковують гуморальні імунні реакції [398]. Проте в даний час

доведено існування ще однієї субпопуляції Th-клітин, так званих Th17-клітин, які синтезують широкий спектр цитокінів, в першу чергу IL-17A, IL-17F, IL-21 та IL-22. Встановлено, що Th17-клітини відіграють фундаментальну роль в імунопатогенезі широкого спектра імунозапальних захворювань, включаючи ревматоїдний артрит, псоріаз, псоріатичний артрит, запальні захворювання кишківника, а також алергічних захворювань, трансплантаційного імунітету, ожиріння, канцерогенезу та ін. [121, 253, 360, 388].

Диференціація Th17 відбувається незалежним від Th1 і Th2 шляхом. До цих пір залишається багато суперечливих моментів, що стосуються вивчення цього питання. Важливу роль у розвитку Th17 відіграють IL-23, TGF- $\beta$ , IL-21, IL-1 $\beta$  [149, 169, 339].

У той же час ряд авторів схиляються до думки, що Th17-клітини є не стільки прозапальними, скільки виступають в ролі модуляторів імунної відповіді [250].

Останнім часом було виявлено, що Th17 відіграють важливу роль і в процесах, не пов'язаних із запаленням. Вони індукують проліферацію кістковомозкових мезенхімальних стовбурових клітин людини. IL-17 не тільки прискорює проліферацію, але також викликає міграцію мезенхімальних клітин, збільшує їх рухливість і диференціювання остеобластів [148, 277]. Це в свою чергу веде до активування синтезу не тільки кісткової тканини, а і по шляху RANK - RANKL - OPG до активування синтетичних процесів на рівні всієї системи СТ.

OPG являє собою глікопротеїн, що відноситься до сімейства рецепторів TNF, також відомий як остеокласт-інгібуючий або остеокласт-зв'язуючий фактор. Синтезується остеобластними клітинами, а також клітинами стромы, ендотеліальними клітинами судин і В-лімфоцитами, є ключовою ланкою інгібування диференціації та активації остеобластів, і тому має велике значення в процесі резорбції кісткової тканини. OPG діє як ендогенний рецептор-пастка для RANKL, блокуючи його взаємодію з власним

рецептором RANK, тим самим пригнічує мобілізацію, проліферацію та активацію остеокластів, порушуючи процес остеокластогенеза і пригнічуючи активність резорбції кісткової тканини [280]. Підтримання взаємозв'язку між RANKL і OPG є важливою умовою збереження балансу між резорбцією і формуванням в кістковій тканині, та в інших різновидах СТ.

Підтвердженням цього є також той факт, що до «Фактору 2» відійшов також паратиреоїдний гормон – поліпептидний гормон – один з основних регуляторів кальцієвого обміну в організмі. Він синтезується паращитовидними залозами у відповідь на зменшення концентрації кальцію в крові. Паратиреоїдний гормон активує остеокласти, тобто резорбцію кісток, та призводить до надходження кальцію і фосфору з кісток в кров. Концентрації паратиреоїдного гормону і кальцію в організмі мають зворотну залежність. Паратиреоїдний гормон індукує експресію RANKL на поверхні незрілих остеобластів, тим самим підвищуючи синтез RANKL і знижуючи синтез OPG.

До «Фактору 3» належить також адипонектин, який є білковим гормоном, що секретується переважно в жировій тканині. Даний білок є одним з ключових білків-регуляторів найважливіших метаболічних (анаболічних і катаболічних) процесів. Він впливає на вуглеводний і ліпідний обміни, бере участь у регуляції кров'яного тиску, запобігає виникненню запальних процесів в ендотелії кровоносних судин [11].

Ще один з маркерів утворення СТ належить до «Фактору 3», це рівень ОП в сечі і сироватці крові, який адекватно відображає інтенсифікацію процесу колагеноутворення [217] і є одним з найбільш важливих критеріїв ідентифікації колагену.

Таким чином, встановлено три основних групи показників, які відповідають визначеним «Факторам», і відображають цитокінові механізми участі та стан ФССТ при розвитку патологічного процесу.

Група 1 – об'єднує рівні вісфатину, IL-4, IL-6, TGF- $\beta$ 1, масу та щільність кістки. Крім того, до цієї групи належать параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 10 мкмоль/л.

Група 2 – включає рівні IL-1RA, RANKL, кальцитоніну, а також параметри агрегації тромбоцитів при концентраціях індуктора 2,5 та 10 мкмоль/л.

Група 3 – поєднує рівні IL-17, OPG, RANKL, адипонектину, паратиреоїдного гормону, усіх фракцій ОП та параметри агрегації тромбоцитів при концентраціях індуктора 2,5 та 5 мкмоль/л.

Характеризувати ці групи можна так:

Група 1 – відображає залучення до патологічного процесу системи СТ в цілому, яке виявляється при значних обсягах ураження і значній тривалості процесу, а також може бути одним з факторів хронізації і ризику рецидивування. Цитокіни, що входять до цієї групи саме ті, що при пошкодженні і запаленні вивільнюються та утворюються у вогнищі та периферичній крові у числі медіаторів запалення, які, в залежності від інтенсивності і розповсюженості процесу, залучають різні органи і системи – систему крові, імунну, нервову, ендокринну тощо, тобто посилюють місцеві і викликають загальні реакції організму при запаленні, останні ще називаються синдромом системної запальної відповіді (SIRS).

Той факт, що до цієї групи належать параметри агрегації тромбоцитів тільки при найвищій концентрації індуктора (10 мкмоль/л), свідчить про те, що механізми регулювання з боку тромбоцитарної ланки гемостазу також значною мірою включені до цих процесів. При більш низьких концентраціях індуктору система вже не в змозі реагувати, що також збігається із припущенням про залученість цієї ланки до системних реакцій при запаленні.

Той факт, що до групи 1 увійшли параметри наслідків порушення ремоделювання кістки (маса та щільність) свідчить, що дана група відображає саме патологічні механізми системного рівня, які охоплюють ФССТ в цілому, незалежно від того, де процес розпочався. Це



підтверджується тим, що до даної групи не увійшли показники локальних механізмів регулювання саме кісткової тканини за шляхом RANK- RANKL-OPG. Тобто дана група відображає зміни щільності та маси кісток, що відбуваються саме внаслідок розгортання системних процесів, а не локальних механізмів регуляції (шлях RANK-RANKL-OPG). Цей факт можна також трактувати, як зрив адаптації на локальних (тканинноспецифічних) рівнях, які вже не мають вирішального значення для процесів ремоделювання СТ, зокрема кісткової тканини.

Таким чином, група 1 відображає пошкодження і запалення, що розпочавшись з локального пошкодження СТ, розповсюджується на систему СТ в цілому, коли реакція ФССТ поряд з реакціями інших органів та систем при запаленні є одним з важливих компонентів SIRS. В залежності від реактивності організму і властивостей пошкоджуючого агента та відповідно перебігу процесу, ступінь залученості системи СТ є одним з провідних факторів хронізації патологічного процесу і ризику рецидивування.

Група 2 – компонент, що компенсує запалення та розпад структур СТ. До неї увійшов IL-1RA – цитокін, що збалансовує дію прозапальних цитокінів вже на початкових стадіях запального процесу. Вхідження до цієї групи також параметрів агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора в найменшій концентрації (2,5 мкмоль/л), свідчить про те, що він відображає достатність реактивності (фізіологічних резервів) системи регулювання СТ з боку системи гемостазу, яка є адекватною і при високих концентраціях індуктору.

Вхідження до цієї групи параметрів регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG, свідчить про відображення цією групою активності локальних механізмів регуляції, а відсутність параметрів активації обміну колагену (усіх фракцій ОП) свідчить про те, що ця група відображає достатність фізіологічних резервів ФССТ для компенсації патологічних змін, викликаних пошкодженням. При цьому відбувається фізіологічне ремоделювання СТ, що створює умови для природного перебігу

репаративної регенерації, відновлення функції пошкодженої тканини і, отже, сприятливого результату патологічного процесу. Показники групи 2 є найбільш значимими критеріями для оцінки зниження ризику розвитку ускладнень у ході моніторингу захворювань.

Таким чином, параметри, що входять до групи 2, відповідні за компенсаторні механізми, що діють на рівні ФССТ при достатньому рівні фізіологічних резервів, при якому пошкодження локалізоване, а на рівні ФССТ – компенсоване.

Група 3 – відображає активацію обмінних процесів на рівні ФССТ, зі зміщенням у бік превалювання синтезу над розпадом.

Ця група поєднує рівні IL-17, OPG та RANKL. IL-17 – це багатофункціональний цитокін, що регулює розвиток та процеси переходу запального процесу до наступних стадій. Він є посередником активації синтезу у структурах СТ та також може безпосередньо активувати фібробласти. До цієї групи також входять параметри агрегації тромбоцитів при концентраціях індуктора 2,5 та 5 мкмоль/л, що відображає активність тромбоцитарної ланки регуляції СТ та задіяність її регуляторних факторів (факторів росту фібробластів та ін.).

Входження до цієї групи параметрів обміну колагену (усіх фракцій ОП) підтверджує, що вона дійсно відображає дію механізмів активації обміну колагену, а входження зв'язаного ОП – превалювання процесів синтезу. Входження адипонектину та паратиреоїдного гормону також свідчить про активність різних шляхів активації обміну СТ на системному та локальних рівнях. Показники цієї групи найбільш інформативні для оцінки залученості ФССТ в патологічний процес на ранніх стадіях його розвитку, включаючи донозологічні стани.

Таким чином, ця група віддзеркалює активацію процесів обміну в ФССТ, які можуть бути як компенсованими, так і декомпенсованими, і відображає процес початку виснаження адаптаційних механізмів на шляхах регулювання на рівні міжклітинних взаємодій за допомогою цитокінів, або на

гормональному шляху та на шляху регулювання тромбоцитарної ланки системи гемостазу. Група 3 характеризує стан незадовільної адаптації, на якому функціональні можливості СТ знижені. Гомеостаз зберігається завдяки значному напруженню регуляторних систем або завдяки включенню компенсаторних механізмів.

## РОЗДІЛ 8

### ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ВИВЧЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

У теперішній час фокус уваги медичної науки зсувається з вивчення патогенезу окремих нозологій на аспект функціонування фізіологічних систем та їх взаємодії в умовах патології. Особливо важливі при цьому синергічні ефекти, які виникають при такій взаємодії. При цьому велике значення набуває системний підхід при дослідженні мультифакторних поліетіологічних патологій з метою встановлення загальних клітинно-молекулярних патогенетичних механізмів їх виникнення, прогресування та наслідків.

Встановлені нами основні закономірності стереотипної реакції ФССТ на пошкодження з урахуванням її адаптаційних резервів, дозволили запропонувати основні групи показників, які можуть бути використані для оцінки ступеня участі ФССТ у розвитку патологічних процесів.

Проведені нами дослідження показали провідну роль патологічної відповіді СТ та фіброзоутворення для розвитку, оцінки перебігу і прогнозу захворювань різного етіологічного походження. Використовуючи отримані результати, ми вивчили можливість їх застосування в клінічній практиці для визначення напрямків оптимізації алгоритмів діагностики, прогнозування перебігу та лікування: 1) для підвищення ефективності лікування хірургічних захворювань, їх діагностики, з'ясування ризику розвитку післяопераційних ускладнень, в тому числі рубцево-склеротичних (результати досліджень представлені в розділі 5); 2) підвищення ефективності лікування та прогнозування хронічних захворювань; 3) поліпшення діагностики донозологічних станів, оцінки популяційного здоров'я, моніторингу якості навколишнього середовища.

## **8.1 Вивчення показників фізіологічної системи сполучної тканини у хворих з хронічними захворюваннями нирок**

### **8.1.1. Значення оксипролінурії та екскреції глікозаміногліканів з сечею для ранньої діагностики нефросклерозу у хворих на хронічний пієлонефрит**

В якості модельної групи, що відбиває патологію СТ, ми використовували групи хворих на ХП. Для вибору оптимальних показників для оцінки ролі СТ в розвитку патологічного процесу ми взяли до уваги наступні факти. ХП – одне з найбільш частих захворювань людини. Він стоїть на другому місці по частоті після катару дихальних шляхів і, крім того, є найбільш частою формою захворювань нирок. ХП є найбільш частим захворюванням, яке призводить до розвитку ХХН, нефросклерозу і ХНН [543]. Згідно зі статистичними даними на території України поширеність інфекцій нирок зросла за останні роки на 47%, а ХП став причиною розвитку уремії в 1/3 випадків [418].

З тривалим перебігом, періодично загострюючийся, запальний процес в нирках призводить до прогресуючого зменшення маси діючих нефронів, їх атрофії і заміщення СТ – нефросклерозу [496]. Процес склерозування супроводжує розвиток захворювання протягом тривалого часу, тобто порушення обміну СТ розвиваються задовго до клінічних проявів. Тому ХП є гарною моделлю для вирішення завдань, поставлених у нашій роботі.

Оскільки біопсія нирки як метод діагностики не завжди доступна і є оперативним втручанням, що вимагає наявності спеціальних показань, представляється важливим розробка та впровадження в практику неінвазивних методів дослідження, що характеризують основну патологічну ознаку процесу – реакцію СТ нирок.

Таким чином, характер розвитку патологічного процесу зумовлює вибір показників з групи «Фактору 3». Оптимальним вибором в цьому

випадку видається дослідження вмісту ОП в сечі, метод неінвазивний і доступний для клініко-діагностичних лабораторій при невисокій вартості.

Встановлено, що у хворих на ХП обох груп рівень ОП в сечі достовірно підвищувався і становив: у хворих 1 групи –  $40,5 \pm 0,3$  мг/добу ( $p < 0,001$ ), у хворих 2 групи –  $61,2 \pm 9,00$  мг/добу ( $p < 0,001$ ) при нормі  $26,89 \pm 0,95$  мг/добу (табл.8.1.1.1). При цьому середнє значення рівня ОП у хворих 1 групи перевищувало середнє значення норми в 1,5 раза, а у хворих 2 групи – в 2,3 раза.

Таблиця 8.1.1.1

Середні величини добової екскреції оксипроліну з сечею у хворих на хронічний пієлонефрит

Групи хворих	ОП, мг/добу
1 група (ХП без ХНН)	$40,5 \pm 0,3^*$
2 група (ХП з ХНН)	$61,2 \pm 9,00^*$
Контроль	$26,89 \pm 0,95$

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,001$ )

Таким чином, перевищення середнього значення нормальних величин ОП у хворих з ХНН у 1,5 раза більше, ніж таке у хворих без ниркової недостатності, тобто хоча підвищення екскреції ОП спостерігалось в обох групах хворих, у хворих 2 групи середнє значення рівня ОП було значно вищим порівняно з таким у хворих 1 групи.

На рис.8.1.1.1 показаний розподіл значень екскреції ОП в сечі хворих на ХП при поділі усіх хворих на групи: менше 20 мг/добу, від 20 до 40 мг/добу, від 40 до 60 мг/добу і т. п. Ці значення відкладені по осі абсцис. По осі ординат відкладена кількість хворих у групі з концентрацією ОП, що лежить в даному діапазоні, яке виражене у відсотках (n %).

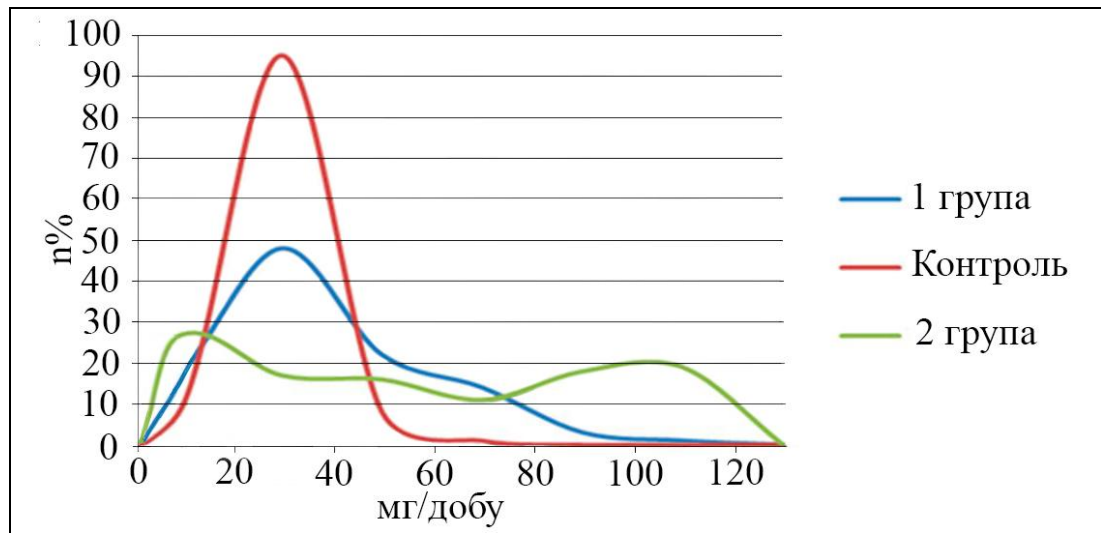


Рис. 8.1.1.1 – Розподіл значень екскреції оксипроліну з сечею у хворих на хронічний пієлонефрит

Більшість значень у контрольній групі знаходилися в діапазоні 20-40 мг/добу (95% випадків). У хворих 1 групи значення в цьому діапазоні перебували в 2,1 раза рідше (у 45% хворих). У 39% хворих 1 групи спостерігалися значення більше 40 мг/добу, в той же час як у контрольній групі таких величин виявлено не було. В області малих значень (менше 20 мг/добу) перебувало в 3,2 раза більше випадків (16%), ніж в контрольній групі (5%). Таким чином, у хворих на ХП без ХНН спостерігався значно більший розкид значень, ніж у практично здорових осіб, зі зміщенням в сторону збільшення концентрацій.

У хворих 2 групи ця тенденція ще більш виражена. У більшості хворих з ХНН добова екскреція ОП з сечею різко зростала – 61,9% хворих мали значення більше 40 мг/добу. Однак, у 23,8% хворих екскреція ОП не перевищувала 20 мг/добу, у 14,3% хворих знаходилася в діапазоні від 20 до 40 мг/добу.

Таким чином, для хворих без ХНН відмічено появу деякого числа випадків з підвищенням добової оксипролінурії, хоча значна частина хворих мала нормальні значення. У більшості хворих з ХНН спостерігалася виражена гіпероксипролінурія, а кількість хворих з вмістом ОП в межах норми зменшувалася.

В цілому, у хворих на ХП на різних стадіях патологічного процесу спостерігалось підвищення рівня добової екскреції ОП з сечею, найбільш виражене у хворих з ХНН.

Відомо, що вміст ОП підвищується як при захворюваннях з утворенням, так і з деструкцією сполучнотканинних елементів [451]. Збільшення синтезу ОП, як правило, пов'язано зі зміною кількісного співвідношення колагенобластів 1 і 2 типів, при якому збільшується вміст клітин 2 типу (фіброзні фібробласти), характерних для СТ, що швидко розвивається [475]. Є експериментальні дані про підвищення рівня синтезу фіброзних фібробластів порівняно з нормальними [474]. Ймовірно, тривалий запальний процес в нирках індукує проліферацію фібробластів і збільшення числа колагенпродукуючих клітин.

Деструкція СТ внаслідок патологічного процесу з утворенням ОП та інших продуктів деградації колагену, активує фібробласти і стимулює синтез колагену і фібрилогенез, що також призводить до збільшення вмісту ОП. Отже, збільшення добової оксипролінурії у хворих на ХП може бути пояснено вкладками обох взаємодоповнюючих процесів (синтез і розпад колагену).

Більш широкий розкид значень у хворих на ХП порівняно з контрольною групою, вірогідно, можна пояснити переважанням на певному етапі розвитку патологічного процесу запально-деструктивних змін або синтетичних процесів новоутворення СТ типу замісної регенерації.

Однак, слід враховувати, що гіпероксипролінурія у хворих з ХНН, особливо з пролонгованим перебігом, може бути значною мірою зумовлена розвитком ниркової остеодистрофії, яка за середніми статистичними даними спостерігається у 33-50% хворих з ХНН [242]. Ймовірно, у хворих з ХНН підвищення рівня ОП пов'язано в основному з деструкцією колагену в різних органах і тканинах (ренальна остеодистрофія та ін.) і внесок колагену нирки відносно невеликий.



Можна припустити, що в групах хворих без ХНН підвищення оксипролінурії визначається перебігом деструктивно-запального процесу в нирковій тканині і роль супутніх склеротичних процесів в інших органах для групи хворих в цілому, по всій видимості, невелика, хоча у окремих хворих не виключена можливість підвищення рівня ОП за рахунок позаниркових запально-деструктивних процесів. Таким чином, на ранніх стадіях захворювання спостерігається взаємозв'язок між активністю склеротичного процесу в нирках і вмістом ОП в сечі хворих на ХП.

Проведені нами дослідження показали, що рівень оксипролінурії відображає перебіг і активність склеротичного процесу на різних етапах його розвитку. Причому ці зміни спостерігаються вже на ранніх стадіях склерозу до розвитку його клінічних проявів. Запропонований метод неінвазивний і поєднує достатню інформативність з доступністю.

Для додаткового підтвердження наведених результатів ми досліджували інший важливий компонент позаклітинного матриксу СТ – ГАГ, які утворюють взаємопов'язані з колагеном надмолекулярні структури, і також відображають процеси ремоделювання СТ. Результати дослідження добової екскреції ГАГ представлені в таблиці 8.1.1.2.

Таблиця 8.1.1.2

Середні величини добової екскреції глікозаміногліканів з сечею у хворих на  
хронічний пієлонефрит

Групи хворих	ГАГ, мг/добу
1 група (ХП без ХНН)	8,5±0,04*
2 група (ХП з ХНН)	9,5±0,9*
Контроль	4,09±0,2

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,001$ )

Встановлено, що вміст ГАГ у сечі хворих обох груп достовірно підвищувався, перевищуючи норму більш, ніж у 2 рази. Більшість хворих без

ХНН (55%) мали значення ГАГ в діапазоні 5-10 мг/добу, 19% – в діапазоні 10-15 мг/добу. Різке підвищення екскреції ГАГ з сечею (більше 20 мг/добу) спостерігалось у 5% хворих 1 групи.

Різке підвищення екскреції ГАГ з сечею на ранніх стадіях захворювання може бути зумовлено як підвищенням їх синтезу, так і прискоренням розпаду макромолекулярних комплексів, що містять ГАГ. Збільшення концентрації ГАГ у сечі пов'язують з біосинтетичними, а також з деструктивними процесами в СТ [495].

Відомо, що ГАГ (крім гепарину) синтезуються в фібробластах, їх спеціалізованих формах. Отже, гіперглікозаміногліканурія, що спостерігалася у обстежених нами хворих, може бути обумовлена активацією фібробластів нирок в ході запального і склеротичного процесів. Збільшення кількості ГАГ у свою чергу є чинником, який активує запалення і патологічне антитілоутворення.

Тривалий запальний процес в нирці викликає деструкцію ниркової тканини: розриви базальної мембрани каналців, капсули клубочків з подальшим формуванням грубих рубців, деструкцію гемокапілярів ниркових тілець і епітеліоцитів каналців [496]. Провідну роль в тканинній деструкції відіграють протеолітичні ферменти поліморфно-ядерних лейкоцитів [256], під дією яких відбувається розпад макромолекулярних комплексів, до складу яких входять ГАГ.

У хворих з ХНН (2 група) гіперглікозаміногліканурія була ще більш виражена. Більшість хворих, так само як і в групах хворих без ХНН, мали значення в діапазоні 5-10 мг/добу (36% і 45% відповідно). Однак, кількість випадків в області високих значень збільшується порівняно з таким у хворих без ХНН. Так значення в діапазоні 10-15 мг/добу мали 28% хворих 2 групи (ХП з ХНН).

В цілому група хворих з ХНН характеризувалася широким розкидом значень, що може пояснюватися яскраво вираженим хвилеподібним перебігом хвороби, а також змінами вмісту багатьох міжклітинних медіаторів

і розбалансованістю механізмів їх регуляції, виникненням на фоні ХНН додаткових осередків дегенеративно-дистрофічних змін і, отже, порушень у складі протеогліканів.

Таким чином, порушення метаболізму ГАГ у хворих на ХП виникає вже на ранніх стадіях нефросклерозу, задовго до розвитку ХНН, і проявляється різким підвищенням рівня екскреції ГАГ з сечею (у 2 і більше рази). Порушення обміну ГАГ і глікопротеїдів є первинним у патологічному процесі, колаген залучається вдруге внаслідок зміни складу і властивостей біополімерів, які беруть участь в його синтезі і в фібрилогенезі. Відомо, що накопичення ГАГ (спочатку гіалуронової кислоти, а потім хондроїтінсульфатів) відбувається там, де йде активний фібрилогенез (фіброз, загоювання ран тощо), причому синтез полісахаридів випереджає активний біосинтез колагену [426]. Накопичення ГАГ в тканині нирок спостерігається на ранніх стадіях нефросклерозу, а по мірі дозрівання СТ їх вміст зменшується, ймовірно, за рахунок витрачання ГАГ у процесі формування колагенових волокон [496].

Ймовірно, ГАГ є індукторами фіброзу і збільшення їх кількості випереджає зміни інших показників, що характеризують функціональний стан СТ. Ці обставини багато в чому визначають діагностичну цінність визначення добової глікозаміногліканурії у хворих на ХП з метою виявлення склеротичних змін на ранніх стадіях розвитку патологічного процесу.

Однак, вивчаючи інформативність цього показника, не можна виключити вплив запального процесу і ступеня його активності на рівень екскреції ГАГ з сечею, особливо на ранніх стадіях хвороби.

У хворих з ХНН на стадії нефросклерозу, коли зруйновано понад 70% всієї маси нефронів, гіперекскреція ГАГ з сечею визначається не тільки прогресуванням склеротичних змін в нирках, але значною мірою загальними порушеннями метаболізму, дегенеративними і склеротичними змінами в багатьох органах і тканинах.

Таким чином, даний показник відображає метаболізм СТ і може бути використаний для оцінки перебігу захворювання та ризику розвитку клінічно виражених ускладнень. Рівень екскреції ГАГ з сечею можна використовувати також як додатковий для оцінки гостроти запального процесу. Метод неінвазивний і поєднує достатню інформативність з доступністю для клініко-діагностичних лабораторій лікувальних установ.

Розглядаючи СТ як систему, можна припустити, що реакція СТ лежить в основі патогенетичних механізмів розвитку і прогресування ХП, визначаючи перебіг і прогноз хвороби. Критерієм ступеня активності запального процесу при ХП може бути оцінка стану основної речовини та волокнистих структур СТ, оскільки практично всі відомі варіанти запалення протікають зі стромальних компонентом.

Тому представляється надзвичайно цікавим вивчення ролі СТ в виникненні та прогресуванні ХП. Можна припустити, що генетично детерміновані особливості обміну та функціонального стану СТ, визначають розвиток всього комплексу патогенетичних ланок ХП, відображають патогенетичні механізми хронізації запального процесу і, в кінцевому підсумку, визначають його результат.

Подальше вивчення патогенетичних механізмів дозволить знайти шляхи до розробки адекватного патогенетичного лікування ХП, домогтися доброякісного перебігу захворювання у більшості пацієнтів, попередити ризик безперервного прогресування хвороби, її виходу в нефросклероз.

Таким чином, вибрані показники виявилися досить ефективними для моніторингу захворювання. Виходячи з того, що рівень оксипролінурії відноситься до групи «Фактору 3» можна вважати, що саме активація обмінних процесів на рівні ФССТ, є основним фактором ризику прогресування нефросклерозу. Способи корекції, які максимально уповільнять прогресування склеротичних змін і зможуть віддалити час появи ХНН треба шукати в області їх нормалізації. Оскільки ці показники не входять до групи «Фактору 2» (фактор компенсації), то їх нормалізація може

бути досить надійним критерієм повернення патологічного процесу до стадії компенсації.

### 8.1.2. Вивчення оксипролінурії у хворих на хронічну хворобу нирок різних стадій за наявності та відсутності артеріальної гіпертензії

Для з'ясування питання про роль артеріальної гіпертензії як додаткового фактора ризику в формуванні порушень метаболізму колагену, збільшення швидкості розвитку склерозу нирки і ХНН, необхідно обрати показники, які відображають інтенсивність обмінних процесів у СТ. Тобто показники необхідно обирати з тих, що входять до групи «Фактору 3». Враховуючи, що основним результатом ХНН є нефросклероз найбільш оптимальним вибором є аналіз оксипролінурії.

Вивчали рівень добової оксипролінурії у хворих на ХНН різного етіологічного походження у додіалізних хворих (табл. 8.1.2.1.).

Таблиця 8.1.2.1

Показники оксипролінурії в залежності від стадії хронічної хвороби нирок

Групи хворих	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
1 (I стадія ХНН)	39,5±4,5*	4,1±0,4*	34,2±4,2*
2 (II стадія ХНН)	32,9±3,6*	4,5±0,7*	27,1±3,1
3 (III стадія ХНН)	40,1±4,9*	6,5±0,9* **	30,7±4,1*
Контроль	26,89±0,95	2,30±0,30	22,65±2,80

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з 1 та 2 групами ( $p < 0,05$ )

Результати проведеного дослідження показали, що рівні загального ОП були достовірно підвищені у хворих всіх груп порівняно з контролем. Найвищим рівень загального ОП був у хворих 3 групи і перевищував рівень в

контрольній групі в 1,5 рази, але достовірної різниці між групами хворих виявлено не було.

Рівень вільного ОП теж достовірно підвищувався у всіх групах, найбільше у хворих 3 групи (у 2,8 рази вищий за контрольну групу). При цьому рівень цього показника у хворих 3 групи був достовірно вищим, ніж у хворих 1 та 2 груп. Підвищення вільної фракції ОП є наслідком збільшення швидкості розпаду колагену [451].

Зазначені результати свідчать про те, що у пацієнтів з ХХН спостерігається надмірний рівень деградації колагенових структур, найбільш виражений у хворих з III стадією ХХН. Можна припустити, що рівень вільної фракції може використовуватися як показник активності деструктивних процесів у нирках. Також вищенаведені значення свідчать про наявність зв'язку між стадією ХХН та станом обміну колагену. Показники рівня вільної фракції ОП можуть мати діагностичне значення для оцінки активності склеротичного процесу у нирках, подальшого прогнозу, оцінки ефекту від назначеної терапії у даної групи хворих.

При вимірюванні рівня зв'язаної фракції ОП у сечі хворих на ХХН встановлено, що його рівні були достовірно підвищені у хворих 1 та 3 груп порівняно з контролем, у хворих 2 групи його рівень статистично не відрізнявся від контролю. Також не було виявлено чіткого взаємозв'язку між рівнем зв'язаної фракції ОП та стадією захворювання (табл.8.1.1).

Даний факт можна пояснити зворотним зв'язком між розпадом та синтезом колагену. Рівень зв'язаної фракції відображає стан колагеноутворення та інтенсифікацію фібрилогенезу. Таким чином можна зробити висновки, що нефросклеротичні ураження у хворих на ХХН супроводжуються як підвищенням швидкості розпаду колагену, так і зростанням фібрилогенезу та колагеноутворення.

При розподіленні хворих з ХНН на групи в залежності від наявності та відсутності артеріальної гіпертензії встановлено, що в обох групах хворих мають місце зміни показників обміну колагену (табл. 8.1.2.2).

Таблиця 8.1.2.2

Показники фракцій оксипроліну в сечі у хворих на хронічну хворобу нирок з артеріальною гіпертензією (АГ) та без неї

Групи хворих	ОП, мг/добу		
	Загальний	Вільний	Зв'язаний
1 (ХХН з АГ)	38,8±3,7*	6,6±1,02*' **	32,01±3,6*
2 (ХХН без АГ)	37,4±5,4*	4,04±0,47*	33,3±5,3*
Контроль	26,89±0,95	2,30±0,30	22,65±2,80

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з 1 групою ( $p < 0,05$ )

Рівні загальної та зв'язаної фракцій ОП в обох групах хворих достовірно перевищували показники здорових людей і практично не відрізнялись між собою. Показники вільної фракції ОП також мали підвищені значення в обох групах, які достовірно перевищували нормальні показники. Звертає на себе увагу, що рівень вільного ОП у хворих на ХХН з наявністю артеріальної гіпертензії (1 група) був достовірно вищим за такий у хворих без артеріальної гіпертензії (2 група). В 1 групі рівень вільного ОП був у 1,6 раза вищим ніж у хворих 2 групи, і в 2,9 раза вищим ніж у контролі. Тобто у хворих з артеріальною гіпертензією спостерігається порушення нормального співвідношення фракцій ОП за рахунок підвищення вільної фракції, що ймовірно свідчить про переважання деструктивних процесів у колагенвмісних структурах СТ і порушення збалансованості процесів синтезу та розпаду СТ в нирках.

Відомо, що для перебігу ХХН є характерними склеротичні зміни ниркової тканини [432, 510]. Даний процес супроводжується деструкцією і заміщенням СТ функціональних структур нирок [496].

Значні зміни показників ОП відображають суттєве погіршення морфологічної структури ниркової стромы та паренхіми. На підставі наведених результатів можна зробити висновок, що наявність артеріальної

гіпертензії у хворих на ХХН, яка є одним із суттєвих факторів прогресування хвороби [26, 86, 514], супроводжується порушенням обміну колагену та сприяє прогресуванню склеротичних змін у нирках.

Таким чином, обраний показник згідно запропонованої нами моделі виявився досить ефективним для вирішення поставленого завдання, а отримані дані добре узгоджуються з іншими даними. Можна вважати доведеним, що артеріальна гіпертензія є додатковим фактором ризику, який реалізується за рахунок активації обмінних процесів на рівні ФССТ.

## **8.2 Вивчення показників фізіологічної системи сполучної тканини у хворих з патологією кісткової тканини**

### **8.2.1. Значення показників обміну сполучної тканини для ранньої діагностики ренальної остеодистрофії у хворих хронічною нирковою недостатністю**

Таким чином, для вивчення можливості використання показників ФССТ в клінічній практиці, ми вивчили їх зміни на прикладі групи хворих на ХХН, коли в процес залучений відносно невеликий за розміром орган, що містить невелику кількість СТ. У той же час, наші дослідження показують, що в ході патологічного процесу, саме залучення всієї системи ФССТ призводить до настільки істотної зміни рівня оксипролінурії. Для підтвердження цього припущення були проведені аналогічні дослідження на моделі, що відбиває саме залучення в патологічний процес великих мас СТ. Оскільки відомо, що основна маса СТ в організмі зосереджена в тканинах опорно-рухового апарату, в якості модельної групи ми використовували групу хворих з патологією кісткової тканини. Ми обрали групу хворих з ренальною остеодистрофією, що розвинулася на тлі ХНН. Вибір був обґрунтований тим, що ця патологія є наслідком розвитку склеротичного процесу в нирках і супроводжується розвитком виражених порушень обміну СТ у кістково-хрящовій системі [194, 499].



Ренальна остеодистрофія – частий прояв ХНН. Існує тісний зв'язок між хронічними прогресуючими захворюваннями нирок та ураженнями кісткової системи [184]. За середніми статистичними даними зміни кісток виявляють у 33%-50% хворих з ХНН [242, 480].

Є велика кількість робіт, присвячених вивченню остеодистрофії з вираженими клінічними і рентгенологічними ознаками [221, 297, 434, 500]. Однак, зміни в кістковій тканині виникають задовго до розвитку виражених проявів остеодистрофії [139]. Є дані про те, що ниркова остеодистрофія гістологічно виявляється в 1,5 раза частіше, ніж рентгенологічно. При використанні трепанобіопсії зміни в кістках виявляють майже у всіх випадках ХНН, включаючи її ранні стадії [521].

Оскільки біопсія кісток як метод ранньої діагностики не завжди доступна і є оперативним втручанням, що вимагає наявності спеціальних показань, представляється актуальним розробка неінвазивних методів дослідження, що дозволяють вести динамічне спостереження за перебігом патологічного процесу.

Відомо, що ренальна остеодистрофія носить метаболічний характер. В її патогенезі основне значення традиційно надають гіперсекреції паратиреоїдного гормону, порушень метаболізму кальциферолу, кальцій-магній-фосфорного обміну та ін. [237, 420, 470]. Основою сучасних уявлень є клітинно-молекулярні механізми розвитку остеодистрофії, ключова роль цитокінової RANK-RANKL-OPG системи та Wnt/ $\beta$ -катенін сигнального шляху у розвитку процесу остеобласто- та остеокластогенезу [280, 362]. Низка міжклітинних медіаторів є тригерами не тільки процесів синтезу та резорбції кістки, але й процесів забезпечення функціонування інших систем [65, 257, 310]. Виражені обмінні порушення призводять до системного ураження скелета, придбаного внаслідок метаболічної недостатності СТ [151, 284].

Встановлено, що середній рівень ОП в сечі хворих з ХНН достовірно підвищувався і становив  $56,51 \pm 6,3$  мг/добу ( $p < 0,001$ ) при нормі

26,89±0,95 мг/добу. При розподілі хворих на групи в залежності від стадії ХНН встановлено, що у всіх групах рівень добової оксипролінурії був достовірно вищим за такий у контролі (табл. 8.2.1.1).

Таблиця 8.2.1.1

Показники оксипролінурії в залежності від стадії  
хронічної ниркової недостатності

Групи хворих	ОП, мг/добу
1 (I стадія ХНН)	47,52±4,7* **
2 (II стадія ХНН)	72,03±3,6*
3 (III стадія ХНН)	66,35±6,15*
Контроль	26,89±0,95

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,001$ )

\*\* – відмінності достовірні порівняно з 2 та 3 групами ( $p < 0,05$ )

При цьому середнє значення рівня ОП у хворих 1 групи перевищувало середнє значення норми в 1,8 раза, у хворих 2 групи – у 2,7 раза, у хворих 3 групи – у 2,5 раза. Таким чином, перевищення середнього значення нормальних величин у хворих 2 і 3 груп в 1,5 раза вище, ніж таке у хворих 1 групи на ранній стадії ХНН. Рівень ОП у сечі хворих 2 і 3 груп був достовірно вищим порівняно з рівнем ОП у хворих 1 групи (табл. 8.2.1.1). У той же час суттєвої різниці між 2 та 3 групами за даними середніх величин виявлено не було.

Оскільки представлені дані були отримані шляхом усереднення результатів обстеження досить різнорідних груп хворих (по важкості, тривалості захворювання тощо), спостерігався порівняно великий розкид результатів всередині груп. Для наочної оцінки варіабельності значень ми використовували метод побудови варіаційного ряду, графічно представленого у вигляді кривої розподілу. На рис.8.2.1.1 представлений розподіл значень концентрацій ОП в сечі обстежених хворих. Криві

розподілів були побудовані шляхом поділу всіх хворих на групи, концентрація ОП в яких відповідно: менше 20 мг/добу, від 20 до 40 мг/добу, від 40 до 60 мг/добу і т. д. Ці значення відкладені по осі абсцис. По осі ординат відкладена кількість випадків у групі хворих з концентрацією ОП, що лежить в даному діапазоні, яке нормовано на загальне число вимірювань і виражено у відсотках (n %).

Крива «ряд 4» відповідає контрольній групі, що складається з практично здорових осіб. Крива «ряд 1» – 1 групі (хворі с ХНН I стадії), крива «ряд 2» – 2 групі (ХНН II стадії), крива «ряд 3» – 3 групі (ХНН III стадії).

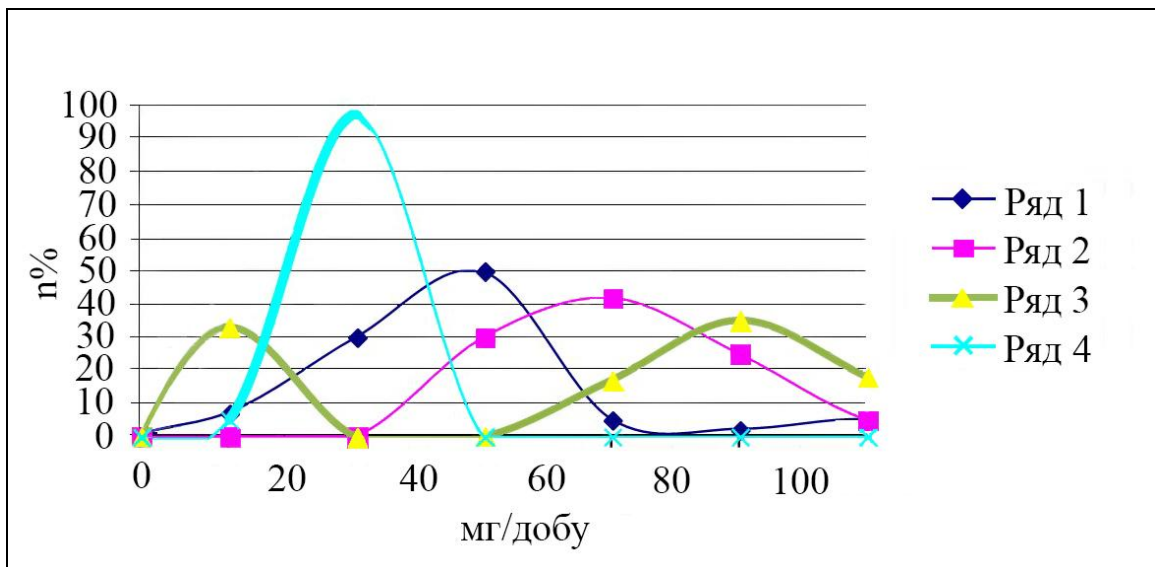


Рис. 8.2.1.1 – Розподіл концентрацій оксипроліну у сечі хворих з хронічною нирковою недостатністю

Форма кривої розподілу для контрольної групи досить близька до нормального розподілу Гауса, має один максимум у діапазоні 20-40 мг/добу, у якому знаходиться 95% випадків. Криві 1, 2 і 3 груп послідовно зміщені в бік збільшення концентрацій, найбільш виражено для хворих з III стадією ХНН.

Крива для хворих 1 групи (ХНН I стадії) має максимум в діапазоні 40-60 мг/добу (50% випадків). У той же час у 30% хворих концентрація ОП в сечі знаходилася в межах норми в діапазоні 20-40 мг/добу, що відповідає

максимуму кривої для контрольної групи. 7% хворих мали ще більш низькі значення – менше 20 мг/добу, а у 13% хворих екскреція ОП з сечею різко підвищувалася – в області великих значень є ще один неявно виражений максимум в діапазоні 100-120 мг/добу.

Таким чином, у частини хворих вже на ранній стадії ХНН спостерігалось різке підвищення оксипролінурії до рівнів, характерних для хворих 3 групи з явними клінічними ознаками остеодистрофії. Ймовірно, це підвищення відображає розвиток патологічних змін кісткової тканини, що виявляється поки тільки на біохімічному рівні. Можна припустити, що ризик розвитку патології скелета у цих хворих вище, ніж у хворих з нормальним рівнем оксипролінурії.

В цілому крива для хворих 1 групи істотно ширше порівняно з контролем, що відповідає більшому розкиду значень. Такий широкий розкид значень у хворих з ХНН може пояснюватися яскраво вираженою розбалансованістю багатьох метаболічних процесів і механізмів їх регуляції, виникненням на фоні ХНН осередків дегенеративно-дистрофічних змін в кістковій тканині і, отже, порушень в обміні колагену.

Крива розподілу для хворих 2 групи (ХНН II стадії) ще далі зміщена в бік збільшення концентрацій і не має загальних областей з кривою для контрольної групи. 40% хворих 2 групи мали значення в діапазоні 60-80 мг/добу (максимум кривої), 30% – в діапазоні 40-60 мг/добу. У решти хворих 2 групи спостерігалась ще більш виражена гіпероксипролінурія – більше 80 мг/добу.

Таким чином, по мірі прогресування ХНН гіперекскреція ОП з сечею зростала, збільшувалась частка хворих з різким підвищенням рівня оксипролінурії і, відповідно, зменшувалась кількість хворих з рівнем, близьким до норми. Причому підвищення рівня ОП різного ступеня вираженості спостерігалось вже у всіх хворих даної групи, що, ймовірно, відображає прогресуюче порушення балансу білкових компонентів СТ кістки внаслідок комплексу паралельно або послідовно виникаючих обмінних

порушень, характерних для ХНН (порушення кальцій-магній-фосфорного обміну, обміну кальциферолу, гіперсекреція паратиреоїдного гормону і кальцитоніну [228]).

Наростання оксипролінурії може бути обумовлено активацією кісткової резорбції внаслідок порушення балансу в ліганд-рецепторній системі RANK-RANKL-OPG (ключової ланки гомеостазу кісткової тканини, безпосередньо регулюючої диференціювання остеокластів та остеоліз) [41, 89], та впливу інших факторів, і яка не завжди супроводжується як в нормі, активацією синтезу кісткової тканини [92, 336, 533]. Ці процеси зазвичай спостерігаються на ранніх стадіях ниркової остеодистрофії, що характеризуються як остеомаліяція.

Ниркова остеомаліяція при довгостроковому перебігу хронічних захворювань нирок у більшості випадків поєднується з фіброзною остеодистрофією [281], коли поряд з резорбтивними посилюються і остеобластичні процеси [118]. Спряжено протікаюча стимуляція синтезу і розпаду, підвищує "оборот кісткової тканини", сприяє подальшому порушенню структури та властивостей колагену [5].

Активация процесів новоутворення кісткової тканини також може проявлятися гіпероксипролінурією, оскільки вміст ОП підвищується як при захворюваннях з деструкцією, так і з утворенням сполучнотканинних елементів [539].

Отже, збільшення рівня екскреції ОП із сечею у хворих з ХНН може свідчити про розвиток ниркової остеодистрофії. Рівень ОП може відображати підвищену остеокластичну активність та стан резорбції кісткової тканини. Більш ніж половина колагену знаходиться у кістковому матриксі, тому оксипролінурія може бути маркером остеодистрофії, але не може слугувати у якості високоспецифічного маркеру кісткової резорбції у хворих із супутньою патологією.

Можна припустити, що підвищення рівня ОП є одним з факторів розвитку остеосклерозу у хворих з ХНН. Деструкція СТ кістки внаслідок

патологічного процесу з утворенням ОП та інших продуктів деградації колагену, активує фібробласти і стимулює синтез колагену, що також призводить до збільшення вмісту ОП. Отже, збільшення добової оксипролінурії у хворих з ХНН може бути пояснено вкладками обох взаємодоповнюючих процесів (синтез і розпад колагену).

Крива для хворих 3 групи (ХНН III стадії) різко відрізняється від попередніх. Вона має два чітко виражених максимуму в різноспрямованих діапазонах. Один з них різко зміщений у бік збільшення концентрацій і знаходиться в діапазоні 80-100 мг/л (36% випадків), інший, навпаки, зміщений у бік малих значень – менше 20 мг/л (35% випадків) і лише частково перекривається з контролем.

Причому низькі значення ОП спостерігалися у хворих, які перебувають на гемодіалізі від кількох місяців до 1 року. Високі значення ОП спостерігалися у хворих, які не отримують лікування гемодіалізом і у хворих з тривалістю діалізної терапії від 1 до 6 років. У хворих з високою концентрацією ОП при динамічному спостереженні виявлено клінічні та рентгенологічні ознаки ренальної остеодистрофії (остеопороз, субперіостальна резорбція, кістоподібні прояснення, звапніння судин і м'яких тканин).

Ймовірно, лікування систематичним гемодіалізом знижуючи уремичну інтоксикацію, веде до зменшення екскреції ОП з сечею. Однак, при збільшенні тривалості діалізної терапії, частота уражень кісткової системи різко зростає. До патогенезу остеодистрофії приєднуються нові фактори та посилюються ті, що діяли раніше. За літературними даними ураження скелета спостерігаються на першому році лікування гемодіалізом у 18% хворих, а до кінця 3-го року – у 92% [71].

Таким чином, наші дослідження показали, що у хворих з ХНН розвивається виражена гіпероксипролінурія, що наростає по мірі прогресування хвороби і розвитку скелетних порушень. Причому рівень екскреції ОП підвищується вже на ранніх стадіях ХНН до розвитку клінічних

проявів остеодистрофії. Важливо, що підвищення рівня ОП виявляється раніше рентгенологічних симптомів ураження кісткової системи.

Метод неінвазивний, доступний і може бути використаний для ранньої діагностики остеодистрофії у хворих з ХНН з метою своєчасного початку лікування, підбору адекватних терапевтичних заходів, контролю ефективності терапії і прогнозу захворювання.

Наші дослідження показали, що зміни ФССТ можуть бути кількісно зафіксовані навіть у разі уповільненого патологічного процесу в невеликому по масі органі, СТ якого складає лише невелику частину від усієї СТ організму (на прикладі ХП). Крім того, важливим є той факт, що даний показник в ході патологічного процесу змінюється в одному напрямку, наростаючи по мірі прогресування захворювання. У випадку, коли патологічний процес захоплює великі маси СТ (остеодистрофія) мають місце подібні тенденції змін цих показників і характерними є лише кількісні відмінності, які пов'язані із збільшенням ступеня залученості в процес ФССТ. Отже, завдяки значній тривалості захворювання відбувається залучення до патологічного процесу всієї ФССТ в цілому, тому в даному випадку найбільш ефективним виявляється використання показників з групи «Фактору 3», які відображають активізацію обмінних процесів СТ поза безпосереднього осередку ушкодження, внаслідок залучення всієї ФССТ.

### **8.2.2. Вивчення ролі міжклітинних медіаторів у метаболізмі сполучної тканини у дітей з кардіопатією та остеопенією**

Також представляється важливим простежити роль ФССТ у виникненні та розвитку хвороби при спадково обумовлених особливостях стану СТ.

У літературі є дані про високу частоту захворювань нирок у хворих ДСТ серця [416]. Припускають, що фактором ризику розвитку захворювання у цих хворих може служити синдром ДСТ нирок внаслідок аномалії тканинної структури, що проявляється зниженням вмісту окремих видів колагену або порушенням їх співвідношення [445].

Враховуючи вищевикладене, а також наявність спадкової схильності до розвитку ХХН, можна припустити, що у частини хворих розвиток хвороби і темпи її прогресування визначаються наявністю у них системної ДСТ, вираженою у тій чи іншій мірі. Дана патологія може проявлятися системною ДСТ [447]. і відповідно до прийнятої в даний час класифікації ДСТ, відноситься до групи недиференційованих ДСТ з вісцеральними проявами, в тому числі і патологією серцево-судинної системи [208, 503].

В структурі захворювань серцево-судинної і кістково-м'язової систем все більше значення мають функціональні порушення і стани, пов'язані з ДСТ, що проявляються розвитком кардіопатії та остеопенії [446].

Недиференційовані форми ДСТ характеризуються поліорганными змінами і представляють значні труднощі в діагностиці, оцінці прогнозу і можливості корекції [438, 447, 512]. Широка поширеність СТ в організмі (до 50%), її різноманітні функції і участь практично у всіх фізіологічних і патологічних реакціях пояснюють одночасне залучення в патологічний процес декількох систем організму [444] і зумовлюють різноманітність зовнішніх і вісцеральних проявів недиференційованої ДСТ [208, 503]. Найбільш значущими з них є зміни опорно-рухового апарату. Серед вісцеральних маркерів недиференційованої ДСТ до теперішнього часу найбільш відомі зміни з боку серцево-судинної системи [135, 411, 460].

Згідно сучасним уявленням про закони загальної патології сполучнотканинна дисплазія повинна розглядатися з позицій функціонального і структурного ремоделювання всіх компонентів СТ, взаємозв'язків і взаємодій на клітинному і системному рівнях. Основну роль в регуляції міжклітинних взаємовідносин відіграє група білкових молекул, що отримала назву цитокінової системи. Відомо, що ключовою ланкою гомеостазу кісткової тканини є ліганд-рецепторна система RANK-RANKL-OPG [379], що відповідає за остеокластогенез, резорбцію та ремоделювання кісткової тканини.



Однак до теперішнього часу, фізіологічні та молекулярно-біохімічні механізми розвитку кістково-вісцеральних проявів недиференційованої ДСТ, поки не з'ясовані. Зокрема, не уточнені механізми цитокинової регуляції метаболізму СТ, що забезпечують оптимальну міжклітинну взаємодію. В той же час добре відомо, що саме порушення в апараті регулювання відіграють провідну патогенетичну роль у формуванні патологічного процесу.

Тому безсумнівний інтерес представляє вивчення патофізіологічних і біохімічних механізмів порушення метаболізму і функцій СТ, які визначають патогенетичні механізми формування основних синдромів і аномалій розвитку при недиференційованій ДСТ.

З цією метою ми визначали профілі міжклітинних медіаторів та оцінювали їх значущість у розвитку порушень загальної схеми регуляції процесів ремоделювання СТ у дітей з кардіопатією та остеопенією. Оскільки в цьому випадку неможливо виділити в якості ведучого механізм, що відноситься тільки до однієї з груп «Факторів», у дослідження включали показники, які належать до всіх трьох груп «Факторів», що відображають стан ФССТ.

При дослідженні вмісту RANKL, OPG, IL-1RA, IL-17, TGF- $\beta$ 1, адипонектину та вісфатину в сироватці крові виявлено наступне (табл.8.2.2.1).

Таблиця 8.2.2.1

Вміст цитокинів у сироватці крові у дітей з кардіопатією та остеопенією

Показники	Групи	
	Контроль	Досліджувана група
1	2	3
RANKL, пмоль/л	0,21±0,02	0,28±0,02*
OPG, пг/мл	62,9±2,48	74,7±3,62*
IL-1RA, пг/мл	264±12,3	169±14,2*

## Продовження таблиці 8.2.2.1

1	2	3
TGF- $\beta$ 1, пг/мл	12,6 $\pm$ 0,25	12,6 $\pm$ 0,33
IL-17, пг/мл	30,2 $\pm$ 1,26	13,9 $\pm$ 0,43*
Адипонектин, мкг/мл	20,9 $\pm$ 0,22	18,3 $\pm$ 0,23*
Вісфатин, нг/мл	231 $\pm$ 10,6	158 $\pm$ 7,4*

\* – відмінності достовірні порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

Середній рівень RANKL у дітей з кардіопатією та остеопенією був вище, ніж рівень RANKL контрольної групи (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.1). Медіана вмісту RANKL у сироватці дітей досліджуваної групи складала 0,31 (0,17; 0,38) пмоль/л (рис.8.2.2.2). Збільшення кількості RANKL свідчить про посилення кісткової резорбції у дітей досліджуваної групи.

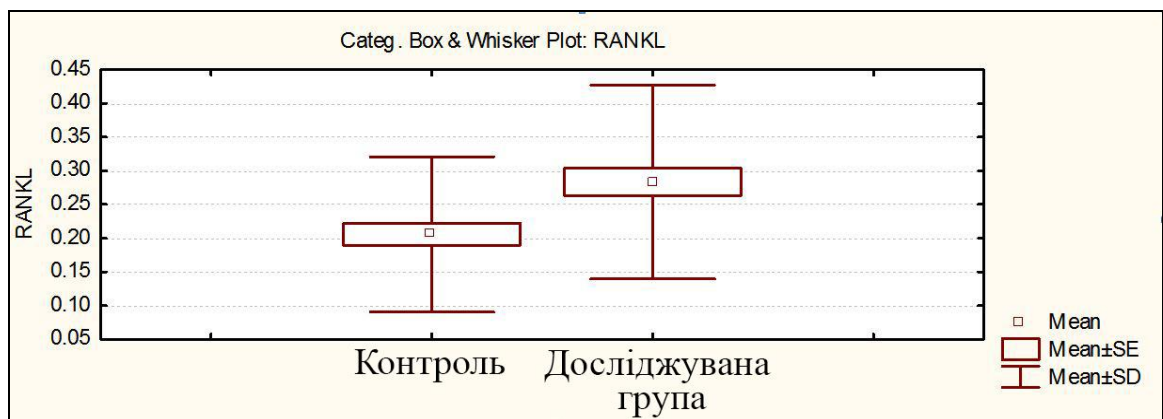


Рис. 8.2.2.1 – Середній рівень вмісту RANKL у дітей з кардіопатією та остеопенією

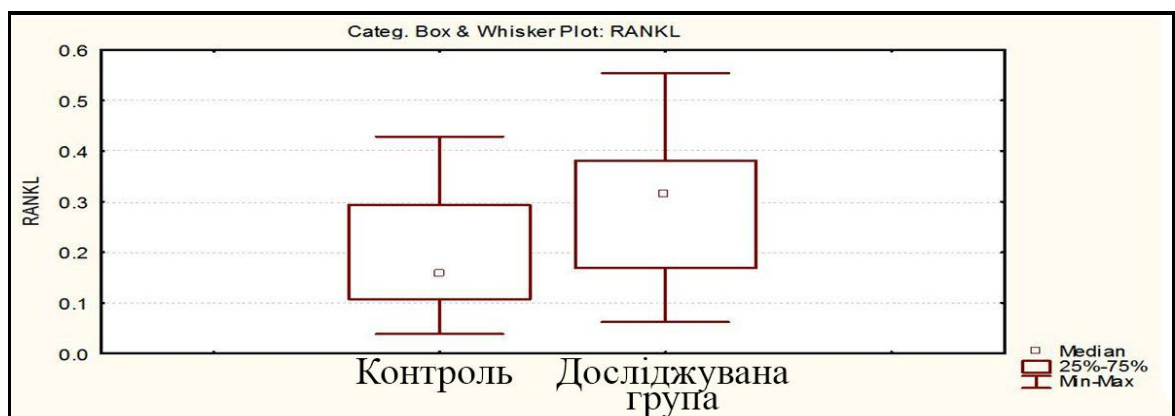


Рис. 8.2.2.2 – Медіани рівнів RANKL у дітей з кардіопатією та остеопенією

Середній рівень OPG у дітей з кардіопатією та остеопенією також був вище, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.3). Медіана вмісту OPG у дітей з кардіопатією та остеопенією складала 65,3 (53,8; 93,5) пг/мл (рис.8.2.2.4).

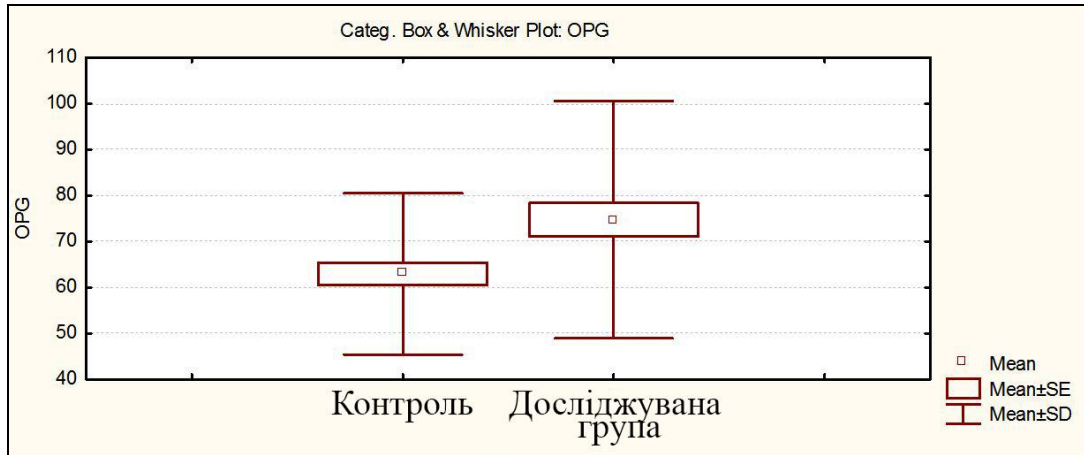


Рис. 8.2.2.3 – Середній рівень вмісту OPG у дітей з кардіопатією та остеопенією

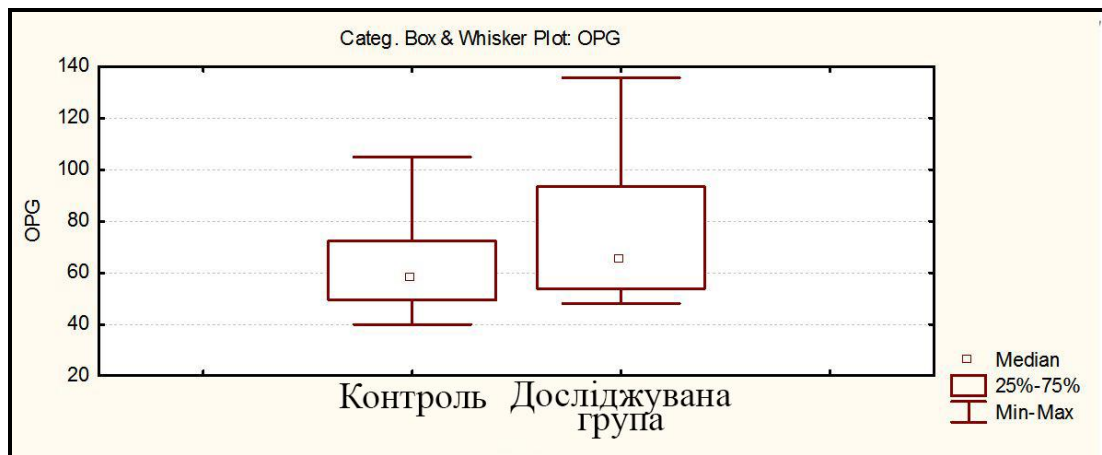


Рис. 8.2.2.4 – Медіани рівнів OPG у дітей з кардіопатією та остеопенією

Підвищення рівня OPG може бути пов'язано з можливою компенсаторною реакцією на посилення кісткової резорбції. OPG, будучи білковим «рецептором-пасткою» для RANKL, конкурує з RANK за зв'язування з RANKL. Блокуючи цей процес, OPG пригнічує кісткову резорбцію, віддаючи пріоритет кістковому утворенню [220, 244]. Порушення зв'язування RANKL і OPG – істотна ланка патогенезу захворювань, що

протікають із збільшенням кількості RANKL і супроводжуються посиленням кісткової резорбції.

Можна припустити, що виявлені порушення в системі RANK-RANKL-OPG у досліджуваної групи ведуть до порушення фізіологічних механізмів регуляції остеокластогенеза, активності і тривалості життя остеокластів, що порушує процеси ремоделювання СТ. Вважають, що характер ремоделювання кісткової тканини багато в чому визначається співвідношенням продукції OPG і RANKL [220, 517].

Середній рівень IL-1RA у дітей з кардіопатією та остеопенією був нижчим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.5). Медіана вмісту IL-1RA у дітей з кардіопатією та остеопенією складала 163 (86,9; 187) пг/мл (рис.8.2.2.6).

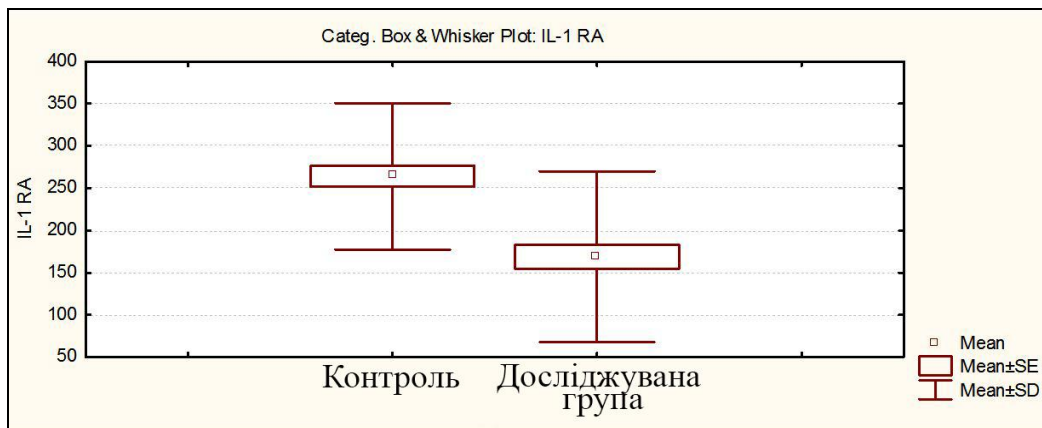


Рис. 8.2.2.5 – Середній рівень вмісту IL-1RA у дітей з кардіопатією та остеопенією

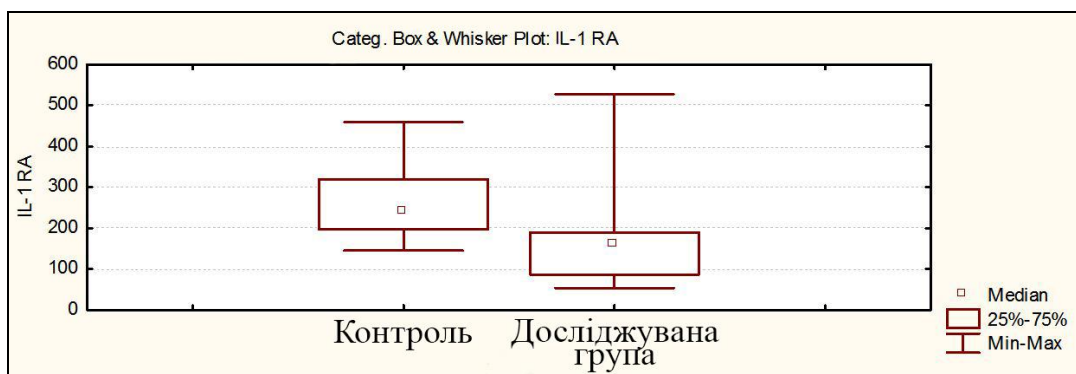


Рис. 8.2.2.6 – Медіана рівнів IL-1RA у дітей з кардіопатією та остеопенією

Недостатня продукція ІЛ-1RA свідчить про зниження протизапального захисту. ІЛ-1RA – важливий природний протизапальний білок, і зниження його вмісту може відігравати ключову роль у розвитку патологічного процесу у хворих досліджуваної групи. Встановлено, що поліморфізм генів ІЛ-1RA пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку остеопорозних переломів [542]. У здоровій тканині ІЛ-1RA синтезується для запобігання запальних реакцій, опосередкованих ІЛ-1, та обмеження подальшого пошкодження уражених тканин. Ефекти ІЛ-1RA як нестероїдного протизапального препарату можуть бути використані при лікуванні хронічних запальних захворювань [508, 534]. Знижений рівень антагоніста рецептора до ІЛ-1 недостатній для регуляції активності потужного цитокіну запалення ІЛ-1.

Враховуючи, що ІЛ-1RA продукують переважно клітини СТ (макрофаги, моноцити, а також фібробласти), порушення оптимального балансу співвідношення ІЛ-1RA і ІЛ-1, неминуче призводить до порушення функціонування цитокінової мережі, а, отже, і ФССТ в цілому.

Середній рівень TGF- $\beta$ 1 у дітей з кардіопатією та остеопенією не відрізнявся від рівня TGF- $\beta$ 1 у контролі ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.7). Медіана вмісту TGF- $\beta$ 1 у дітей з кардіопатією та остеопенією складала 12,4 (10,2; 14,5) пг/мл (рис.8.2.2.8).

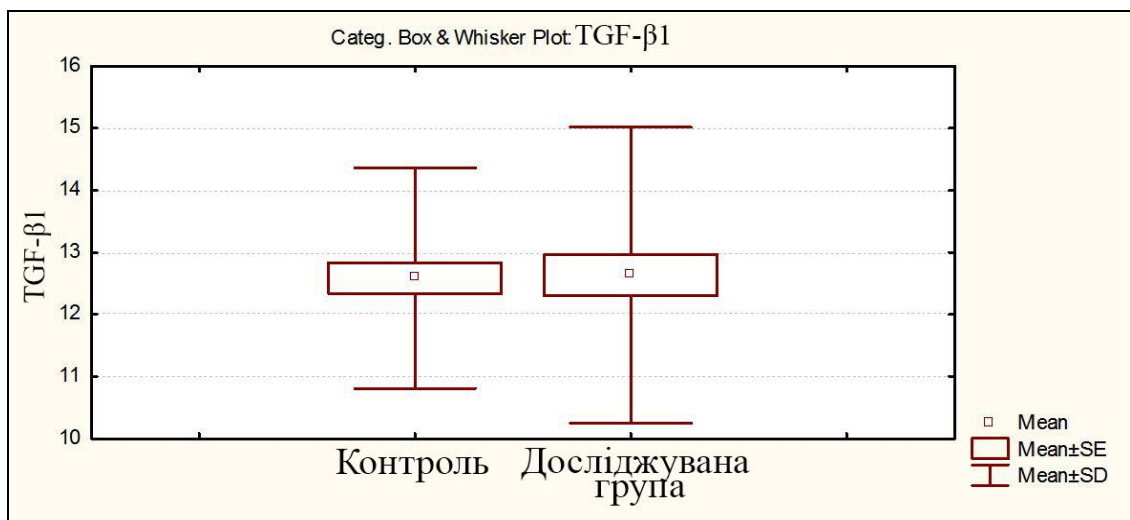


Рис. 8.2.2.7 – Середній рівень вмісту TGF- $\beta$ 1 у дітей з кардіопатією та остеопенією

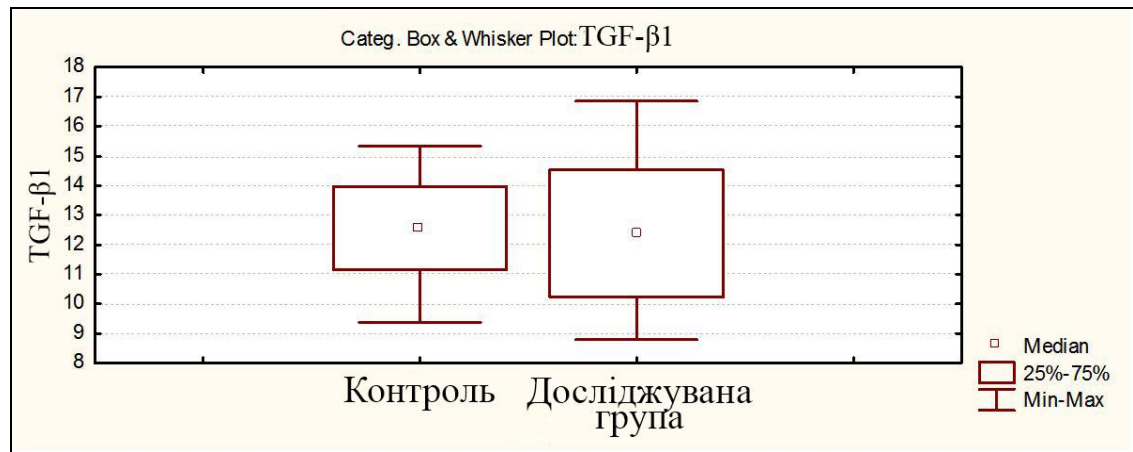


Рис. 8.2.2.8 – Медіана рівнів TGF-β1 у дітей з кардіопатією та остеопенією

Відомо, що суперсемеїству трансформуючих факторів росту-β належить визначальна роль у морфогенезі хрящової і кісткової тканини [133], сигнальний шлях TGF-β є ключовою ланкою механізмів регулювання, формування та деградації ПКМ СТ [313]. Крім того, TGF-β є профібротичним цитокіном, який стимулює продукцію білків ПКМ в різних органах і системах, надмірна експресія якого призводить до розвитку фіброзу тканин [183]. Так, підвищена експресія TGF-β1 крім потовщення створок клапанів серця і їх дисфункції [361] викликає формування кардіального фіброзу, а збільшення вмісту білків ПКМ в міокарді – появу його систолічної і діастолічної дисфункції [156].

Оскільки наші дослідження не виявили змін в експресії TGF-β1 у дітей досліджуваної групи, можна припустити, що зміна активності різних компонентів сигнального шляху TGF-β пов'язана в основному з низкою спадкових порушень СТ і в багатьох випадках не проявляється при недиференційованій формі ДСТ.

Однак слід зазначити, що середні значення концентрації цього цитокіну в досліджуваній групі мали досить великий розкид. Можливо, саме тому нам не вдалося визначити граничне значення TGF-β, перевищення якого призводить до патологічних змін. Можливо, визначення вмісту розчинних активних форм TGF-β1 і TGF-β2 в сироватці крові пацієнтів, та оцінка

взаємозв'язку між концентрацією TGF- $\beta$ 1/2 будуть більш інформативними, що потребує подальших досліджень.

У дітей досліджуваної групи вміст прозапального цитокіну ІЛ-17, що є прямим індуктором фіброblastів і відображає інший сигнальний шлях активації фіброгенезу [176], був достовірно нижчим, ніж рівень ІЛ-17 у контролі ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.9). Це може свідчити про наявність у цих хворих патологічної деактивації процесів біосинтезу СТ, нехарактерних для її нормального стану. Визначені особливості дають можливість обрати рівень ІЛ-17 в якості додаткового критерію ризику розвитку порушень ремоделювання СТ.

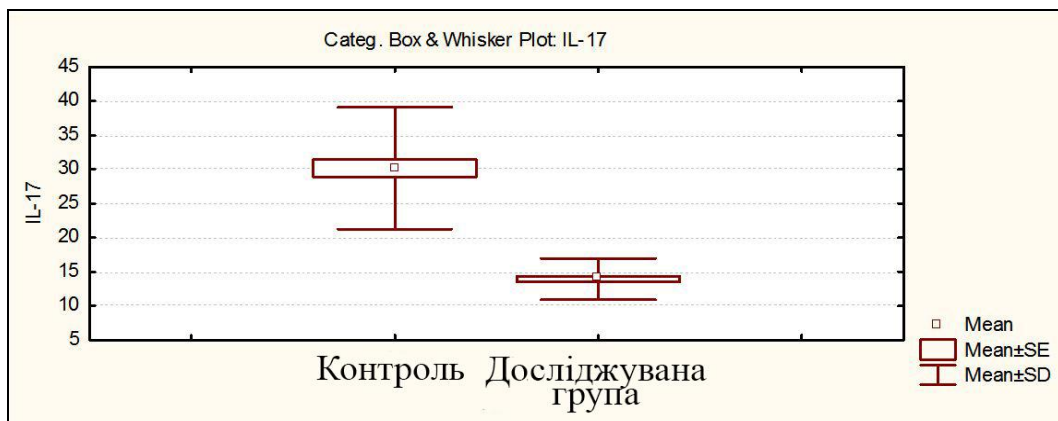


Рис. 8.2.2.9 – Середній рівень вмісту ІЛ-17 у дітей з кардіопатією та остеопенією

Медіана вмісту ІЛ-17 у дітей з кардіопатією та остеопенією складала 14,3 (12,2; 15,8) пг/мл (рис. 8.2.2.10).

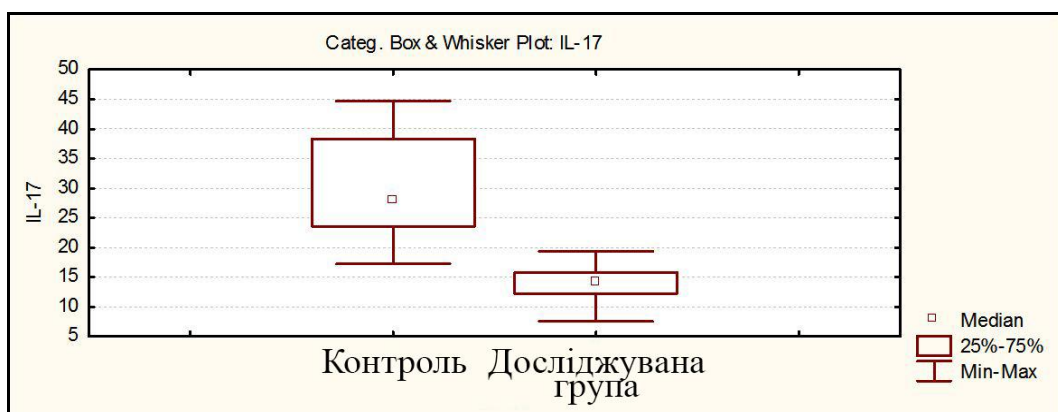


Рис. 8.2.2.10 – Медіана рівнів ІЛ-17 у дітей з кардіопатією та остеопенією

Середній рівень адипонектину у дітей з кардіопатією та остеопенією був нижчим, ніж рівень адипонектину у контролі ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.11). Медіана вмісту адипонектину у дітей з кардіопатією та остеопенією складала 18,4 (17,2; 19,6) мкг/мл (рис.8.2.2.12).

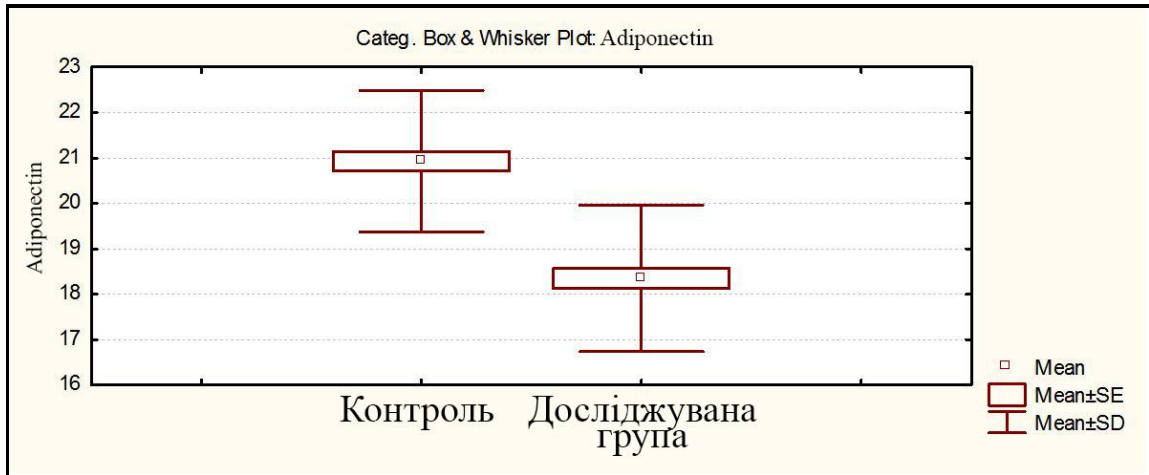


Рис. 8.2.2.11 – Середній рівень вмісту адипонектину у дітей з кардіопатією та остеопенією

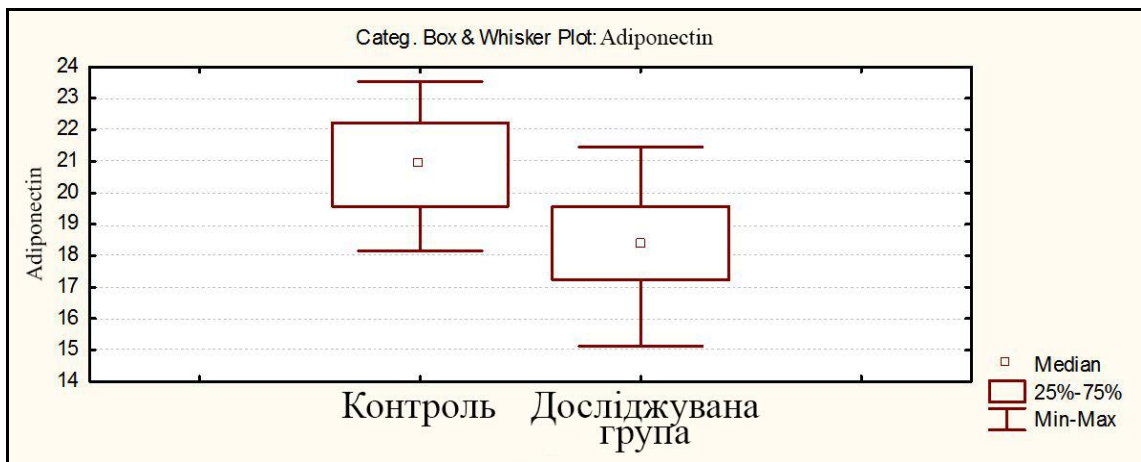


Рис. 8.2.2.12 – Медіана рівнів адипонектину у дітей з кардіопатією та остеопенією

Гіпоадипонектинемія може свідчити про зниження протизапального і антиатерогенного захисту у хворих досліджуваної групи. Відомо, що адипонектин здатний брати участь у регуляції енергетичного гомеостазу і надавати протизапальний і антиатерогенний ефект, будучи ендогенним



ангіопротектором [525]. При пошкодженні судинної стінки він здатний швидко накопичуватися в субендотеліальному просторі, перешкоджаючи при цьому експресії молекул адгезії. Пригнічуючи секрецію TNF, адипонектин здатний гальмувати розвиток системного запалення [318]. Існує думка, що зниження адипонектину крові є причиною розвитку атеросклерозу коронарних судин так само і при ожирінні [275].

Встановлено, що у дітей досліджуваної групи виявлена гіпоадипокінемія, яка супроводжувалася підвищенням рівня RANKL (табл.8.2.2.1). Оскільки адипонектин є фактором підвищення резорбції, та фактором збільшення рівню RANKL [11], зниження його вмісту можна розглядати як компенсаторну реакцію на гіперпродукцію RANKL.

Середній рівень вісфатину також був нижчим, ніж рівень вісфатину у контролі ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.1, рис.8.2.2.13). Медіана вмісту вісфатину у дітей з кардіопатією та остеопенією складала 141 (126; 163) нг/мл (рис.8.2.2.14).

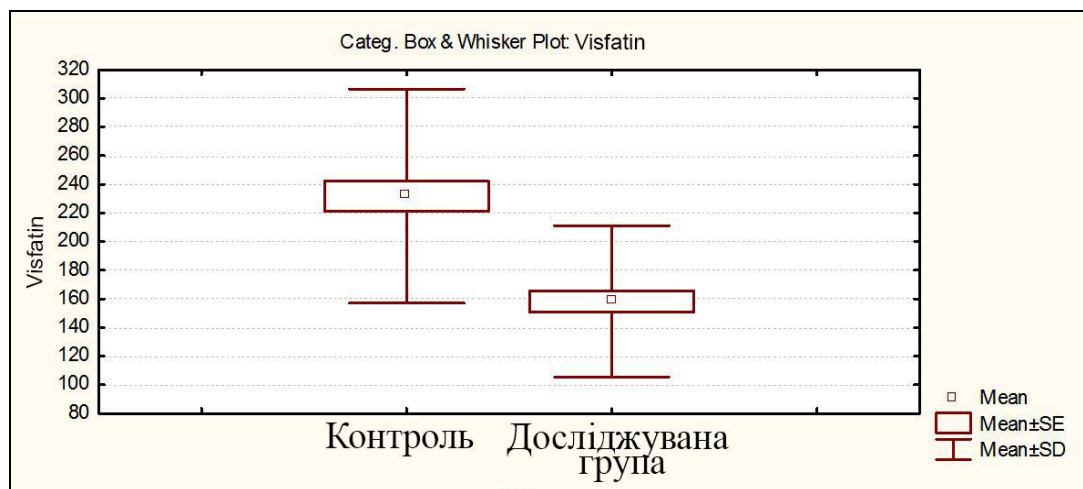


Рис. 8.2.2.13 – Середній рівень вмісту вісфатину у дітей з кардіопатією та остеопенією

Важливим аспектом біологічної ролі вісфатину є його імуномодуляторний ефект. Поряд з адипоцитами, значна кількість циркулюючого вісфатина виробляється макрофагами. При впливі на судинну стінку прозапальних агентів (наприклад, ліпопротеїдів низької щільності)

експресія вісфатину макрофагами в місці пошкодження значно підвищується [157]. Рекombінантний вісфатин активізує лейкоцити і стимулює синтез цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) [375]. Рівні вісфатину прямо корелюють з індексом інсулінової резистентності [97].

Можна припустити, що виявлені порушення адипокінового обміну ведуть до розбалансування системи міжклітинних медіаторів, порушення регуляції ФССТ і, як наслідок, виснаження адаптаційних резервів.

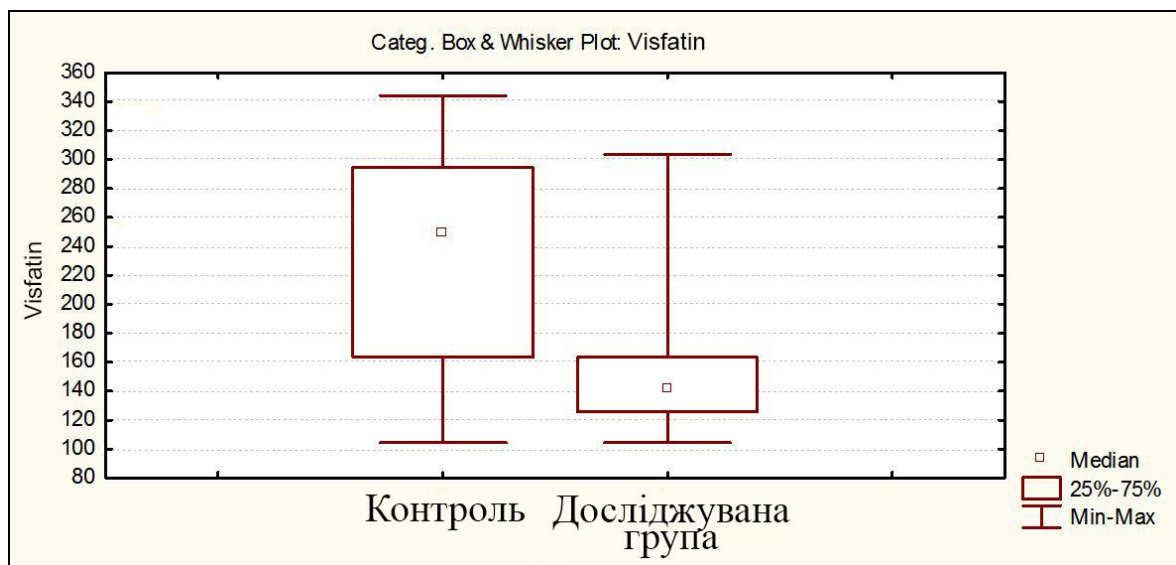


Рис. 8.2.2.14 – Медіана рівнів вісфатину у дітей з кардіопатією та остеопенією

Результати кореляційного аналізу показали, що майже між усіма показниками цитокінового обміну існують статистично значущі зв'язки.

У групі дітей з кардіопатією та остеопенією позитивна кореляція відзначалася між рівнями вісфатину та OPG ( $r = 0,58$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,38$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та IL-1RA ( $r = 0,39$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та адипонектину ( $r = 0,57$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та OPG ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.2). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = - 0,47$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та IL-17 ( $r = - 0,39$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та IL-17 ( $r = - 0,55$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF1 $\beta$  та IL-17 ( $r = - 0,57$ ) ( $p < 0,05$ ) (табл.8.2.2.2).

Таблиця 8.2.2.2

Взаємозв'язок між рівнями цитокінів у дітей з кардіопатією та остеопенією

Показники	RANKL	OPG	IL-1RA	TGF- $\beta$ 1	Адипо-нектин	Вісфатин	IL-17
RANKL	-	-	-	-	-	- 0,47	- 0,39
OPG	-	-	-	0,38	0,36	0,58	-
IL-1RA	-	-	-	0,39	-	-	- 0,55
TGF- $\beta$ 1	-	0,38	0,39	-	0,57	-	- 0,57
Адипо-нектин	-	0,36	-	0,57	-	-	-
Вісфатин	- 0,47	0,58	-	-	-	-	-
IL-17	- 0,39	-	- 0,55	- 0,57	-	-	-

Виявлені зміни вмісту міжклітинних медіаторів можуть свідчити про порушення загальної схеми регуляції процесів ремоделювання СТ. Ця система включає ряд елементів, при цьому окремі ключові ланки цього механізму, які визначають напрями змін відповідних параметрів, відіграють роль своєрідних тригерів. Багатофакторний процес патогенезу утворення порушень ремоделювання СТ пов'язаний з вичерпанням резервів адаптації. Комбінація ушкоджуючих факторів сприяє виходу процесу за межі фізіологічної адаптації та не дозволяє системі відновлюватися. Визначені профілі міжклітинних медіаторів у обстежених дітей свідчать про зміни резервів адаптації організму, що має відобразитися на подальшій динаміці процесів ремоделювання СТ. Однак отримані дані потребують подальшого аналізу з урахуванням клінічного поліморфізму патології та різних ланок патогенезу патології СТ.

Таким чином, у дітей з кардіопатією та остеопенією на тлі недиференційованої ДСТ спостерігається дисбаланс в системі регуляції ФССТ на рівні міжклітинних медіаторів. Розвиток остеопенії пов'язаний з дисбалансом у системі: RANK-RANKL-OPG, що призводить до активації остеокластогенеза і підвищення кісткової резорбції.

Встановлено, що у дітей з кардіопатією та остеопенією спостерігається порушення адипокінового обміну і зниження продукції цитокіну ІЛ-17, що є прямим індуктором фібробластів. Це може свідчити про наявність у цих хворих патологічної деактивації процесів біосинтезу СТ і бути пов'язано з особливостями механізмів порушення її ремоделювання, що зумовлено спадковим або набутим їх характером.

### 8.3 Вивчення показників фізіологічної системи сполучної тканини у хворих з хронічними захворюваннями шлунково-кишкового тракту

#### 8.3.1. Вивчення ролі порушення обміну сполучної тканини в розвитку патологічних процесів різної інтенсивності в шлунку

Для вивчення залученості ФССТ в розвиток захворювань шлунка, визначали рівні вільного, пептиднозв'язаного і білковозв'язаного ОП у сироватці крові хворих із захворюваннями шлунка різної тяжкості. Вибір показників з групи «Фактору 3» обґрунтований тим, що пошкодження СТ і залучення в патологічний процес обумовлено поширеністю та тривалістю основного патологічного процесу. Концентрація різних фракцій ОП у сироватці крові мала наступні тенденції (табл.8.3.1.1).

Таблиця 8.3.1.1

Вміст метаболітів сполучної тканини і раковомембріонального антигену в сироватці крові

Групи хворих	РЕА, нг/мл	Вільний ОП, мкмоль/л	Пептиднозв'язаний ОП, мкмоль/л	Білковозв'язаний ОП, мкмоль/л
Група 1	4,73±0,52	13,2±0,42	11,1±0,39	124±2,9*
Група 2	15,4±1,23*	14,0±0,43	23,7±0,56*	110±2,72*
Група 3	16,1±1,41*	16,4±0,53*	28,6±1,33*	101±2,67
Група 4	42,8±5,69*	22,2±1,09*	42,5±1,4*	94,5±3,81
Контроль	1,69±0,15	12,02±0,36	8,71±0,16	97,2±3,08

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем (p<0,001)

Рівень вільного ОП збільшувався у всіх досліджених групах, по мірі збільшення тяжкості патологічного процесу в шлунку, але достовірні відмінності порівняно з контролем спостерігалися лише в групах 3 і 4. Концентрація вільного ОП в цих групах була вищою на 37% і 85% порівняно з контролем відповідно ( $p < 0,001$  в обох випадках) (табл.8.3.1.1).

При вивченні концентрації пептиднозв'язаного ОП в сироватці крові були виявлені подібні закономірності. У групах 2, 3, 4 рівень пептиднозв'язаного ОП зростав порівняно з показниками в контрольній групі – у 2,7; 3,3 і в 4,9 раза відповідно. Значимість відмінностей в цих випадках була високою:  $p < 0,001$ .

Рівень білковозв'язаного ОП достовірно підвищувався в групах 1 і 2 порівняно з контролем – на 28 % і 14 % відповідно ( $p < 0,001$ ). При цьому спостерігалася наступна тенденція: зі збільшенням тяжкості патологічного процесу в шлунку вміст білковозв'язаного ОП зменшувався від підвищених значень у групі 1 до практично нормальних у групах 3 і 4.

Прийнято вважати, що концентрація вільного ОП в сироватці крові відображає інтенсивність розпаду колагену [532], вміст пептиднозв'язаного ОП – одночасно ступінь розпаду і біосинтезу [30, 456]. Процес синтезу колагену зазвичай супроводжується підвищенням рівня білковозв'язаного ОП [210].

Проведені нами дослідження підтверджують наявні літературні дані про те, що запалення супроводжується активізацією, як процесів синтезу, так і розпаду колагену. Ці процеси закономірно відбиваються в підвищенні рівнів вільного, пептиднозв'язаного і білковозв'язаного ОП в сироватці крові в групах 1 і 2. Причому в цих групах не спостерігається значної зміни співвідношення вільного і пептиднозв'язаного ОП, що може свідчити про збереження балансу синтезу та розпаду колагену в системі СТ в цілому. Зміни у вогнищі запалення носять компенсаторний характер і не виходять за межі фізіологічних можливостей системи.

В групах 3 і 4 при збільшенні концентрації вільного і пептиднозв'язаного ОП, вміст білковозв'язаного ОП залишається в межах нормальних значень. Різнострамована зміна показників, які відображають синтез і розпад колагену, може свідчити про те, що система СТ значною мірою бере участь у розвитку патологічного процесу. Хоча, можливо, що порушення її нормальної реактивності є всього лише наслідком патологічного процесу. Ймовірно відмінності в реакції СТ в групах 1, 2 і групах 3, 4 пов'язані з тим, що при локальному поверхневому запаленні (групи 1 і 2) та незначному обсязі ураження в процес втягується СТ на рівні системи, тобто в цілому.

При дослідженні вмісту РЕА в сироватці крові спостерігалось його достовірне збільшення відносно контролю в групах 2, 3 і 4. Вміст РЕА був вищим відповідно в 9, 9,5 і 25 разів ( $p < 0,001$ ).

РЕА є продуктом аномальної експресії геному, за якої активується ряд метаболічних шляхів, властивих організму людини лише на етапі ембріогенезу [441], тому в сироватці крові здорових дорослих людей він практично не виявляється. Спроби використання РЕА як маркера онкопатології не принесли очікуваних результатів. Цей антиген не є абсолютним тестом на наявність або відсутність злоякісної пухлини.

Вірогідно, саме властивість даного показника реагувати на запальний, а не тільки на пухлинний процес, зробило його досить неефективним для діагностики онкопатології. І ця ж особливість робить його придатним для індикації порушень в експресії геному клітин, залучених в запальний процес або підданих впливу яких-небудь шкідливих факторів.

Встановлено, що із збільшенням тяжкості патологічного процесу в шлунку (від 1 до 4 групи хворих) збільшувався рівень РЕА в сироватці крові. Це узгоджується з нашим припущенням про те, що підвищення РЕА є наслідком не тільки інтенсивності процесу в момент дослідження, але і «накопичення» запалення, тобто інтегральної дії факторів запалення протягом достатнього тривалого часу. Таким чином, цей показник є

важливим додатковим незалежним критерієм для формування та ранжирування груп, оскільки клінічні критерії (тим більше в період ремісії) не завжди точно відображають інтенсивність патологічного процесу, а моніторинг класичних маркерів запалення за тривалий період часу неможливий. На відміну від 2 та 3 групи, у 4 групі основним чинником різкого підвищення рівня РЕА є онкопатологія.

Порушення балансу в системі СТ між процесами деградації і синтезу не відбувається. Це припущення узгоджується з тим, що збільшення концентрації РЕА в групах 1 і 2 також незначне. Ймовірно, клітини з аномальною (патологічною) перебудовою експресії геному за ембріонально-клітинним типом утворюються переважно у вогнищі запалення і знаходяться під контролем імунної системи.

Однак при збільшенні тяжкості патологічного процесу (групи 3 і 4) спостерігається порушення рівноваги між синтезом і розпадом колагену. У цьому випадку захворювання приймає системний характер, в процесі якого відбуваються порушення в ФССТ. Такого роду порушення можуть виявитися додатковим фактором ризику в залученні інших органів і систем організму в патологічний процес. Це припущення узгоджується з тим фактом, що в групі 4 (онкопатологія) відбувається різке збільшення цього дисбалансу і підвищення рівня РЕА.

На користь цього припущення свідчить також виявлена нами кореляція між рівнем РЕА і показниками порушення рівноваги між синтезом та деградацією колагену (рівнями фракцій ОП). Ці показники мали позитивну кореляцію з тяжкістю процесу, яка зростає від групи 1 до групи 4. Причому статистично значущий зв'язок спостерігався між маркерами розпаду колагену (рівнями вільного і пептиднозв'язаного ОП) і РЕА ( $p < 0,05$ ) (рис.8.3.1.1, 8.3.1.2). У той же час кореляційний зв'язок між РЕА та маркером синтезу колагену (білковозв'язаним ОП) не був статистично значущим.

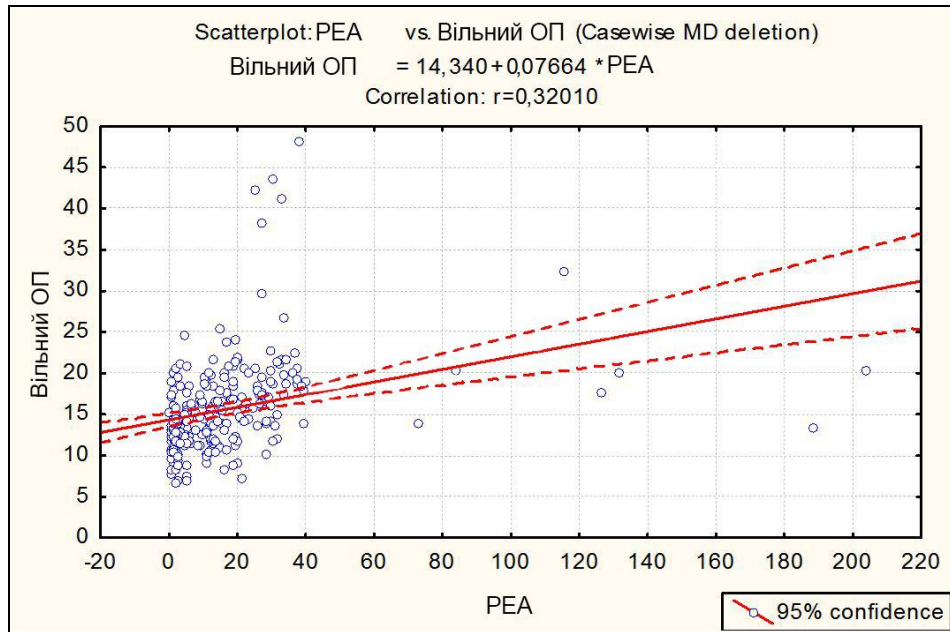


Рис. 8.3.1.1 – Кореляція між рівнями вільного ОП і PEA

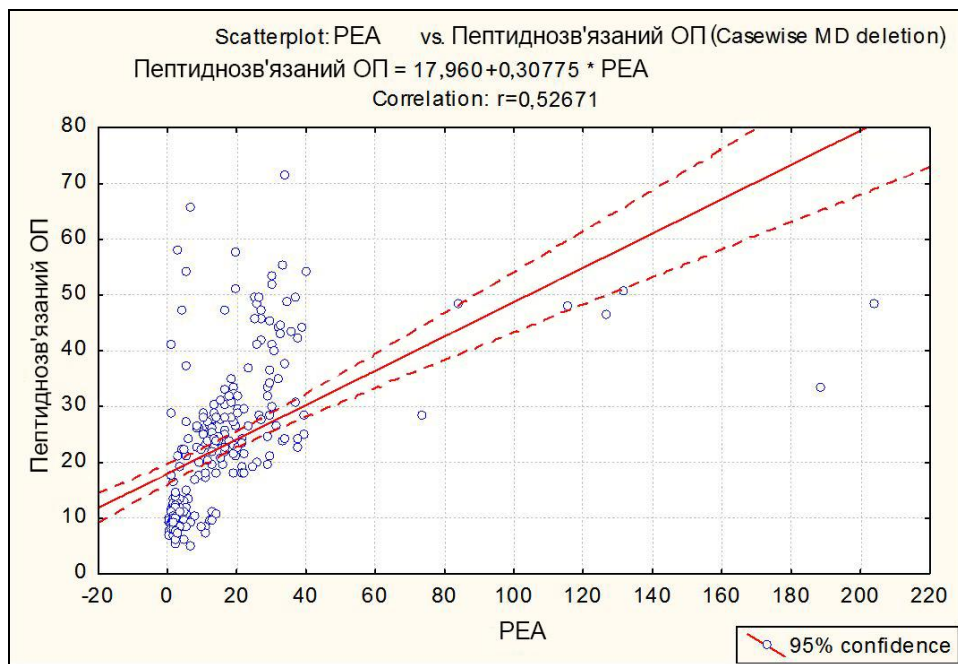


Рис. 8.3.1.2 – Кореляція між рівнями пептиднозв'язаного ОП і PEA

Таким чином, порушення на рівні ФССТ відіграють суттєву роль у розвитку патологічних процесів у шлунку. При відносно низькій інтенсивності патологічного процесу синтез і деградація колагену знаходяться у відносній рівновазі, а збільшення його інтенсивності призводить до її порушення. Концентрація вільного і пептиднозв'язаного ОП



в сироватці крові корелює з вмістом РЕА. Ці показника виявляються вищими в групах з більш високою тяжкістю патологічного процесу в шлунку.

Наші дані показують, що залучення до патологічного процесу системи СТ в цілому виявляється при значних обсягах ураження і значній тривалості процесу, і може бути одним з факторів хронізації патологічного процесу і ризику рецидивування. Як відомо, при пошкодженні і запаленні у вогнищі та периферичній крові вивільнюються та утворюються численні медіатори запалення, які, в залежності від інтенсивності і розповсюдженості процесу, залучають різні органи і системи – систему крові, імунну, нервову, ендокринну тощо, тобто посилюють місцеві і викликають загальні реакції організму при запаленні, останні ще називаються гострофазовими реакціями, або синдромом системної запальної відповіді (SIRS). Залучення різних органів і систем необхідне для розгортання, підтримки і завершення запального процесу як захисно-приспосувальної реакції організму, тобто є невід'ємною і, загалом, найважливішою частиною запалення. Все це визначено філогенетично.

Як відомо, запалення завжди розпочинається з території СТ. Наші дані показують, що при певній розповсюдженості і тривалості захворювання виявляється і залучення системи СТ в цілому як компонента SIRS, а ступінь її залучення дійсно може бути одним з факторів хронізації та прогресування патологічного процесу.

### **8.3.2. Вивчення ролі міжклітинних медіаторів у механізмі формування дуоденальної виразки у підлітків**

З метою вивчення ролі міжклітинних медіаторів у механізмах формування дуоденальної виразки (ДВ) вивчали вміст цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ ) у підлітків з ДВ. Проведені дослідження показали, що рівні прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$  та IL-6 в фазу загострення захворювання були достовірно вищими за такі в контрольній групі (перевищували норму в 1,4 – 2 рази) і не залежали від статі (табл.8.3.2.1).

Таблиця 8.3.2.1

Вміст цитокінів у сироватці крові у підлітків з дуоденальною виразкою в фазу загострення захворювання

Показник	Контроль		Дуоденальна виразка	
	юнаки	дівчата	юнаки	дівчата
IL-1 $\beta$ , пг/л	57,0 $\pm$ 3,42	59,1 $\pm$ 4,31	114 $\pm$ 9,52*	122 $\pm$ 23,2*
IL-4, пг/л	27,2 $\pm$ 2,04	22,6 $\pm$ 1,67	151 $\pm$ 25,83*	127 $\pm$ 14,6*
IL-6, пг/л	4,48 $\pm$ 0,27	4,55 $\pm$ 0,27	6,15 $\pm$ 0,33*	5,65 $\pm$ 0,38*
TNF- $\alpha$ , пг/л	31,2 $\pm$ 4,21	31,1 $\pm$ 3,5	22,2 $\pm$ 4,48*	16,4 $\pm$ 2,89*

\* – відмінності достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

Відомо, що репаративна регенерація при ульцерогенезі є стереотипним процесом, що відображає репаративну функцію СТ. IL-1 $\beta$ , стимулюючи метаболізм СТ, викид із синовіальних клітин колагенази, одночасно є інгібітором синтезу і секреції HCl [464]. Крім цього, IL-1 $\beta$  і IL-6 регулюють синтез колагену, ріст, проліферацію і диференціювання фіброblastів, функціональна активність яких визначає структурну характеристику поствиразкового рубця, орієнтування і щільність розташування колагенових фібрил [43]. Тому підвищення продукції цих цитокінів може свідчити не тільки про активність запального процесу, але й відображати репаративні процеси, які, з одного боку, жорстко пов'язані з характером перебігу запалення, а з іншого, детермінують терміни відновлення структурного гомеостазу і бар'єрних властивостей слизової оболонки.

Потрібно також враховувати, що до процесів клітинної інфільтрації і дистрофії, викликаним високим рівнем прозапальних цитокінів, приєднується активація макрофагів і фіброblastів, які починають інтенсивно синтезувати компоненти ПКМ СТ. Активація процесів фіброгенезу супроводжується, як правило, зменшенням ознак запалення та порушеннями структури СТ шлунково-кишкового тракту, що багато в чому визначає

функціональну неспроможність наступних процесів рубцювання виразкових уражень. Провідним чинником утворення фіброзної тканини є порушення балансу між синтезом і руйнуванням білків ПКМ.

Аналіз змін вмісту ІЛ-4 в сироватці крові виявив суттєве збільшення його концентрацій у підлітків з ДВ порівняно з рівнями у підлітків контрольної групи (у 5,6 раза) ( $p < 0,05$ ). ІЛ-4 здатен інгібувати продукцію ІЛ-1, ІЛ-6, TNF- $\alpha$  у моноцитах і зменшувати цитотоксичні реакції [79, 308, 367]. Тому підвищення його вмісту при розвитку запальних і деструктивних змін слизової оболонки дванадцятипалої кишки можна розглядати як компенсаторну реакцію.

Вміст TNF- $\alpha$  порівняно з контрольною групою був достовірно знижений, найбільш значно у дівчат (у юнаків в 1,4 раза, у дівчат в 1,9 раза). Оскільки TNF- $\alpha$  бере участь у регуляції ремоделювання СТ, активуючи проліферацію фібробластів [63], можна припустити, що у хворих з ДВ активність колагено- і фібрилогенезу знижена, що проявляється в період загострення захворювання у недостатній продукції TNF- $\alpha$ .

Крім того, TNF- $\alpha$  потенціює синтез INF- $\gamma$  та ІЛ-10, сприяє диференціюванню CD4+-клітин у Th1-субпопуляцію [391], стимулює утворення і ріст грануляційної тканини, визначає динаміку відновлення слизової оболонки, контролює взаємодію епітелію і оточуючих його клітин [205]. Тому дефіцит TNF- $\alpha$  і його обмежена участь у формуванні відповіді на пошкодження, може вести до неефективної репарації і бути одним з факторів ризику хронізації захворювання і розвитку рецидивів.

Відомо, що при виразковій хворобі зміні піддається підслизовий шар слизової оболонки дванадцятипалої кишки, багатий сполучнотканинними елементами, в результаті чого ремісія настає з утворенням рубця. При цьому ключовим фактором у детермінації неефективної репарації тканин, які явно мають високий регенераторний потенціал, провідну роль відіграє порушення процесу формування СТ (грануляційної тканини) [515], розвиток якої характеризується появою унікальною клітинної лінії – міофібробластів, що

вважаються головними ефекторними клітинами грануляцій і стимуляторами епітеліальної реституції [246]. При цьому міофібробласт має здатність секретувати не тільки компоненти ПКМ СТ (колаген I, III, IV і VIII типів, фібронектин і ламінін), але і ряд про- і протизапальних цитокінів.

Є дані про роль IL-6 та IL-1 $\beta$  у формуванні грануляційної тканини і стимуляції пулу міофібробластів. В експерименті показано, у мишей з нокаутованим геном IL-6 мало місце порушення процесу загоєння виразок, пов'язане з дефектом утворення міофібробластів. При цьому IL-1 $\beta$  стимулював активність циклооксигенази-2, посилюючи продукцію простагліцину міофібробластами в зоні загоєння виразки [209].

Можна припустити, що виявлене порушення динамічної рівноваги між продукцією цих цитокінів визначає напругу адаптаційних механізмів і супроводжується розвитком запально-деструктивних процесів, що може вести до уповільнення регенерації виразкового дефекту.

У дослідженнях, проведених у період клініко-ендоскопічної ремісії, було показано, що у дівчат вміст вивчених цитокінів, крім концентрації TNF- $\alpha$ , нормалізувався. Однак у юнаків рівень IL-1 $\beta$  та IL-6 залишався підвищеним, хоча і був нижчим, ніж у період загострення. На підставі отриманих результатів можна припустити, що у період ремісії у підлітків з ДВ зберігається зниження активності колагено- і фібриногенезу, про що свідчить недостатня продукція TNF- $\alpha$ . У юнаків не відбувається адекватного зниження прозапального потенціалу і запальні процеси в слизовій оболонці гастроудоденального тракту тривають.

Спостережувані зміни, мабуть, можна пояснити наступним. В період активного формування грануляційної тканини в ділянці виразкового дефекту інтенсифікуються не тільки процеси утворення колагену, але і його розпад, особливо в стадії остаточної організації рубця. Підтвердженням цього припущення є підвищення рівнів прозапальних цитокінів у сироватці крові юнаків, що спостерігається навіть у фазі ремісії ДВ. Ймовірно, зберігаючийся у юнаків в період ендоскопічної ремісії підвищений рівень даних цитокінів

спрямований на посилення синтезу колагену фібробластами і має адаптаційно-компенсаторний характер, спрямований на активну стимуляцію колагенотворення в умовах зниженого метаболізму колагенвмісних структур.

Але відома також пригнічувальна дія ІЛ-6 на запальну реакцію шляхом гальмування синтезу ряду прозапальних субстанцій. На більш пізніх етапах запального процесу ІЛ-6 входить до сигнального шляху активації фібробластів і при цьому стимулює протизапальні процеси, пригнічує синтез ІЛ-1 і TNF- $\alpha$  [397], що теж може вносити свій вклад до виявлених змін.

Вміст ІЛ-4 у юнаків не тільки не нормалізувався, але навіть підвищувався (до  $209 \pm 31,5$  пкг/л,  $p < 0,05$ ) порівняно з фазою загострення. Відомо, що ІЛ-4 служить кофактором проліферації В-лімфоцитів, що покоються, а також індукує в цих клітинах синтез імуноглобулінів, підтримує життєздатність і ріст інтактних Т-клітин, підвищує активність цитотоксичних Т-лімфоцитів [372]. Можна припустити, що тривала інтенсивна стимуляція клітин, що продукують антитіла, призводить до гіперактивації імунної системи з подальшою декомпенсацією за кількісними та якісними ознаками і, відповідно, до зниження ефективності відповіді на ушкодження. Це сприяє розвитку і підтримує уповільнені запально-деструктивні процеси. У зв'язку з цим тривале збільшення продукції ІЛ-4, ймовірно, можна розглядати як фактор, що сприяє хронізації захворювання. Ймовірно, виявлені зміни пояснюють більшу частоту зустрічальності і рецидивування виразок дуоденальної локалізації у підлітків чоловічої статі.

Входження зазначених показників (ІЛ-4 та ІЛ-6) до групи «Фактору 1», яка відображає залучення до патологічного процесу ФССТ в цілому при значній тривалості процесу, дозволяє розглядати їх зміни як один із факторів хронізації і запропонувати їх визначення для оцінки ризику рецидивування.

Таким чином, цитокіни, володіючи плейотропною дією, здатні прямо чи опосередковано брати участь у ульцерогенезі. Зміни концентрацій цитокінів у сироватці крові відображають динаміку ульцерозного і

репаративного процесів, опосередкованих реакцією ФССТ. Найбільш інформативними показниками є рівні ІЛ-4, ІЛ-6 і TNF- $\alpha$ , які можуть бути запропоновані в якості додаткових методів прогнозування перебігу виразкової хвороби, визначення ступеня хронізації запального процесу і контролю ефективності терапії, і, можливо, можуть розглядатися в ролі терапевтичних мішеней, що потребує подальших досліджень.

Аналіз стану ФССТ при ульцерогенезі представляється актуальним не тільки з точки зору оцінки ймовірності розвитку дизрегенераторних порушень, але й пошуку терапевтичних підходів, що підвищують регенераційний потенціал тканини при виразкозагоєнні.

#### **8.4 Вивчення можливостей використання молекулярних маркерів фізіологічної системи сполучної тканини ФССТ для діагностики донозологічних станів та оцінки популяційного здоров'я**

В даний час загально визнано, що здоров'я населення є найбільш узагальнюючим показником якості навколишнього середовища. Однак використання для такого аналізу статистичних даних про здоров'я населення не має сенсу, оскільки вони фіксують доконаний факт, і не завжди інформативні для прогнозування. Тому в якості критерію для прогнозу необхідно шукати такі показники, які змінюються до розвитку захворювання і можуть бути зафіксовані на популяційному рівні з достатньою статистичною достовірністю.

Фундаментальною проблемою оцінки впливу навколишнього середовища є те, що, хоча негативний вплив того чи іншого чинника відчуває велика кількість людей, тільки частина з них чутливі до даного впливу (групи ризику). Сприйнятливість цього контингенту обумовлена фактором або групою факторів, що сприяють розвитку захворювання. Важлива ознака групи ризику – чутливість до впливаючого фактору. Сама природа факторів, що впливають на характер відповідної реакції на дію навколишнього середовища, містить у собі вказівку на внутрішню неоднорідність групи

людей, що піддаються техногенному навантаженню. Звідси випливає, що ефект впливу є функцією не тільки від рівня фактора, але і від внутрішньої структури популяції.

В якості інтегруючого показника, що відображає всю сукупність гетерогенних форм реакції популяції на досліджуваний фактор, доцільно використовувати адаптаційний резерв, розглядаючи його як міру стійкості біологічних систем в тих чи інших конкретних екологічних умовах [518]. Відповідна реакція популяції залежить не тільки від ступеня впливу, але і від обсягу адаптаційного резерву. Важливе і часто вирішальне значення в цих процесах мають адаптаційні резерви СТ, що визначають розвиток загальнопатологічних стресорних реакцій та зв'язаних з ними адаптаційних процесів.

Так, в популяції число людей, які страждають захворюваннями (можливо, обумовлених даним фактором), підвищується не тільки при збільшенні інтенсивності фактора, але і при зниженні адаптаційного резерву. Причому чутливість до фактора – величина, яка варіює від популяції до популяції. Тому для оцінки адаптаційного резерву популяції необхідно використання маркерів широкого спектру дії. Найкращими кандидатами на цю роль є маркери обміну СТ, оскільки її обмін змінюється при захворюваннях різної етіології і локалізації. В теперішній час у населення сформувався високий донозологічний фон зі значним порушенням процесів адаптації, в тому числі опосередкованих через реакцію СТ.

Проблема оцінки здоров'я населення і вибору критеріїв, покладених в основу при встановленні ефектів впливу пошкоджуючих факторів, в тому числі і екологічних, до теперішнього часу не вирішена. Незважаючи на актуальність проблеми адаптації, що лежить в основі оцінки рівня здоров'я, визначення стану адаптаційних резервів залишається досить складним і до кінця не опрацьованим завданням. При цьому однією з найбільш актуальних завдань є диференціація станів здоров'я практично здорових, оскільки наслідком її вирішення є диференційований підхід до профілактики хвороби.

Харків відноситься до регіонів високого промислового потенціалу, де складається складна екологічна ситуація і у населення реєструється збільшення захворювань всіх класів.

Ми вивчали закономірності метаболізму СТ у практично здорових осіб в залежності від екологічних умов з метою оцінки можливості використання характеристики ФССТ в якості критерію оцінки адаптаційного резерву, рівня здоров'я та екологічної ситуації. Вивчався стан показників обміну СТ у практично здорових жителів Харкова, які проживають в районах з різним екологічним навантаженням і не піддаються впливу шкідливих виробничих факторів (див. розділ 2).

Виходячи з цього, вибір точок для дослідження здійснювався наступним чином: обидві точки знаходяться в межах міста. При цьому транспортне сполучення, забудова будинків та озеленення житлової території істотно відрізняються один від одного. «Брудна» точка – це перетин двох автотранспортних доріг, обидві з яких – магістралі з напруженим транспортним сполученням. Друга точка – відносно «чиста» – мікрорайон в «спальній» частині міста, де містобудівні заходи спрямовані на зниження концентрації вихлопних газів і виконані спеціальні прийоми забудови за принципом зонування. Уздовж магістралі є зелені насадження, які служать своєрідним фільтром: затримують тверді домішки і регулюють шумовий фон. Аналіз результатів лабораторного контролю стану повітряного басейну двох досліджуваних територій за даними міської СЕС показав, що по ряду забруднюючих речовин один з районів можна вважати відносно «брудним», а другий відповідно «чистим».

Аналіз результатів дослідження виявив певні відмінності у вмісті маркерів обміну СТ в групах відносно «чистого» (1 і 3 групи) і «брудного» (2 і 4 групи) районів. При порівнянні показників у 1 і 2 групах (табл.8.4.1) встановлено, що рівень АТАФК (IgG) достовірно підвищувався у обстежених 2 групи («брудний» район) порівняно з 1 групою («чистий» район).



Таблиця 8.4.1

Показники обміну СТ у обстежених 1 та 2 груп

Показники	1 група	2 група
ОП, мг/добу	26,25±0,70	27,06±0,87
ГАГ, мг/добу	4,50±0,20	5,01±0,34
АТАФК (IgG) нг/мл	0,38±0,13	1,13±0,24*

\* – відмінності достовірні між 1 і 2 групами ( $p < 0,05$ )

Поява атипових мінорних форм колагену в осіб, які проживають в районі з підвищеним екологічним навантаженням може мати особливе значення. Аномалія структури колагену може порушувати організацію надмолекулярних структур та взаємодію колагену з іншими компонентами СТ. Такого роду порушення часто є первинною основою розвитку патологічних процесів різної етіології.

Відомо, що будь-яке пошкодження запускає ланцюг подій, в ході яких послідовно відбувається розпад і синтез певних типів колагену, який закінчується формуванням структури, характерної для даної тканини. При наближенні до кордонів резервів адаптації все частіше виникають збої взаємопов'язаного ланцюга процесів репарації, в результаті чого формуються структури, які не повною мірою відповідають здоровій тканини. Спектр цих змін досить широкий і включає в себе стани від відносного здоров'я до важких форм патології.

Одним з показників неповноцінності тканини є наявність в її структурі атипових форм колагену. Причому антитіла до них можуть перебувати у крові після усунення структурного дефекту. Таким чином, можна припустити, що наявність атипових форм колагену може бути маркером для оцінки напруженості механізмів адаптації. Ці зміни є фоном, на якому ймовірність розвитку патології різного генезу різко зростає. Одним з негативних ефектів реакції організму на таку тканину є зміна її антигенних

властивостей, що може призводити до появи антитіл, характерних для атипових форм колагену.

Рівні вмісту ОП і ГАГ у сечі при порівнянні 1 і 2 груп достовірно не відрізнялися, однак ці показники мали тенденцію до збільшення у обстежених з «брудного» району. На рис.8.4.1 представлений розподіл значень концентрацій ГАГ у сечі обстежених 1 та 2 груп.

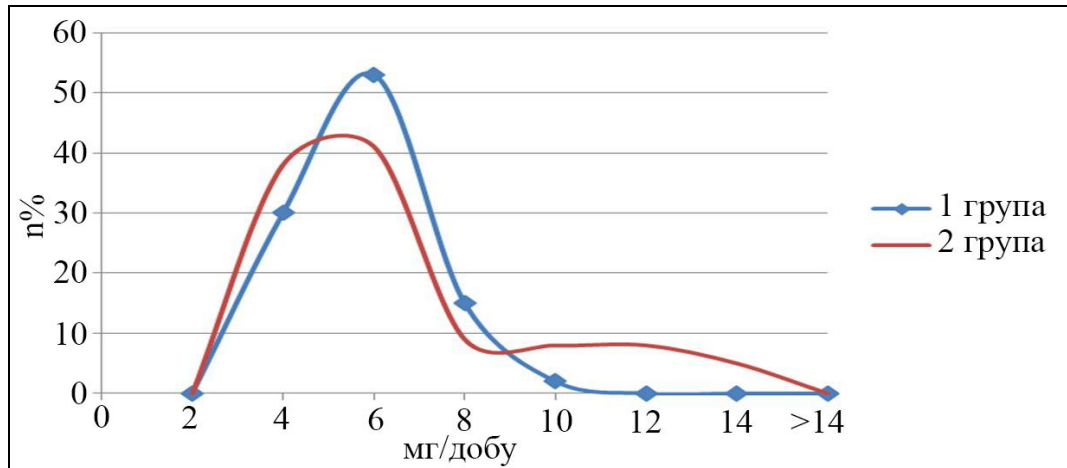


Рис. 8.4.1 – Розподіл значень концентрацій ГАГ у сечі обстежених 1 та 2 груп

По осі абсцис відкладені діапазони концентрацій ГАГ. По осі ординат – кількість випадків у групі обстежених з концентрацією ГАГ, що лежить в даному діапазоні, яке нормовано на загальне число вимірювань і виражено у відсотках. На рис.8.4.2 представлені графіки розподілу значень ОП для 1 та 2 груп, побудовані аналогічно.

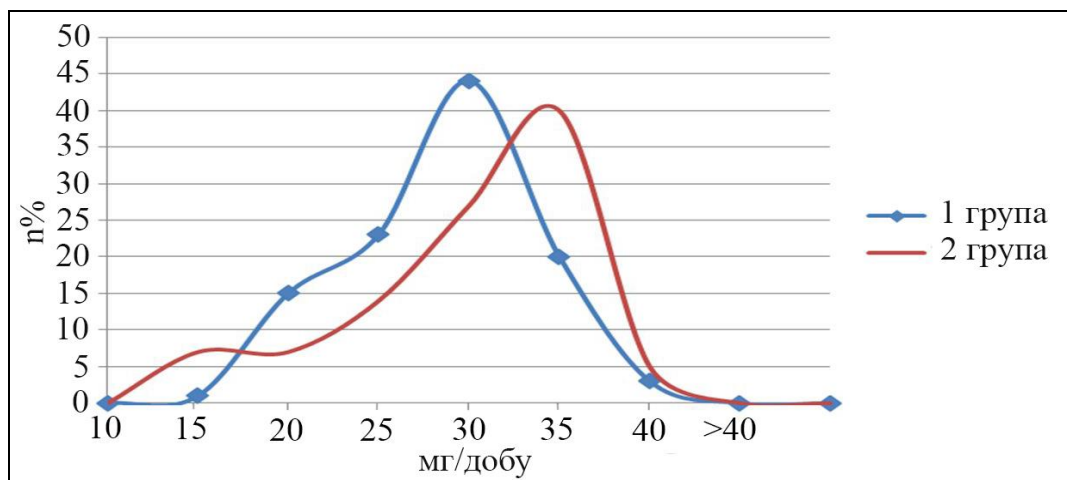


Рис. 8.4.2 – Розподіл значень концентрацій ОП у сечі обстежених 1 та 2 груп

Форма всіх кривих досить близька до нормального розподілу Гауса. Однак, криві для обстежених 2 групи дещо ширше, що відповідає більшому розкиду значень, максимум кривої для ОП дещо зміщений вправо. Крива розподілу концентрацій ГАГ для 2 групи має додаткову горизонтальну ділянку, відповідну значенням в діапазоні 8-14 мг/добу.

Таким чином, у обстежених 2 групи спостерігалися певні зміни показників, що характеризують обмінні процеси в СТ. Ймовірно, ці зміни можуть бути розцінені як напруга механізмів адаптації та зниження адаптаційного резерву. Можна припустити, що наявність гомеостатичного неблагополуччя свідчить про формування предпатологічного стану, обумовленого тривалим впливом екологічного фактора.

Дані, отримані при обстеженні 3 і 4 груп, практично не відрізнялися між собою (табл.8.4.2).

Таблиця 8.4.2

## Показники обміну СТ у обстежених 3 і 4 груп

Показники	3 група	4 група
ОП, мг/добу	25,5±1,16	24,5±1,24
ГАГ, мг/добу	4,27±0,33	4,33±0,39
АТАФК (IgG) нг/мл	0,30±0,15	0,95±0,26*

\* – тенденція до збільшення значень АТАФК (IgG) ( $0,1 > p > 0,05$ )

Малася тенденція до підвищення АТАФК (IgG) ( $p=0,073$ ), проте, відмінності не були достовірними. Ймовірно, обстежувані 4 групи мають високий рівень адаптаційного резерву. У той же час тенденція до появи атипових форм колагену, можливо, може бути розцінена як стан напруження адаптаційних механізмів. При цьому функціональні можливості організму знижені, гомеостаз підтримується завдяки певному напруженню регуляторних систем. Стан напруження адаптаційних механізмів, який не

виявляється при традиційних клінічних обстеженнях, слід віднести до донозологічних, тобто передуючих розвитку захворювання.

При аналізі графіків розподілів концентрацій АТАФК (IgG) для 3 і 4 груп (рис.8.4.3) встановлено, що криві для обох груп значно перекриваються одна з одною, проте крива для 4 групи відрізняється великим розкидом значень, має два додаткових неявно виражених максимуму в діапазонах 2,0-3,0 нг/мл і 5,0-6,0 нг/мл. Таким чином, у групі обстежених без наявності хронічних захворювань, підданих підвищеному екологічному навантаженню (4 група), спостерігаються зміни, подібні до змін у групах, які включають осіб з наявністю хронічних хвороб. Слід також зазначити, що середні величини досліджуваних показників у всіх групах збігалися з літературною нормою, в той же час між групами були виявлені відмінності, найбільш наочно представлені при використанні методу побудови варіаційного ряду. Отже, обстежені з порівнюваних груп мають різний запас резервів адаптації і повинні бути віднесені до різних груп здоров'я. Можна припустити, що хронічний вплив підвищеного екологічного навантаження не викликав розвитку захворювань, однак, знизив реактивність організму, створюючи тим самим сприятливий ґрунт для всіх видів хвороб. Мають місце гомеостатичні порушення на молекулярному рівні.

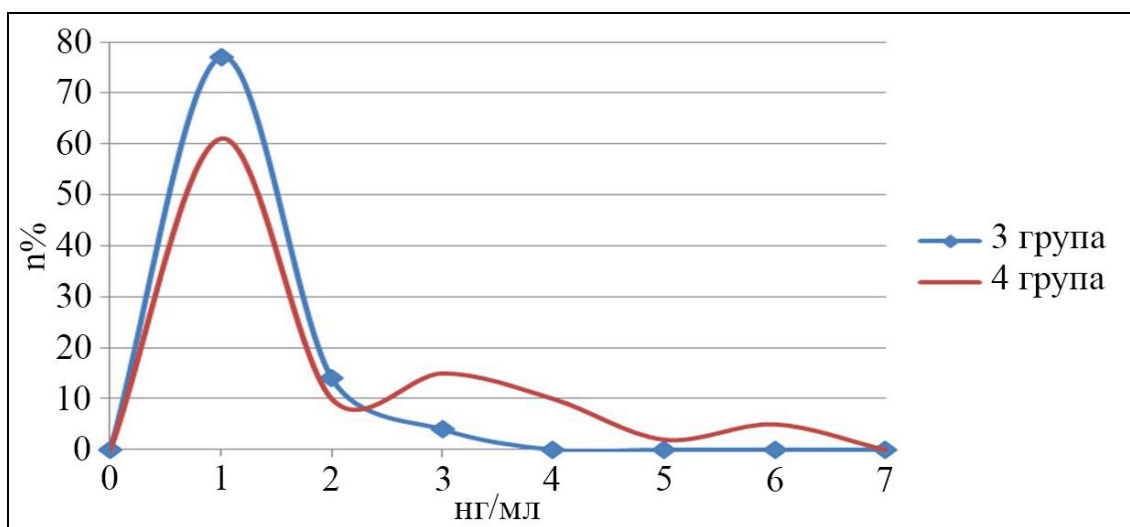


Рис. 8.4.3 – Графіки розподілів концентрацій АТАФК (IgG) для 3 і 4 груп

Відомо, що в основі будь-якого патологічного процесу лежать порушення на первинному рівні організації – молекулярному. Зміни на молекулярному рівні є первинною ланкою, що запускає механізм патологічного процесу і є причиною його переходу на більш високі рівні організації (субклітинний, клітинний, тканинний, органний). Причому перехід патологічного процесу на більш високий рівень можливий тільки у разі зриву компенсаторних механізмів адаптації даного рівня. Тому ініціальні механізми патології (як первинна відповідь на дію пошкоджуючого фактора), що виникають на молекулярному рівні, не завжди реалізуються у вигляді зривів фізіологічної адаптації або розвитку явних проявів хвороби та відокремлені від них значним проміжком у часі.

Таким чином, встановлено, що у практично здорових осіб, підданих підвищеному екологічному навантаженню в умовах великого міста, має місце тенденція до розвитку гомеостатичних порушень на молекулярному рівні, що проявляється змінами показників метаболізму СТ. Найбільш виразно ці тенденції простежуються при вивченні концентрації АТАФК (IgG). Порушення метаболізму СТ виявляються пов'язаними з дією шкідливих факторів навколишнього середовища. Отже, молекулярні маркери порушення обміну СТ можуть бути молекулярними індикаторами патологічних процесів і основою для кількісної оцінки первинних екологічних пошкоджень. Тому визначення молекулярних маркерів обміну СТ може бути використане для визначення рівня здоров'я, оскільки дозволить враховувати навіть ті зміни, які в силу компенсації за рахунок адаптаційних резервів не перейшли на верхні рівні і які неможливо врахувати при використанні інших підходів.

Таким чином, на підставі проведених нами досліджень з використанням модельних груп, можна припустити, що показники, які належать до групи «Фактору 3» (насамперед вміст ОП) та характеризують активацію обміну СТ і ступінь залучення ФССТ, будуть найбільш інформативними в популяційних дослідженнях. На нашу думку, ці показники

найбільш повно відповідають вимогам, що пред'являються до показників для медико-екологічних досліджень. Вони відображають стан обміну СТ незалежно від конкретної нозології, тобто можуть бути маркерами впливу несприятливих екологічних чинників різної природи, які запускають в організмі людини різні механізми формування патологічних процесів. Можна припустити можливість використання даних показників як універсального критерію для оцінки несприятливих факторів навколишнього середовища (ризик для здоров'я населення) завдяки наявності фізіологічних механізмів універсальної стереотипної відповіді СТ на пошкодження незалежно від його природи.

Таким чином, оцінка стану ФССТ дає можливість кількісно оцінювати перебіг патологічних процесів різної інтенсивності на різних стадіях їх розвитку – від донозологічних до виражених клінічних проявів. Маркери ФССТ дозволяють оцінювати зміни на первинному рівні біологічної організації – молекулярному. Це може бути використано для оцінки популяційного здоров'я і є необхідною умовою для цього, оскільки при популяційних дослідженнях у випадковій вибірці виявляються люди з різною стадією патологічного процесу.

Таким чином, в рамках запропонованого напрямку були запропоновані заходи для підвищення ефективності діагностики та лікування хворих з хронічними захворюваннями нирок, розроблені алгоритми ранньої діагностики нефросклерозу у хворих на ХП, ранньої діагностики ренальної остеодистрофії у хворих ХНН, у дітей з кардіопатією та остеопенією на тлі недиференційованої ДСТ.

Доведена діагностична цінність показників ФССТ щодо виявлення розвитку патологічних процесів різної інтенсивності в шлунку, ролі міжклітинних медіаторів у механізмі формування дуоденальної виразки у підлітків. Доведена можливість використання молекулярних маркерів ФССТ для діагностики донозологічних станів та оцінки популяційного здоров'я.

Для клінічної практики новий напрямок досліджень, у ході якого встановлюється зв'язок ФССТ з патологічними процесами, відкриває нові можливості, доступні клініцистам, для діагностики, прогнозування і лікування, доповнюючи або удосконалюючи існуючі. Однак визначення оптимального поєднання методик і їх придатності для діагностики конкретних захворювань вимагає подальших досліджень.

## РОЗДІЛ 9

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Оскільки метою даної роботи є виявлення стереотипних реакцій СТ як фізіологічної системи та особливостей механізмів її участі у формуванні різних патологічних процесів, то структура дослідження була побудована від приватного до загального. Для цього були розглянуті приватні випадки реакції ФССТ на пошкодження різних локалізацій і при різних впливах, а потім виявлені найбільш характерні зміни, які їм властиві.

Оскільки клінічний результат захворювання паренхіматозних органів пов'язаний саме з реакцією СТ (фіброзно-склеротичні зміни нирки, печінки, підшлункової залози), вони були обрані в якості одного з об'єктів досліджень. Індукцію склеротичного процесу вивчали, використовуючи різні механізми пошкодження і їх поєднання, з тим, щоб потім можна було виявити загальні, стереотипні зміни, характерні для реакції ФССТ, а не тільки конкретного патогенетичного механізму.

Реакцію СТ на системному рівні оцінювали на структурах СТ, спочатку інтактних, що не піддавалися в ході патологічного процесу безпосередньому впливу. Для цієї мети була обрана кісткова тканина. Це найбільша за масою частина ФССТ, що дає можливість прив'язати маркери обміну СТ, такі як ОП або ГАГ, до розвитку патологічного процесу. Крім того, за сучасними уявленнями, регуляція синтезу і резорбції кістки здійснюється специфічними цитокінами (система RANK-RANKL-OPG), які не беруть участі у регуляції інших тканин ФССТ.

Для виявлення найбільш загальних регуляторних механізмів ФССТ, вивчали її реакцію і при хронічній, і при гострій патології.

З урахуванням сказаного, був сформований дизайн дослідження, яке є експериментально-клінічним, проспективним, рандомізованим, контрольованим.



Механізми регуляції ФССТ вивчали на моделях патології паренхіматозних органів (нирки, печінка, підшлункова залоза) та кісткової тканини в експерименті.

Експериментальні дослідження проведені на 450 білих статевозрілих щурах (нелінійних щурах-самицях з масою тіла  $240 \pm 20$  г віком 6 місяців, щурах-самцях у віці 6 міс, щурах-самицях популяції Вістар у віці 3-3,5 місяців масою  $220 \pm 30$  г).

Були використані наступні моделі: 1) порушення метаболізму кісткової тканини під впливом глюкокортикоїдів [505], 2) ХНН [473], 3) поєданого впливу ХНН та глюкокортикоїдів, 4) порушення метаболізму кісткової тканини під впливом іммобілізаційного стресу та запалення [454], 5) патології органів ПДЗ введенням жовчі [21], 6) патології органів ПДЗ шляхом відтворення гострої хірургічної патології [422], 7) фіброзу печінки – інтрагастральним введенням розчину  $CCl_4$ , 8) фіброзу печінки – інтраперитонеальним введенням розчину  $CCl_4$  [141]. Контрольну групу склали 50 інтактних щурів.

Для з'ясування механізмів участі та обґрунтування доцільності вивчення стану ФССТ в клінічній практиці нами були досліджені показники стану ФССТ та цитокіновий статус у наступних групах хворих:

1) 174 хворих на гідронефроз II-III стадій, зумовлений обструкцією верхніх сечовивідних шляхів різної етіології, які були розподілені на 4 групи: 1 група – 52 хворих на гідронефроз II-III стадії, зумовлений вродженими обструкціями, які після оперативного втручання не мали рецидивів; 2 група – 51 хворий на гідронефроз II-III стадій, зумовлений вродженими обструкціями, у яких спостерігався рецидив захворювання; 3 група – 50 хворих на гідронефроз II-III стадії, зумовлений набутими обструкціями, які не мали рецидивів захворювання; 4 група – 21 хворий на гідронефроз II-III стадій, зумовлений набутими обструкціями, у яких спостерігався рецидив захворювання.

2) 133 хворих з обструктивними захворюваннями ПДЗ, які були розподілені на 3 групи: 1 група – 66 хворих з відсутністю або мінімальною тяжкістю ускладнень, 2 група – 52 хворих з ускладненнями середньої тяжкості, 3 група – 15 хворих з тяжкими системними ускладненнями.

3) 120 хворих на ХП, які були розподілені на 2 групи: 1 група – 72 хворих без ХНН, 2 група – 48 хворих з ХНН I-II стадій.

4) 65 хворих на ХХН, з яких пацієнтів з ХХН I стадії – 33 (1 група), з ХХН II стадії – 18 (2 група), з ХХН III стадії – 14 (3 група). Надалі в залежності від наявності чи відсутності артеріальної гіпертензії хворі були розподілені на дві групи: 34 пацієнта з ХХН та артеріальною гіпертензією (1 група), 31 пацієнт з ХХН без артеріальної гіпертензії (2 група).

5) 96 хворих з остеодистрофією внаслідок ХНН, які склали 3 групи: 1 група – 54 хворих з ХНН I стадії, 2 група – 26 хворих з ХНН II стадії, 3 група – 16 хворих з ХНН III стадії.

6) 80 дітей з кардіопатією та остеопенією на тлі недиференційованої ДСТ.

7) 200 осіб із захворюваннями шлунка різної тяжкості, які були розподілені на 4 групи по 50 осіб кожна. Групи були сформовані таким чином, щоб тяжкість патологічного процесу в шлунку і ризику для здоров'я зростали від групи 1 до групи 4.

8) 70 підлітків у віці 15-18 років, які страждають на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки.

Для оцінки можливості використання молекулярних маркерів ФССТ для діагностики донозологічних станів та оцінки популяційного здоров'я досліджували показники обміну СТ у 102 практично здорових жителів м.Харкова, які проживають в районах з різним екологічним навантаженням: 51 жителя умовно «чистого» і 51 жителя умовно «брудного» району.

Контрольна група формувалась для кожної дослідної групи – по 30-50 практично здорових осіб, репрезентативних за віком і статтю.

У сироватці крові методом імуноферментного аналізу досліджували вміст інтерлейкінів (IL-1 $\beta$ , 1RA, 2, 4, 6, 8, 10, 17), TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, RANKL, OPG, адипонектину, вісфатину, PEA, паратиреоїдного гормону, кальцитоніну, естрадіолу. Визначали рівень антитіл до атипівих форм колагену та антитіл до тканини підшлункової залози.

Агрегацію тромбоцитів, індуковану АДФ у концентраціях 2,5, 5,0 і 10,0 мкмоль/л, досліджували з використанням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів «SOLAR 2110» (Білорусь).

У сироватці крові та сечі за допомогою біохімічних методів визначали рівень загального, вільного та зв'язаного ОП (за методикою П.Н. Шараєва, 1990), загального білка, альбуміну, креатиніну, у сироватці крові – фракції ГАГс за методом М. Р. Штерн (1982), у сечі – ГАГ (карбазоловим методом за глюкоуроновою кислотою).

Для морфологічної верифікації проводили комплексне гістологічне і гістохімічне дослідження зразків тканин печінки і підшлункової залози. Ультраструктурну організацію клітин вивчали за допомогою електронного мікроскопа ЕМВ-100.

Статистичну обробку проводили за допомогою пакету статистичних програм Statistica 6.0. На першому етапі виконували аналіз кривих розподілу даних. Якщо розподіл був близький до нормального, аналіз проводили з використанням методів варіаційної статистики – two-way ANOVA (Fisher LCD post-hoc test). Якщо розподіл значно відрізнявся від нормального, відмінності між групами визначали за методом «Kruskal-Wallis ANOVA and median test». Кореляційний аналіз проводили за допомогою параметричних та непараметричних методів в залежності від характеру розподілу. Факторний аналіз виконували у тому ж пакеті програм.

При проведенні експериментальних досліджень встановлено, що рівень ІЛ-4 у сироватці крові щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушення метаболізму в кістковій тканині був вищим за контроль в 1,5 раза, а у щурів з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу – майже в 2 рази ( $p < 0,05$ ).

У тварин з ХНН він не відрізнявся від рівня контрольних щурів, у тварин з іммобілізаційним стресом та запаленням мав тенденцію до збільшення. Відповідно, у щурів з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу рівень ІЛ-4 був більш ніж у 2 рази вищим за такий у групі з ХНН, і на 30 % більше, ніж у групах із глюкокортикоїдним впливом та з поєднанням іммобілізаційного стресу та запалення ( $p < 0,05$ ).

З усіх модельних груп рівень ІЛ-6 відрізнявся від рівня контрольної групи тільки у щурів з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу ( $p < 0,05$ ) – він був меншим на 74 %. При порівнянні даних рівня ІЛ-6 поміж експериментальними групами виявилось, що в групі з глюкокортикоїдним впливом результат був вищим, ніж у групі щурів з ХНН, поєднаною з глюкокортикоїдним впливом, та в групі щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням ( $p < 0,05$ ). З рівнем ІЛ-6 у щурів групи з ХНН відмінностей не було. Рівень ІЛ-6 у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням був також вищим за такий у щурів групи з ХНН, поєднаною з глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ). Крім того, рівень ІЛ-6 у щурів з ХНН теж був вищий за рівень цього міжклітинного медіатора у щурів з ХНН, поєднаною з глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ).

Підвищений рівень ІЛ-4 на тлі зниження рівня ІЛ-6 у групі тварин з ХНН та глюкокортикоїдним впливом може свідчити про реалізацію патологічної відповіді організму на пошкодження. Важливо враховувати, що ІЛ-6 – профіброгенний цитокін, він підвищує синтез фібробластами колагену, ГАГ та тканинного інгібітору ММП-1 у СТ [28]. При низькому рівні ІЛ-6 у СТ не відбувається достатньої стимуляції синтезу колагену. Відповідно, СТ втрачає колагеновий матрикс і не відновлює його шляхом активації синтетичних процесів. Це тягне за собою порушення її ремоделювання.

Рівень ІЛ-1RA підвищувався у щурів всіх груп ( $p < 0,05$ ), крім групи з глюкокортикоїдним впливом. При цьому у щурів із глюкокортикоїдним впливом він був достовірно нижчим лише порівняно з таким при ХНН ( $p < 0,05$ ).

Вміст TGF-1 $\beta$  у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням та з ХНН був нижчим, ніж у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Зниження концентрації TGF-1 $\beta$ , можливо, є наслідком зменшення кількості клітин, інфільтруючих інтерстицій нирки, зменшенням функціонуючих структур органу, здатних експресувати TGF-1 $\beta$ . Подібні зміни є несприятливою прогностичною ознакою і свідчать про завершення процесів нефросклерозу.

При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що рівень TGF-1 $\beta$  у щурів з порушенням ремоделювання кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів та у щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом був вищим, ніж у групі з ХНН ( $p < 0,05$ ).

Рівень IL-17 був статистично достовірно вищий у всіх модельних групах порівняно з контролем, за виключенням групи з експериментальним порушенням стану кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів. Рівень IL-17 у щурів з глюкокортикоїдним впливом був нижчим, ніж у щурів з іммобілізаційним стресом і запаленням, з ХНН та в групі з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). У групах з моделлю іммобілізаційного стресу й запалення та з ХНН він був нижчим за такий при поєднанні ХНН та глюкокортикоїдного впливу ( $p < 0,05$ ).

Рівень RANKL достовірно знижувався у щурів із стресом та запаленням ( $p < 0,05$ ), в інших групах характеризувався підвищеними значеннями, але статистично значущих відмінностей встановлено не було. При порівнянні його між групами з'ясувалося, що рівень RANKL у щурів з глюкокортикоїдним впливом був вищим за рівень цього цитокіну у щурів з іммобілізаційним стресом і запаленням ( $p < 0,05$ ), який також був нижчим, ніж у групі з ХНН та у тварин з ХНН та поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ).

Рівень OPG достовірно підвищувався у щурів з глюкокортикоїдною моделлю і з ХНН ( $p < 0,05$ ). У групі з порушенням ремоделювання СТ за допомогою глюкокортикоїдів рівень OPG був вищим, ніж у щурів з іммобілізаційним стресом і запаленням, з ХНН та в групі з ХНН, поєднаною

з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). У щурів з іммобілізаційним стресом і запаленням рівень OPG був вищий за такий у групі з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ), а у останньої був нижчим за вміст у щурів з ХНН ( $p < 0,05$ ).

Рівень адипонектину мав достовірно підвищені значення у щурів з ХНН та з ХНН та глюкокортикоїдним впливом. У тварин з глюкокортикоїдною моделлю його рівень знижувався порівняно з контрольною групою. При порівнянні даних експериментальних груп поміж собою виявилось, що рівень адипонектину у щурів з глюкокортикоїдним впливом був нижчий за такий у щурів з ХНН ( $p < 0,05$ ) та в групі з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів ( $p < 0,05$ ). У щурів з моделлю іммобілізаційного стресу та запалення рівень адипонектину був нижчим за такий у щурів групи з ХНН ( $p < 0,05$ ) та у тварин з ХНН та поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ).

Підвищені рівні адипонектину можуть здійснювати руйнівний вплив на кісткову тканину шляхом підвищення рівня RANKL та інгібування продукції OPG, що підсилює кісткову резорбцію [7, 161, 229]. Деякі дослідження показали значне зворотне відношення між адипонектином та мінеральною кістковою щільністю [306, 355]. Знижений рівень адипонектину у щурів із глюкокортикоїдною моделлю в свою чергу може вести до посилення процесів резорбції сполучнотканинних структур за рахунок зниження його активуючого впливу на фібробласти [7].

Вміст вісфатину достовірно підвищувався в групах з ХНН і ХНН з глюкокортикоїдним впливом. При порівнянні даних в експериментальних групах поміж собою встановлено, що у щурів з глюкокортикоїдним впливом рівень вісфатину був нижчий, ніж у щурів з ХНН ( $p < 0,05$ ) і в групі з ХНН, поєднаною з впливом глюкокортикоїдів. У щурів з моделлю іммобілізаційного стресу та запалення він був нижчий, ніж у щурів з ХНН, і у тварин з ХНН з поєднаним глюкокортикоїдним впливом ( $p < 0,05$ ). Також група щурів з ХНН відрізнялася за рівнем вісфатину від групи з поєднанням

ХНН з впливом глюкокортикоїдів, в останній групі рівень цього міжклітинного медіатора був нижчим ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, змодельовані патологічні процеси супроводжуються порушенням балансу між про- та протизапальними цитокінами, що відбивається на всій ФССТ, в тому числі й на метаболічних процесах в нирковій тканині. У тварин з ХХН при дослідженні щільності кістки було відзначено її достовірне зниження ( $1,43 \pm 0,04$  г/см<sup>3</sup>) порівняно з контрольною групою ( $1,62 \pm 0,04$  г/см<sup>3</sup>), що підтверджує порушення ремоделювання кістки і розвиток остеопорозу в цій групі.

При проведенні кореляційного аналізу в групі тварин з ХХН було виявлено, що рівень ІЛ-1RA негативно корелював з рівнем OPG. Рівень ІЛ-17 корелював з рівнем ІЛ-1RA ( $p < 0,05$ ), а рівень ІЛ-1RA з рівнем TGF- $\beta$ 1 ( $p < 0,05$ ) в контрольній та експериментальній групах, причому в контрольній групі залежність була прямою, а в експериментальній – зворотною. Можна припустити, що кореляція в групі з ХХН відображає взаємодію цитокінів при розвитку хронічного запалення. Цей етап характеризується активністю прозапальних цитокінів і недостатньою дією їх інгібіторів і антагоністів, що знаходить підтвердження в нашому випадку, де присутня зворотна кореляція між прозапальним ІЛ-17 і протизапальним ІЛ-1RA на тлі зростаючих рівнів цих цитокінів.

Кореляції рівнів цитокінів у тварин демонструють регуляторні взаємозв'язки у ФССТ. Поява нових взаємозв'язків між парами цитокінів, а також зміна їх напрямів свідчить про порушення в роботі регуляторних механізмів при ХНН. Оскільки міжклітинні медіатори відіграють важливу роль у ремоделюванні СТ і склерозуванні нирки [159, 271], можна припустити, що між порушеннями кісткового метаболізму і нирковою патологією існує механізм зворотного зв'язку, що реалізується за допомогою цитокінів.

При дослідженні екскреції ОП з сечею встановлено, що усі його фракції достовірно підвищилися у тварин з ХНН ( $p < 0,05$ ). Вміст загального

ОП у групі з ХНН був більшим у 4 рази ніж у контролі. Слід зазначити, що використана методика моделювання ХНН передбачала створення гострого пошкодження нирок, яке згодом трансформувалося в ХНН. При гострому пошкодженні нирок відзначена лише тенденція до збільшення фракцій вільного і зв'язаного ОП, а при хронізації процесу його вміст був достовірно вищим ( $p < 0,05$ ). Отже, у щурів з ХНН спостерігалось порушення балансу процесів синтезу та розпаду колагену, про що свідчить зростання рівнів усіх фракцій маркера метаболізму СТ – ОП в сечі. При цьому більш вираженим було збільшення рівня зв'язаного ОП, що говорить про компенсаторну гіперактивність синтетичних процесів, яку можна розглядати як фактор ризику розвитку нефросклерозу і одночасно як фактор зниження ризику розвитку остеопорозу.

Встановлено достовірне підвищення рівня паратиреоїдного гормону у щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом (у 1,8 раза) і зниження в групі з глюкокортикоїдним впливом відносно контролю ( $p < 0,05$ ). Достовірні відмінності виявлені між групою з глюкокортикоїдною моделлю та групою з ХНН та глюкокортикоїдним впливом. У щурів останньої групи він був вищим ( $p < 0,05$ ). Також рівень паратиреоїдного гормону був достовірно нижчим у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням при порівнянні з таким у щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом.

Вміст кальцитоніну відносно контролю підвищувався у щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням ( $p < 0,05$ ). Він також був вищим, ніж у тварин з поєднанням ХНН та глюкокортикоїдного впливу ( $p < 0,05$ ).

За рівнем паратиреоїдного гормону групи виявилось можливим ранжувати у зростаючий ряд: глюкокортикоїдна модель, іммобілізаційний стрес та запалення, контроль, ХНН, ХНН та глюкокортикоїдний вплив. За зростанням рівня кальцитоніну порядок значень був зворотнім. Отримана послідовність моделей відображує значення гормонального фактору у патогенетичних механізмах розвитку порушень метаболізму СТ. Рівень естрадіолу у щурів усіх груп достовірно не відрізнявся від контрольного.



При дослідженні щільності кістки у щурів модельних груп виявлено, що порівняно з контрольною групою із середнім значенням  $1,62 \text{ г/см}^3$  цей параметр знизився у щурів з глюкокортикоїдною моделлю ( $1,41 \text{ г/см}^3$ ) і у тварин з ХНН ( $1,43 \pm 0,04 \text{ г/см}^3$ ) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує порушення ремоделювання кісткової тканини і розвиток остеопорозу. Відношення маси кістки до діаметру діяфізу у щурів із глюкокортикоїдною моделлю було меншим, ніж у щурів контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, дослідження механізмів регуляції комплексних патофізіологічних процесів у СТ при патології нирок та остеопорозі виявили значні порушення регуляторних механізмів її ремоделювання. Відбувається порушення механізмів регуляції СТ, які здійснюються цитокінами, на рівні ФССТ. Ці зміни захоплюють найбільшу за масою СТ кісткову систему. Регуляція ремоделювання кісткової тканини знаходиться під керуванням сигнального шляху системи RANK-RANKL-OPG. При дослідженні функціонування основної регуляторної ланки – показників RANKL та OPG, а також додаткової, яку складають адипокіни, встановлено збільшення рівня RANKL, який активізує резорбцію, а також адипокінів, з яких адипонектин відомий, крім іншого, як фактор підвищення резорбції шляхом збільшення рівня RANKL.

Окрім стереотипних механізмів, спільних для всіх дослідних моделей, були виявлені відмінності процесів ремоделювання СТ в різних модельних групах. Для глюкокортикоїдної моделі основна відмінність полягає у пригніченні проліферації фібробластів. При порушенні стану нирок запальні реакції викликають порушення функціонування регуляторних механізмів сполучнотканинного ремоделювання аж до виключення з них деяких ланок сигнальних шляхів.

Дослідження показників метаболізму СТ у щурів при моделюванні патології органів ПДЗ проводилося у динаміці: через 1, 2, 3 та 4 місяці після початку ін'єкцій жовчі.

Виявилося, що рівень загального ОП у сечі щурів у всі терміни спостереження після початку ін'єкцій жовчі був достовірно вище, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), однак вбачалася тенденція до зниження цього показника від місяця до місяця. Достовірне зниження порівняно з 1 місяцем спостереження було виявлене через 3 та 4 місяці. Рівень вільного ОП у всі терміни спостереження був достовірно вище, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Однак, між термінами забору матеріалу протягом спостереження статистично значимих змін цього показника не було. Рівень зв'язаного ОП був достовірно вищим за контроль у всі терміни спостереження, але статистично достовірних відмінностей між різними термінами не виявлено.

Через 3 місяці частині експериментальних тварин було проведено серію ін'єкцій пентоксифіліну (2 підгрупа даної моделі експерименту). На 4 місяць спостережень у 2 підгрупі рівень загального і зв'язаного ОП був дещо вищим, а вільного дещо нижчим, ніж в підгрупі без ін'єкцій (1 підгрупа даної моделі експерименту), проте ці відмінності не були статистично значущими. Однак у щурів 2 підгрупи спостерігалася нормалізація рівня екскреції вільного ОП (відсутня статистично значима різниця з контролем), що свідчить про тенденцію до стабілізації обміну колагену при збереженні превалювання процесів синтезу над процесами розпаду.

При мікроскопічному аналізі препаратів печінки щурів 1 підгрупи виявлені деструктивно-дистрофічні зміни з утворенням прошарків СТ, порушенням трабекулярного розташування гепатоцитів, їх руйнуванням на значній території органу. Спостерігалися значні території, на яких розташовувалися зруйновані, некротизовані клітини та клітинний детрит. Вздовж порталних трактів формувалися прошарки СТ різної товщини, які чітко визначалися при забарвленні за Ван Гізоном. На відміну від 1 підгрупи, у печінці щурів 2 підгрупи не спостерігалось прошарків СТ між печінковими часточками. Вузькі смужки СТ виявлялися переважно навколо окремих тріад. Звертала на себе увагу значна кількість двоядерних клітин – від 6 до 12-16

гепатоцитів у полі зору мікроскопу, що свідчить про підсилення регенераторного процесу.

Рівень ОП у сечі щурів при моделюванні гострої хірургічної патології органів ПДЗ не зазнав достовірних змін порівняно з контролем. Спостерігалася невелика тенденція до збільшення рівня вільного та зниження зв'язаного ОП. Гістологічне дослідження зразків печінки через 1 місяць після операції виявляло порушення гістоархітектоніки органу та деструктивні зміни. Ознаки репаративного процесу з'явилися через 4 місяці. У підшлунковій залозі у вищезазначені терміни встановлені незначні зміни у структурі органа, які дозволяють стверджувати про порушення регіонарного кровообігу.

У сечі щурів, які отримували  $CCl_4$  інтрагастрально, через 4 тижні після початку експерименту концентрація загального та зв'язаного ОП знизилася порівняно з контрольним рівнем ( $p < 0,05$ ), але до кінця досліджуваного періоду підвищувалася, що, ймовірно, пов'язано з фібротизацією печінки. Цей процес обумовлює зміни вмісту загального та зв'язаного ОП і при інтраперитонеальному введенні  $CCl_4$ : його рівень при даному способі введення через 2 місяці підвищувався порівняно зі здоровими щурами ( $p < 0,05$ ), а через 2,5 місяці знов повернувся до рівня здорових тварин. Виявлено, що рівень загального ОП підвищувався за рахунок фракції зв'язаного.

Крім того, через 8 тижнів у щурів з інтрагастральним введенням  $CCl_4$  було досліджено загальний вміст ГАГс, а також I, II та III фракції сульфатованих ГАГ у сироватці крові. З'ясувалося, що ці показники, крім рівня ГАГс II фракції, не відрізнялися від рівня у здорових щурів. II фракція містить хондроїтин-4-сульфат та дерматан-сульфат, що може свідчити про те, що зміни відбувалися у СТ кровоносних судин печінки.

Розвиток фіброзу печінки було підтверджено морфологічними дослідженнями. Процеси деструктивних і дистрофічних змін печінки і подальшої фібротизації протікали більш швидко, виразно і охоплювали весь

орган у щурів з інтрагастральним введенням  $CCl_4$ . При мікроскопічному аналізі зразків їх печінки виявлено порушення цитоархітекτονіки органа. Ці порушення можна розцінювати як зрив механізмів адаптації внаслідок значного стресу, що веде до різкого зниження функціональних можливостей організму і порушення гомеостазу, які проявляються порушеннями ремоделювання СТ на системному рівні.

При дослідженні функціональної активності тромбоцитів у щурів з глюкокортикоїдним впливом виявлено достовірне скорочення часу досягнення максимального ступеня агрегації при концентрації індуктора агрегації АДФ 5 мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем. При цій концентрації інші параметри агрегації мали тенденцію до зниження порівняно з такими у контрольних тварин. При концентрації 10 мкмоль/л всі параметри агрегації теж мали тенденцію до зниження. У щурів з іммобілізаційним стресом та запаленням при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л виявлено статистично достовірне збільшення параметрів функціональної активності тромбоцитів, а саме ступеня та швидкості агрегації.

Встановлено, що у тварин контрольної групи існує негативна кореляція між ступенем агрегації при концентрації індуктора 10 мкмоль/л і рівнем ІЛ-6 ( $R = - 0,97$ ) ( $p < 0,05$ ). У тварин з порушенням обміну кісткової тканини під впливом глюкокортикоїдів такої кореляції вже не спостерігалось.

Таким чином, у тварин з глюкокортикоїдною моделлю, виявлено підвищення рівня ІЛ-4 та скорочення часу досягнення максимального ступеня агрегації при концентрації АДФ 5 мкмоль/л.

У групі тварин з іммобілізаційним стресом та запаленням була виявлена негативна кореляція між ступенем агрегації при концентрації індуктора 5 мкмоль/л і рівнем ІЛ-4 ( $R = - 0,63$ ) ( $p < 0,05$ ), між швидкістю агрегації при концентрації індуктора 5 мкмоль/л і рівнем ІЛ-4 ( $R = - 0,56$ ) ( $p < 0,05$ ), а також між часом досягнення максимального ступеня агрегації при концентрації індуктора 10 мкмоль/л і рівнем ІЛ-6 ( $R = - 0,79$ ) ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, при порушенні обміну СТ, змодельованому за допомогою поєданого впливу іммобілізаційного стресу та запалення, виявлено підвищення медіани рівнів ІІ-4 порівняно з цим параметром у контрольної групи тварин, підвищення швидкості та ступеня агрегації при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л, а також наявність взаємозв'язку між параметрами агрегації та рівнями ІІ-4 та ІІ-6. Виявлені взаємозв'язки рівнів інтерлейкінів з параметрами функціональної активності тромбоцитів підтверджують наявність точок взаємодії між функціонуванням системи гемостазу та розгортанням каскаду цитокінів.

У щурів з експериментальною гострою хірургічною патологією органів ПДЗ при концентрації індуктора агрегації 2,5 мкмоль/л встановлено достовірне зниження ступеня агрегації тромбоцитів порівняно з контролем. При концентрації ж індуктору агрегації 10 мкмоль/л, навпаки, ступінь агрегації у оперованих щурів збільшився порівняно з контролем ( $p < 0,01$ ), час досягнення максимального ступеня агрегації скоротився, а швидкість агрегації збільшилася ( $p < 0,01$ ).

У щурів з моделлю хронічної патології ПДЗ, викликаній введенням жовчі, при концентрації індуктору агрегації 2,5 мкмоль/л ступінь агрегації і швидкість агрегації були набагато нижчими, ніж у контролі, а час досягнення максимального ступеня агрегації виявився коротшим. При концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л ступінь агрегації теж був достовірно нижчим, час досягнення максимального ступеня агрегації коротшим, швидкість агрегації не відрізнялася від контрольної.

У щурів з експериментальним фіброзом печінки, викликаним інтрагастральним введенням тетрахлорметану, виявлено значне зменшення функціональної активності тромбоцитів при концентраціях АДФ 2,5 та 10 мкмоль/л, що проявлялося зменшенням максимального ступеня та швидкості агрегації, а при більшій концентрації індуктора агрегації, крім того, і часу досягнення максимального ступеня агрегації.

Оскільки, порушення функції тромбоцитів проявляються у вигляді підвищення деяких параметрів при одночасному зниженні інших у відповідь на дію стимуляторів агрегації, отримані дані можуть свідчити про розбалансування системи гемостазу, що може бути одним з факторів хронізації патологічного процесу. До того ж зміни тромбоцитарної ланки гемостазу призводять до порушення мікроциркуляції, що також може бути одним з механізмів його прогресування. Механізми гемостазу також впливають на активацію проліферативних процесів у СТ, при цьому найбільш ваговою є дія тромбоцитарних факторів.

Відомо, що реакція СТ лежить в основі загальнопатологічних процесів: запалення, регенерації та склерозу, формуючи таким чином розвиток стереотипної реакції організму на пошкодження і резерви адаптації. Всі ці три процеси є базовими для гострої хірургічної патології, визначають поточний і віддалений прогноз. Ми вивчали особливості цитокінового профілю, стану та реакції СТ у хворих з наявністю обструктивних патологічних процесів сечовивідних шляхів та органів ПДЗ з метою: 1) оцінки резервів адаптації організму в цілому; 2) оцінки здатності до адекватної замісної регенерації (загоєння ран); 3) оцінки вираженості склеротичних змін в паренхіматозних органах (нирках, печінці, підшлунковій залозі), що мають місце на момент розвитку гострої хірургічної патології.

До того ж при дослідженні гострої патології важливою виявляється проблема перенесення результатів з експериментальної моделі в клініку. Незважаючи на те, що початок і перебіг захворювання в цьому випадку відомі, але захворювання, як правило, розвивається на тлі хронічної патології різного генезу. Змоделювати цю реальну ситуацію в експерименті, і адекватно перенести результати в клініку, досить важко. У цьому випадку, для забезпечення мінімальної похибки, дослідження доповнювали клінічним матеріалом.

При вивченні показників цитокінового статусу у хворих на гідронефроз встановлено наступне. Рівень протизапального ІЛ-4 достовірно підвищувався

порівняно з контрольною групою в крові хворих 1, 3 та 4 груп. У хворих 2 групи з вродженою патологією і наявністю рецидивів, рівень ІЛ-4 достовірно знижувався і був нижчим за норму в 1,4 раза. Рівень прозапального ІЛ-6 порівняно з контролем був достовірно підвищеним у хворих усіх груп, найбільш значно у хворих 2 групи (перевищував норму в 3,7 раза). Найбільш високий рівень TNF- $\alpha$  спостерігався у хворих 2 групи (перевищував норму в 1,9 раза) ( $p < 0,05$ ). 2 і 4 групи характеризувалися достовірно більш високим рівнем TNF- $\alpha$  порівняно з 3 групою, а у хворих 1 групи рівень TNF- $\alpha$  був достовірно нижчим порівняно з таким у 4 групі. Найвищі значення протизапального ІЛ-10 спостерігалися у хворих 2 і 4 груп (з рецидивним перебігом гідронефрозу) і перевищували значення в контрольній групі в 4 і 3,1 раза відповідно ( $p < 0,05$ ). При дослідженні рівня ІЛ-17 встановлені суттєві відмінності між групами з рецидивним і безрецидивним перебігом хвороби: рівень ІЛ-17 достовірно підвищувався порівняно з контролем у хворих 2 і 4 груп і був вищим, ніж у хворих 1 і 3 груп.

Для об'єктивної оцінки активності запальної реакції розраховували співвідношення TNF- $\alpha$  і ІЛ-10. Встановлено, що активність запальної відповіді була вищою у пацієнтів з безрецидивним перебігом хвороби: співвідношення TNF- $\alpha$ /ІЛ-10 в 1 та 3 групах було достовірно вищим за контроль (у 1,4 і 1,6 раза відповідно) і вищим, ніж у хворих 2 і 4 груп. Відсутність адекватної запальної відповіді у хворих 2 і 4 груп свідчить про недостатність фізіологічних функцій, що забезпечують рівновагу міжклітинних медіаторів, і, ймовірно, сприяє пролонгації запалення та його хронізації, що багато в чому залежить від здатності клітин до високої продукції цитокінів.

Рівень RANKL після операції не відрізнявся від контролю та рівня до операції. Рівні OPG, ІЛ-1RA, адипонектину та вісфатину до операції були нижчими, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), а після операції підвищилися порівняно з доопераційним періодом ( $p < 0,05$ ) і стали такими, як у контролі. Рівень TGF- $\beta$ 1 до та після операції був вищим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), а після операції

не відрізнявся від доопераційного рівня. Рівень ІЛ-17 до та після операції був зниженим ( $p < 0,05$ ).

До операції позитивна кореляція відзначалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = 0,45$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та ІЛ-1RA ( $r = 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), вісфатину та ІЛ-1RA ( $r = 0,46$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та ІЛ-17 ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ); негативна – між рівнями RANKL та OPG ( $r = - 0,34$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та адипонектину ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), вісфатину та адипонектину ( $r = - 0,33$ ) ( $p < 0,05$ ). Після операції позитивна кореляція відзначалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = 0,32$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та ІЛ-1RA ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та ІЛ-17 ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та ІЛ-17 ( $r = 0,28$ ) ( $p < 0,05$ ); негативна кореляція – тільки між рівнями TGF-1 $\beta$  та адипонектину ( $r = - 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ).

Вміст вільного ОП у пацієнтів з безрецидивним перебігом хвороби (1 і 3 групи) був нижчим, ніж у пацієнтів з наявністю рецидиву (2 і 4 групи) ( $p < 0,05$ ). Статистично значущих відмінностей між показниками 1 та 3 груп, а також між показниками 2 і 4 груп виявлено не було. Вміст пептиднозв'язаного ОП найбільш значно підвищувався у хворих 2 і 4 групи (у 3,5 і 2,7 раза відповідно) (порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )), а у хворих 2 групи був достовірно вищим, ніж у хворих інших груп. Рівень білковозв'язаного ОП у хворих 2 і 4 груп був достовірно вищим порівняно з таким у хворих 1 і 3 груп та з контролем.

Примітно, що співвідношення рівнів пептиднозв'язаного і вільного ОП зазнавало характерних змін у хворих з рецидивним перебігом хвороби (2 і 4 групи) і перевищувала контрольні величини в 2,5 та 2,1 раза відповідно. Виявлені зміни можуть свідчити про патологічний перебіг репаративної регенерації, змінену реактивність ПКМ, яка відображається на швидкості синтезу і деградації біополімерів, які безпосередньо беруть участь у формуванні рубцевої тканини. При цьому величини зазначеного співвідношення у хворих 1 та 3 груп не мали статистично значущих



відмінностей від контролю і були достовірно нижчими за показники 2 і 4 груп.

При аналізі цитокінового статусу у хворих з обструкцією ПДЗ встановлено, що ІЛ- $\beta$ 1 у всіх групах до операції був підвищеним відносно норми, найбільш виражено у хворих 2 групи, з достовірною різницею доопераційних показників між групами ( $p < 0,05$ ). У хворих 1 і 2 груп незалежно від етіології була різко підвищена концентрація ІЛ-2, максимально у хворих 2 групи. У хворих 3 групи, навпаки, рівень ІЛ-2 був на 17,4% ( $p < 0,01$ ) менше, ніж у здорових людей. Вміст ІЛ-4 був зниженим у хворих усіх груп, в 1 групі була максимальна його концентрація, в 3 групі - найменша. Рівні ІЛ-6, ІЛ-8 і TNF- $\alpha$  були підвищені у всіх групах, найбільш виражено в 3 групі ( $p < 0,05$ ). Такий виражений дисбаланс в системі цитокінів може відігравати визначальну роль у розвитку ранніх післяопераційних ускладнень у обстежених хворих за рахунок порушення процесів репаративної регенерації.

Цікавим є встановлений нами факт появи в крові хворих з обструкцією ПДЗ антитіл до атипівих форм колагену, найбільш високий рівень яких був у хворих 2 групи. Можна припустити, що розвиток обструкції на тлі хронічних захворювань ПДЗ веде до порушення синтезу колагену, внаслідок чого з'являються його атипіві форми, до яких можуть утворюватися антитіла. Причому якщо антитіла до колагенів I і II типів є характерними для аутоімунних захворювань, то антитіла до атипівих колагенів, є відображенням аномальної будови колагену. Зміна антигенної структури колагену може стати причиною не тільки розвитку фіброзу, але й аутоімунних реакцій, що підтверджується підвищенням рівня антитіл до тканини підшлункової залози у цих хворих.

При морфологічному дослідженні інтраопераційно отриманих препаратів тканин печінки і підшлункової залози були виявлені зірчасті клітини, колаген I та III типів, міофібробластоподібні клітини, що свідчило про активацію фіброзно-склеротичних процесів, збільшення кількості та

підвищення синтетичної активності колагенпродукуючих клітин ще на стадії обструкції ПДЗ.

Таким чином, встановлено, що процеси запалення, деструкції та малігнізації, які викликають обструкцію сечовивідних шляхів та ПЗД, призводять до розвитку цитокінового дисбалансу і порушення регуляції адаптаційних механізмів, у тому числі й на рівні ФССТ. Ці порушення багато в чому визначають розвиток і тяжкість післяопераційних ускладнень, а також прогноз захворювання.

У механізмі регуляції процесів на рівні ФССТ, задіяно дуже багато факторів та сигнальних шляхів. Дія усіх процесів регулювання СТ опосередкована молекулярними міжклітинними медіаторами. В результаті патологічних змін нормально функціонуюча система СТ трансформується в ланцюг патогенезу конкретного захворювання, який характеризується порушеннями регуляторної функції СТ і дисбалансу в системі цитокінів. У зв'язку з цим нами були досліджені взаємозв'язки між рівнями різних цитокінів у кожній експериментальній групі тварин. У групі з порушенням метаболізму кісткової тканини за допомогою глюкокортикоїдів виявлено позитивну кореляцію між рівнями TGF- $\beta$ 1 та IL-17 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та адипонектину ( $r = 0,56$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та OPG ( $r = 0,50$ ) ( $p < 0,05$ ). Крім того спостерігалася позитивна кореляція між рівнями адипонектину та IL-1RA ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ).

У щурів з іммобілізаційним стресом, поєднаним із запаленням, спостерігалася позитивна кореляція між рівнями RANKL та IL-17 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,55$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-17 ( $r = 0,52$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та вісфатину ( $r = 0,33$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-17 та вісфатину ( $r = 0,58$ ) ( $p < 0,05$ ), а також негативна кореляція між рівнями OPG та IL-1RA ( $r = - 0,50$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та адипонектину ( $r = - 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та IL-1RA ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та вісфатину ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-17 та адипонектину ( $r = - 0,30$ ) ( $p < 0,05$ ).

У щурів з ХНН позитивна кореляція відзначалася між рівнями OPG та RANKL ( $r = 0,59$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та вісфатину ( $r = 0,48$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та IL-17 ( $r = 0,51$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та адипонектину ( $r = 0,47$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та IL-17 ( $r = 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-17 та вісфатину ( $r = 0,84$ ) ( $p < 0,05$ ). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та IL-1RA ( $r = - 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та адипонектину ( $r = - 0,63$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-1RA ( $r = - 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та TGF- $\beta$ 1 ( $r = - 0,53$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та вісфатину ( $r = - 0,32$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та IL-17 ( $r = - 0,58$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та вісфатину ( $r = - 0,73$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-17 ( $r = - 0,43$ ) ( $p < 0,05$ ).

У щурів з ХНН та глюкокортикоїдним впливом позитивна кореляція відзначалася між рівнями TGF- $\beta$ 1 та RANKL ( $r = 0,61$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та вісфатину ( $r = 0,55$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та IL-17 ( $r = 0,54$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та IL-17 ( $r = 0,64$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$ 1 та вісфатину ( $r = 0,43$ ) ( $p < 0,05$ ). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та IL-1RA ( $r = - 0,52$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та адипонектину ( $r = - 0,39$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та вісфатину ( $r = - 0,28$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та вісфатину ( $r = - 0,31$ ) ( $p < 0,05$ ), IL-1RA та TGF- $\beta$ 1 ( $r = - 0,29$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та вісфатину ( $r = - 0,37$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та IL-17 ( $r = - 0,43$ ) ( $p < 0,05$ ).

Однак аналіз цих взаємозв'язків не у всій їх сукупності не дає можливості виявити загальні закономірності реакції ФССТ на пошкодження і стереотипні механізми ремоделювання СТ. Для узагальнення, мінімізації отриманих даних та виявлення основних компонентів механізмів регуляції, нами проведений їх метааналіз за допомогою факторного аналізу. Метод заснований на аналізі матриці кореляцій всіх наявних даних, групуванні та інтерактивній процедурі максимізації дисперсії. Була обчислена оптимальна кількість «Факторів», за критеріями Кеттелла та Кайзера встановлено, що необхідно вибрати три фактори. Розподіл змінних за «Факторами» встановлено за допомогою методу обертання групи Varimax.

Встановлено три основних групи показників, які відповідають визначеним «Факторам».

Група 1 – об'єднує рівні вісфатину, IL-4, IL-6, TGF- $\beta$ 1, масу та щільність кістки, параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 10 мкмоль/л.

Група 2 – включає рівні IL-1RA, RANKL, кальцитоніну, параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 та 10 мкмоль/л.

Група 3 – поєднує рівні IL-17, OPG, RANKL, адипонектину, паратиреоїдного гормону, усіх фракцій ОП та параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 та 5 мкмоль/л.

Характеризувати ці групи можна так:

Група 1 – відображає залучення до патологічного процесу системи СТ в цілому, яке виявляється при значних обсягах ураження і значній тривалості процесу, а також може бути одним з факторів хронізації і ризику рецидивування. Цитокіни, що входять до цієї групи, саме ті, що при пошкодженні і запаленні вивільнюються та утворюються у вогнищі та периферичній крові, у числі медіаторів запалення, які, в залежності від інтенсивності і розповсюдженості процесу, залучають різні органи і системи – систему крові, імунну, нервову, ендокринну тощо, тобто посилюють місцеві і викликають загальні реакції організму при запаленні, останні ще називаються синдромом системної запальної відповіді (SIRS).

Той факт, що до цієї групи належать параметри агрегації тромбоцитів тільки при найвищій концентрації індуктора (10 мкмоль/л), свідчить про те, що механізми регулювання з боку тромбоцитарної ланки гемостазу також значною мірою включені до цих процесів. При більш низьких концентраціях індуктору система вже не в змозі реагувати, що також збігається із припущенням про залученість цієї ланки до системних реакцій при запаленні.

Той факт, що до групи 1 увійшли параметри наслідків порушення ремоделювання кістки (маса та щільність) свідчить, що дана група відображає саме патологічні механізми системного рівня, які захоплюють

ФССТ в цілому, незалежно від того, де процес розпочався. Це підтверджується тим, що до даної групи не увійшли показники локальних механізмів регулювання саме кісткової тканини за шляхом RANK- RANKL- OPG. Тобто дана група відображає зміни щільності та маси кісток, що відбуваються саме внаслідок розгортання системних процесів, а не локальних механізмів регуляції (шлях RANK-RANKL-OPG). Цей факт можна також трактувати, як зрив адаптації на локальних (тканинноспецифічних) рівнях, які вже не мають вирішального значення для процесів ремоделювання СТ, зокрема кісткової тканини.

Група 2 – компонент, що компенсує запалення та розпад структур СТ. До неї увійшов IL-1RA – цитокін, що збалансовує дію прозапальних цитокінів вже на початкових стадіях запального процесу. Вхідження до цієї групи також параметрів агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора в найменшій концентрації (2,5 мкмоль/л), свідчить про те, що він відображає достатність реактивності (фізіологічних резервів) системи регулювання СТ з боку системи гемостазу, яка є адекватною і при високих концентраціях індуктору. Вхідження до цієї групи параметрів регуляторного шляху RANK- RANKL-OPG, свідчить про відображення цією групою активності локальних механізмів регуляції, а відсутність параметрів активації обміну колагену (усіх фракцій ОП) свідчить про те, що ця група відображає достатність фізіологічних резервів ФССТ для компенсації патологічних змін, викликаних пошкодженням. При цьому відбувається фізіологічне ремоделювання СТ, що створює умови для природного перебігу репаративної регенерації, відновлення функції пошкодженої тканини і, отже, сприятливого результату патологічного процесу. Показники групи 2 є найбільш значимими критеріями для оцінки зниження ризику розвитку ускладнень у ході моніторингу захворювань.

Таким чином, параметри, що входять до групи 2, відповідні за компенсаторні механізми, що діють на рівні ФССТ при достатньому рівні

фізіологічних резервів, при якому пошкодження локалізоване, а на рівні ФССТ – компенсоване.

Група 3 – відображає активацію обмінних процесів на рівні ФССТ, зі зміщенням у бік превалювання синтезу над розпадом.

Ця група поєднує рівні IL-17, OPG та RANKL. IL-17 – це багатофункціональний цитокін, що регулює розвиток, та процеси переходу запального процесу до наступних стадій. Він є посередником активації синтезу у структурах СТ, та також може безпосередньо активувати фібробласти. До цієї групи також входять параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора 2,5 та 5 мкмоль/л, що відображає активність тромбоцитарної ланки регуляції СТ, та задіяність її регуляторних факторів (факторів росту фібробластів та ін.). Вхідження до цієї групи параметрів обміну колагену (усіх фракцій ОП), підтверджує, що вона дійсно відображає дію механізмів активації обміну колагену, а вхідження зв'язаного ОП – превалювання процесів синтезу. Вхідження адипонектину та паратиреоїдного гормону, також свідчить про активність різних шляхів активації обміну СТ на системному та локальних рівнях. Показники цієї групи найбільш інформативні для оцінки залученості ФССТ в патологічний процес на ранніх стадіях його розвитку, включаючи донозологічні стани.

Таким чином, ця група віддзеркалює активацію процесів обміну в ФССТ, які можуть бути як компенсованими, так і декомпенсованими, і відображає процес початку виснаження адаптаційних механізмів на шляхах регулювання на рівні міжклітинних взаємодій за допомогою цитокінів, або на гормональному шляху та на шляху регулювання тромбоцитарної ланки системи гемостазу. Група 3 характеризує стан незадовільної адаптації, на якому функціональні можливості СТ знижені. Гомеостаз зберігається завдяки значному напруженню регуляторних систем або завдяки включенню компенсаторних механізмів.

Встановлені нами основні закономірності стереотипної реакції ФССТ на пошкодження з урахуванням її адаптаційних резервів, дозволили

запропонувати основні групи показників, які можуть бути використані для оцінки ступеня участі ФССТ у розвитку патологічних процесів.

Проведені нами дослідження показали провідну роль патологічної відповіді СТ та фіброзоутворення для розвитку, оцінки перебігу і прогнозу захворювань різного етіологічного походження. Використовуючи отримані результати, ми вивчили можливість їх застосування в клінічній практиці: 1) для підвищення ефективності лікування хірургічних захворювань, їх діагностики, з'ясування ризику розвитку післяопераційних ускладнень, в тому числі рубцево-склеротичних; 2) підвищення ефективності лікування та прогнозування хронічних захворювань; 3) поліпшення діагностики донозологічних станів, оцінки популяційного здоров'я, моніторингу якості навколишнього середовища.

Аналіз результатів, одержаних при вивченні особливостей цитокінового профілю, стану та реакції СТ у хворих з наявністю обструктивних патологічних процесів сечовивідних шляхів та органів ПДЗ, показав необхідність врахування закономірностей, виявлених нами за допомогою факторного аналізу, що дозволить значно підвищити ефективність досліджень за рахунок більш раціонального вибору показників. Для загальної характеристики процесу необхідно обирати показники, що представляють всі три фактори. Якщо завданням дослідження є діагностика конкретного процесу, доцільно обирати показники, що входять у відповідну групу. Використовуючи даний підхід до вибору показників для оптимізації діагностики в клінічній практиці, ми провели дослідження їх ефективності для діагностики і моніторингу різних захворювань і ризику розвитку захворювань у популяції.

В якості модельних груп, що відбивають патологію СТ, ми використовували групи хворих з хронічними захворюваннями нирок. При вивченні вмісту загального ОП у добовій сечі хворих на ХП встановлено, що його рівень достовірно підвищувався у хворих як з ХНН, так і без ХНН (у 2,3 і 1,5 раза відповідно). Тобто, хоча підвищення екскреції ОП спостерігалось в

обох групах, у пацієнтів з ХНН рівень ОП був значно вище, ніж у хворих без неї. Встановлено, що вміст ГАГ у сечі хворих обох груп достовірно підвищувався, перевищуючи норму більш, ніж у 2 рази. Більшість хворих без ХНН (55%) мали значення ГАГ в діапазоні 5-10 мг/добу, 19% – в діапазоні 10-15 мг/добу ( $4,09 \pm 0,2$  мг/добу в контролі). Різке підвищення екскреції ГАГ з сечею (більше 20 мг/добу) спостерігалось у 5% хворих на ХП без ХНН. Різке підвищення екскреції ГАГ з сечею на ранніх стадіях захворювання може бути зумовлено як підвищенням їх синтезу, так і прискоренням розпаду макромолекулярних комплексів, що містять ГАГ. Збільшення концентрації ГАГ у сечі пов'язують з біосинтетичними, а також з деструктивними процесами в СТ [495].

При вивченні рівня оксипролінурії у хворих на ХХН різного етіологічного походження встановлено, що рівні загального і вільного ОП були достовірно підвищені у хворих усіх груп порівняно з контролем. Найвищими їх рівні були у хворих 3 групи (III стадія ХХН) (рівні загального і вільного ОП перевищували рівень в контрольній групі в 1,5 і 2,8 рази відповідно). Підвищення вільної фракції ОП є наслідком збільшення швидкості розпаду колагену [451]. Зазначені результати свідчать про те, що у пацієнтів з ХХН спостерігається надмірний рівень деградації колагенових структур, найбільш виражений у хворих із III стадією ХХН. Рівні зв'язаної фракції ОП, які відображають стан колагеноутворення та фібрилогенезу, були достовірно підвищені порівняно з контролем у хворих 1 та 3 груп. Можна зробити висновок, що нефросклеротичні ураження у хворих на ХХН супроводжуються як підвищенням швидкості розпаду колагену, так і зростанням фібрилогенезу та інтенсифікацією колагеноутворення.

Встановлено, що у хворих на ХХН за наявності та відсутності артеріальної гіпертензії мають місце значні зміни показників обміну колагену. Показники всіх фракцій ОП достовірно перевищували нормальні. Звертає на себе увагу, що рівень вільного ОП у хворих з наявністю артеріальної гіпертензії був достовірно вищим за такий у хворих без



артеріальної гіпертензії. Тобто у хворих з артеріальною гіпертензією спостерігається порушення нормального співвідношення фракцій ОП за рахунок підвищення вільної фракції, що ймовірно свідчить про переважання деструктивних процесів у колагенвмісних структурах СТ і порушення збалансованості процесів синтезу та розпаду СТ в нирках.

Таким чином, вибрані показники виявилися досить ефективними для моніторингу захворювання. Виходячи з того, що рівень оксипролінурії відноситься до групи «Фактору 3» можна вважати, що саме активація обмінних процесів на рівні ФССТ, є основним фактором ризику прогресування нефросклерозу. Способи корекції, які максимально уповільнять прогресування склеротичних змін і зможуть віддалити час появи ХНН треба шукати в області їх нормалізації. Оскільки ці показники не входять до групи «Фактору 2» (фактор компенсації), то їх нормалізація може бути досить надійним критерієм повернення патологічного процесу до стадії компенсації.

Таким чином, ми вивчили зміни обміну СТ на прикладі хворих із захворюваннями нирок, коли в процес залучений відносно невеликий за розміром орган. В якості моделі, що відбиває залучення в патологічний процес великих мас СТ, ми обрали групу хворих з ренальною остеодистрофією, що розвинулася на тлі ХНН. Встановлено, що по мірі прогресування ХНН гіперекскреція ОП з сечею зростала, збільшувалась частка хворих з високим (100-120 мг/добу) рівнем оксипролінурії (від 0% у нормі до 7%, 30%, 53% у 1, 2, 3 групах відповідно) та зменшувалась кількість хворих з рівнем, близьким до норми, що, ймовірно, відображає прогресуюче порушення балансу білкових компонентів СТ кістки внаслідок комплексу обмінних порушень, характерних для ХНН, які виникають паралельно або послідовно.

Прикладом хронічного порушення регуляторної рівноваги СТ можна вважати ДСТ, яка проявляється як вісцеральними порушеннями, так і скелетопатіями, пов'язаними з генетично детермінованою модифікацією СТ.

Оскільки в цьому випадку неможливо виділити в якості провідного механізму, що відноситься тільки до однієї з груп «Факторів», у дослідження включали показники, які належать до всіх трьох груп «Факторів», що відображають стан ФССТ. Встановлено, що у дітей з кардіопатією та остеопенією на тлі недиференційованої ДСТ спостерігалось порушення в системі RANKL-OPG, адипокінового обміну і зниження продукції ІЛ-17, що є прямим індуктором фібробластів. Це може свідчити про наявність у цих хворих патологічної деактивації процесів біосинтезу СТ і бути пов'язано з особливостями механізмів порушення її ремоделювання, що зумовлено спадковим або набутим їх характером. Встановлене збільшення вмісту RANKL свідчить про посилення кісткової резорбції, а підвищення при цьому рівня OPG може розглядатися як компенсаторна відповідь. Рівні ІЛ-1RA, ІЛ-17, адипонектину та вісфатину достовірно знижувалися, змін в експресії TGF-1 $\beta$  виявлено не було. При цьому майже між усіма показниками цитокінового обміну виявлені статистично значущі зв'язки: позитивна кореляція відзначалася між рівнями вісфатину та OPG ( $r = 0,58$ ) ( $p < 0,05$ ), OPG та TGF- $\beta 1$  ( $r = 0,38$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta 1$  та ІЛ-1RA ( $r = 0,39$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF- $\beta 1$  та адипонектину ( $r = 0,57$ ) ( $p < 0,05$ ), адипонектину та OPG ( $r = 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ). Негативна кореляція у цій групі спостерігалася між рівнями RANKL та вісфатину ( $r = - 0,47$ ) ( $p < 0,05$ ), RANKL та ІЛ-17 ( $r = - 0,39$ ) ( $p < 0,05$ ), ІЛ-1RA та ІЛ-17 ( $r = - 0,55$ ) ( $p < 0,05$ ), TGF1 $\beta$  та ІЛ-17 ( $r = - 0,57$ ) ( $p < 0,05$ ).

У хворих із захворюваннями шлунка різного етіологічного походження рівні вільного, пептиднозв'язаного ОП і РЕА в сироватці крові підвищувались при збільшенні тяжкості патологічного процесу в шлунку, наростаючи від 1 до 4 групи. Рівень вільного ОП збільшувався у всіх досліджених групах, але достовірні відмінності порівняно з контролем спостерігалися лише в групах 3 і 4 (на 37% і 85% відповідно) ( $p < 0,001$ ). У групах 2, 3, 4 рівень пептиднозв'язаного ОП зростав у 2,7, 3,3 і 4,9 рази відповідно ( $p < 0,001$ ). Рівень білковозв'язаного ОП достовірно підвищувався у групах 1 і 2 порівняно з контролем – на 28 % і 14 % відповідно ( $p < 0,001$ ).

При цьому спостерігалася наступна тенденція: зі збільшенням тяжкості патологічного процесу в шлунку вміст білковозв'язаного ОП зменшувався від підвищених значень у групі 1 до практично нормальних у групах 3 і 4. Вибір показників з групи «Фактору 3» обґрунтований тим, що пошкодження СТ і залучення в патологічний процес обумовлено поширеністю та тривалістю основного патологічного процесу. Достовірні відмінності вмісту РЕА спостерігалися в групах 2, 3 і 4, де він був вищим в 9, 9,5 і 25 разів відповідно ( $p < 0,001$ ).

Виявлені зміни свідчать про те, що при збільшенні тяжкості патологічного процесу (групи 3 і 4) спостерігається порушення рівноваги між синтезом і розпадом колагену. На користь цього припущення свідчить також виявлена нами кореляція між рівнем РЕА і рівнями фракцій ОП. Ці показники мали позитивну кореляцію з тяжкістю процесу, яка зростає від групи 1 до групи 4. Причому статистично значущий зв'язок спостерігався між маркерами розпаду колагену (рівнями вільного і пептиднозв'язаного ОП) і РЕА ( $p < 0,05$ ). Як відомо, пошкодження і запалення завжди розпочинаються з території СТ. Наші дані показують, що при певній розповсюженості і тривалості захворювання виявляється і залучення системи СТ в цілому як компонента SIRS, а ступінь її залучення дійсно може бути одним з факторів хронізації та прогресування патологічного процесу.

Відомо, що репаративна регенерація при ульцерогенезі є стереотипним процесом, що відображає репаративну функцію СТ. У підлітків з ДВ рівні прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6 в фазу загострення захворювання були достовірно вищими за такі в контрольній групі (перевищували норму у 1,4 – 2 рази), а концентрація ІЛ-4 зросла у 5,6 раза. Рівень TNF- $\alpha$  був достовірно знижений, найбільш значно у дівчат (у юнаків в 1,4 раза, у дівчат в 1,9 раза). Оскільки TNF- $\alpha$  бере участь у регуляції ремоделювання СТ, активуючи проліферацію фібробластів [63] та стимулює утворення і ріст грануляційної тканини [205], можна припустити, що у хворих з ДВ активність фібрило- і колагеногенезу знижена. Тому зниження рівня TNF- $\alpha$  у підлітків з ДВ може

розцінюватися як фактор, що призводить до неефективної репарації та сприяє хронізації та прогресуванню патологічного процесу. Є також дані про роль IL-6 та IL-1 $\beta$  у формуванні грануляційної тканини і стимуляції пулу міофібробластів [209]. Ймовірно, підвищений рівень даних цитокінів спрямований на посилення синтезу колагену фібробластами і має адаптаційно-компенсаторний характер, спрямований на активну стимуляцію колагеноутворення в умовах зниженого метаболізму колагенвмісних структур.

У фазу ремісії у всіх підлітків з ДВ зберігався дефіцит TNF- $\alpha$ , а у юнаків залишалися підвищеними рівні IL-1 $\beta$  та IL-6, рівень IL-4 навіть підвищувався порівняно з фазою загострення. IL-4 служить кофактором проліферації В-лімфоцитів, що покояться, індукує в цих клітинах синтез імуноглобулінів, підтримує життєздатність і ріст інтактних Т-клітин, підвищує активність цитотоксичних Т-лімфоцитів [372]. Можна припустити, що тривала інтенсивна стимуляція клітин, що продукують антитіла, призводить до гіперактивації імунної системи з подальшою декомпенсацією і, відповідно, до зниження ефективності відповіді на ушкодження. У зв'язку з цим тривале збільшення продукції IL-4, ймовірно, можна розглядати як фактор, що сприяє хронізації захворювання. Вхідження зазначених показників (IL-4 та IL-6) до групи «Фактору 1», яка відображає залучення до патологічного процесу ФССТ в цілому при значній тривалості процесу, дозволяє розглядати їх зміни як один із факторів хронізації і запропонувати їх визначення для оцінки ризику рецидивування.

Таким чином, виявлені зміни рівнів показників обміну СТ та міжклітинних медіаторів при розвитку хронічних та гострих захворювань різної етіології можуть свідчити про порушення загальної схеми регуляції на рівні ФССТ. Ця система включає ряд елементів, при цьому окремі ключові ланки цього механізму, які визначають напрями змін відповідних параметрів, відіграють роль своєрідних тригерів. Встановлено, що багатофакторний процес патогенезу порушень стану СТ пов'язаний з вичерпанням резервів

адаптації. Комбінація ушкоджуючих факторів сприяє виходу процесу за межі фізіологічної адаптації та не дозволяє системі відновлюватися. Визначені профілі міжклітинних медіаторів у обстежених хворих свідчать про зміни резервів адаптації організму, що має відобразитися на подальшій динаміці метаболічних процесів СТ.

При вивченні закономірностей метаболізму СТ у практично здорових осіб в залежності від екологічних умов з метою обґрунтування доцільності дослідження функціонального стану СТ для діагностики донозологічних станів та оцінки здоров'я, в тому числі популяційного, встановлено, що рівень АТАФК (IgG) достовірно підвищувався у обстежених 2-ї групи («брудний» район) порівняно з 1 групою («чистий» район). Поява атипівих мінорних форм колагену у осіб, які проживають в районі з підвищеним екологічним навантаженням, може мати особливе значення. Аномалія структури колагену може порушувати організацію надмолекулярних структур та взаємодію колагену з іншими компонентами СТ. Такого роду порушення часто є первинною основою розвитку патологічних процесів різної етіології.

Рівні ОП і ГАГ у сечі при порівнянні 1 і 2 груп достовірно не відрізнялися, однак ці показники мали тенденцію до збільшення у обстежених з «брудного» району. При аналізі кривих розподілу значень цих показників встановлено, що криві для обстежених 2 групи дещо ширше, що відповідає більшому розкиду значень, максимум кривої для ОП дещо зміщений у бік великих значень. Крива розподілу концентрацій ГАГ для 2 групи має додаткову горизонтальну ділянку, відповідну значенням в діапазоні 8-14 мг/добу. Таким чином, у обстежених 2 групи спостерігалися зміни показників, що характеризують обмінні процеси в СТ. Ймовірно, ці зміни можуть бути розцінені як напруга механізмів адаптації та зниження адаптаційного резерву, що може свідчити про формування предпатологічного стану, обумовленого тривалим впливом екологічного фактора. Можна припустити, що показники, які належать до групи «Фактору

3» (насамперед вміст ОП) та характеризують активацію обміну СТ і ступінь залучення ФССТ, будуть інформативними в популяційних дослідженнях. Вони відображають стан обміну СТ незалежно від конкретної нозології, тобто можуть бути маркерами впливу несприятливих екологічних чинників різної природи, які запускають в організмі людини різні механізми формування патологічних процесів.

Вплив на організм людини шкідливих факторів надзвичайно різноманітний. Однак викликані ними пошкодження ведуть до запуску однотипних механізмів захисту на базових рівнях організації. Різновид шкідливого впливу не є визначальним у порушенні гомеостазу і дія його реалізується через загальні механізми, одним з визначальних моментів у розвитку яких є реакція СТ, яка бере участь у формуванні практично всіх патологічних процесів на всіх етапах їх розвитку.

Хоча патологічні процеси різної етіології мають свої особливості на рівні організму, на базових рівнях біологічної організації, спостерігаються однотипні відповіді на дію пошкоджуючих факторів різної природи. Пошкодження, спричинені інфекційними агентами, травмами, ті, що стали наслідком відповіді на стрес або вплив інших шкідливих факторів, так чи інакше ведуть до взаємообумовлених змін в обміні СТ. Таким чином, порушення метаболізму СТ виявляються пов'язаними з дією будь-яких пошкоджуючих факторів і патологічними процесами в будь-яких органах і тканинах організму.

Отже, молекулярні маркери порушення обміну СТ можуть бути унікальними молекулярними індикаторами патологічних процесів різної природи та ризику первинних пошкоджень, які можна виявляти на основі кількісної оцінки функціонального стану СТ.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та сучасне вирішення актуальної проблеми в галузі патологічної фізіології, що полягає у встановленні взаємовідношень цитокінів та інших молекулярних факторів у механізмі участі фізіологічної системи сполучної тканини у розвитку патологічних процесів при ураженнях паренхіматозних органів та кісткової тканини.

1. Встановлено, що при експериментальному моделюванні патології нирок відбувається порушення механізмів регуляції сполучної тканини, які здійснюються цитокінами, на рівні фізіологічної системи сполучної тканини. Відбувається збільшення рівнів адипокінів (адипонектину в – 1,2 раза, вісфатину в – 2 рази), спостерігається взаємозв'язок між про- та протизапальними цитокінами (IL-17 та IL-1RA ( $r = - 0,58$ )). Ці зміни захоплюють найбільшу за масою сполучної тканини – кісткову тканину. При цьому активується регуляторна ланка кісткової тканини цитокінами за шляхом RANK-RANKL-OPG, має місце позитивна кореляція між RANKL та профібротичним TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,61$ ), TGF- $\beta$ 1 та адипонектином ( $r = 0,47$ ).

2. Моделювання патології органів панкреатодуоденальної зони та фіброзу печінки призводить до розвитку деструктивно-дистрофічних змін, найбільш виражених у печінці, які супроводжуються підвищенням екскреції оксипроліну з сечею за рахунок зв'язаної фракції (у 2,3 раза). Гостра хірургічна травма призводить до структурних та функціональних порушень у печінці та підшлунковій залозі, які зберігаються значний (4 місяці) проміжок часу.

3. Порушення механізмів репаративної регенерації і вихід патологічного процесу на системний рівень визначається розладом взаємодії клітин сполучної тканини з тромбоцитами. Механізм впливу реалізується через систему цитокінів, які мають тісні кореляційні зв'язки з

функціональною активністю тромбоцитарної ланки гемостазу (негативна кореляція між рівнем ІЛ-4 і ступенем ( $r = - 0,63$ ) та швидкістю агрегації ( $r = - 0,56$ ), рівнем ІЛ-6 і часом досягнення максимального ступеня агрегації ( $r = - 0,79$ )). Встановлено, що при моделюванні порушень стану кісткової тканини, хронічної патології органів панкреатодуоденальної зони та фіброзу печінки механізми гемостазу впливають на активацію проліферативних процесів у сполучній тканині та проявляються зниженням функціональної активності тромбоцитів (зниження ступеня агрегації в 1,8 раза, часу досягнення максимального ступеня агрегації в 3,6 раза).

4. У хворих на гідронефроз встановлена активація регуляторного шляху RANK-RANKL-OPG, що свідчить про залучення механізмів регулювання на рівні фізіологічної системи сполучної тканини, у тому числі в кістковій тканині. Основою цього процесу є дисбаланс у системі цитокінів – ІЛ-1RA, ІЛ-17 та вісфатину, а також дисбаланс (негативна кореляція) між рівнями TGF- $\beta$ 1 та адипонектину ( $r = - 0,29$ ).

5. У хворих з обструктивною патологією панкреатодуоденальної зони розвиток і тяжкість післяопераційних ускладнень залежать від ступеня вираженості вихідного дисбалансу цитокінового профілю, в тому числі зниження рівня протизапального захисту. Розвиток обструкції на тлі хронічних захворювань цієї області супроводжувався появою в крові антитіл до атипових форм колагену, що може вести до порушення репаративної регенерації та розвитку аутоімунних ушкоджень.

6. На основі аналізу кореляційних зв'язків та метааналізу всіх отриманих даних, було виявлено три основні групи показників, що віддзеркалюють стереотипні механізми регуляції фізіологічної системи сполучної тканини.

Група 1 відповідає механізмам, які діють на рівні фізіологічної системи сполучної тканини в цілому. Зрив цих адаптаційних механізмів веде до хронізації патологічного процесу та підвищення ризику ускладнень та рецидивів. До неї належать рівні вісфатину, ІЛ-4, ІЛ-6, TGF- $\beta$ 1, маса та



щільність кістки, параметри агрегації тромбоцитів при концентрації індуктора (АДФ) 10 мкмоль/л, які є основними молекулярними посередниками зриву природного перебігу репаративної регенерації.

Група 2 відповідальна за компенсаторні механізми, що діють на рівні фізіологічної системи сполучної тканини при достатньому рівні фізіологічних резервів, при якому пошкодження локалізоване, а на системному рівні – компенсоване. До неї входять: рівні ІЛ-1, рецепторного антагоніста ІЛ-1 (ІЛ-1РА), RANKL, кальцитоніну та параметри агрегації тромбоцитів при концентраціях індуктора 2,5 та 10 мкмоль/л. Показники групи 2 є найбільш значимими критеріями для оцінки зниження ризику розвитку ускладнень у ході моніторингу захворювань.

Група 3 відповідає різкій активації обмінних процесів на рівні фізіологічної системи сполучної тканини, при яких задіяна більшість шляхів регулювання, зі зміщенням у бік превалювання синтезу над розпадом. Вона поєднує рівні ІЛ-17, OPG, RANKL, адипонектину, паратиреоїдного гормону, усіх фракцій оксипроліну та параметрів агрегації тромбоцитів при концентраціях індуктора 2,5 та 5 мкмоль/л. Показники цієї групи найбільш інформативні для оцінки залученості фізіологічної системи сполучної тканини в патологічний процес на ранніх стадіях його розвитку, включаючи донозологічні стани.

7. При значних обсягах ураження і тривалості захворювання виявляється залучення в розвиток патологічного процесу фізіологічної системи сполучної тканини в цілому, тобто її реакція поряд з реакціями інших органів та систем при запаленні є одним з важливих компонентів синдрому системної запальної відповіді. В залежності від реактивності організму і особливостей пошкодження змінюється перебіг процесу та ступінь залучення системи сполучної тканини, що є важливим фактором хронізації патологічного процесу і ризику рецидивування.

8. В рамках запропонованого напрямку доведено значення ступеня залучення сполучної тканини та діагностична цінність показників обміну

сполучної тканини (оксипроліну та глікозаміногліканів) щодо ранньої діагностики нефросклерозу у хворих на хронічний піелонефрит, ренальної остеодистрофії у хворих з хронічною нирковою недостатністю, патологічних процесів різної інтенсивності в шлунку, ролі міжклітинних медіаторів у механізмі репаративної регенерації у підлітків з дуоденальною виразкою, у дітей з кардіопатією та остеопенією на тлі недиференційованої дисплазії сполучної тканини. Доведена можливість використання оксипроліну, глікозаміногліканів та антитіл до атипових форм колагену як молекулярних маркерів фізіологічної системи сполучної тканини для діагностики донозологічних станів та оцінки популяційного здоров'я.

### ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Результати проведених фундаментальних досліджень доцільно використовувати як вихідні для подальших наукових досліджень з тактики діагностики і моніторингу фіброзно-склеротичних змін паренхіматозних органів (нирки, печінка, підшлункова залоза) на ранніх стадіях, до розвитку клінічних проявів їх функціональної недостатності. Для практичного використання може бути рекомендовано визначення добової оксипролінурії. Метод неінвазивний і поєднує достатню інформативність з доступністю.

2. Виявлені особливості взаємозв'язку між реакцією системи сполучної тканини на пошкодження і функціональною активністю тромбоцитарної ланки гемостазу потребують урахування цих механізмів при прогнозуванні перебігу хронічних захворювань паренхіматозних органів і порушень стану кісткової тканини.

3. Особливості стану та реакції сполучної тканини на рівні міжклітинних медіаторів в умовах обструктивних захворювань органів панкреатодуоденальної зони та гідронефрозу роблять важливим включення до комплексу обстеження методів дослідження регулювання на рівні фізіологічної системи сполучної тканини. Інформативним критерієм для

оцінки вираженості порушень ремоделювання сполучної тканини і визначення ризику розвитку рецидиву стриктур сечоводу є відношення рівнів TNF- $\alpha$ /IL-10 та пептиднозв'язаного і вільного оксипроліну в сироватці крові. Для оцінки ризику післяопераційних ускладнень у хворих на обструктивні захворювання органів панкреатодуоденальної зони доцільно враховувати рівні IL-1 $\beta$ , 2, 4, 6, 8, TNF- $\alpha$  та антитіл до атипових форм колагену в сироватці крові.

4. Для оцінки популяційного здоров'я в якості кількісного інтегративного показника доцільним є використання молекулярних маркерів порушення обміну сполучної тканини, а саме добової екскреції оксипроліну, глікозаміногліканів з сечею та рівня антитіл до атипових форм колагену в сироватці крові.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1.  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 1 specific inhibitor increased dermal collagen content and promotes fibroblast proliferation [Electronic resource] / M. Terao, M. Tani, S. Itoi [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – № 3. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0093051>.
2. A reappraisal of generic bisphosphonates in osteoporosis / J.A. Kanis, J.Y. Reginster, J.M. Kaufman [et al.] // *Osteoporosis Int*. – 2012. – Vol. 23. – № 1. – P. 213–221.
3. A role for tumour necrosis factor- $\alpha$ , complement C5 and interleukin-6 in the initiation and development of the mycobacterial cord factor trehalose 6,6'-dimycolate induced granulomatous response / K.J. Welsh, A.N. Abbott, Shen-An Hwang [et al.] // *Microbiology*. – 2008. – Vol.154. – № 6. – P. 1813–1824.
4. Abundance and location of proteoglycans and hyaluronan within normal and myxomatous mitral valves / V. Gupta, J.E. Barzilla, J.S. Mendez [et al.] // *Cardiovasc. Pathol*. – 2008. – Vol. 54. – № 3. – P. 261–263.
5. Accelerated atherosclerotic calcification and Mönckeberg's sclerosis: a continuum of advanced vascular pathology in chronic kidney disease / P.A. McCullough, V. Agrawal, E. Danielewicz, G.S. Abela // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*. – 2008. – Vol. 3. – № 6. – P. 1585–1598. doi: 10.2215/CJN.01930408.
6. Activation of TGF- $\beta$ 1-CD147 positive feedback loop in hepatic stellate cells promotes liver fibrosis [Electronic resourc] / H.Y. Li, D. Ju, D.W. Zhang [et al.] // *Sci Rep*. – 2015. – Vol. 5. – 16552. doi:10.1038/srep16552. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26559755>.
7. Adiponectin and AMP kinase activator stimulate proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells / I. Kanazawa, T. Yamaguchi, S. Yano [et al.] // *BMC Cell Biology*. – 2007. – Vol. 8. – P. 51–62.
8. Adiponectin as a Biomarker of Osteoporosis in Postmenopausal Women: Controversies [Electronic resourc] / A. Lubkowska, A. Dobek, J. Mieszkowski

[et al.] // *Dis Markers*. – 2014. – Vol. 2014. – Article ID 975178. – 14 p. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/975178>.

9. Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast / K. Oshima, A. Nampei, M. Matsuda [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2005. – Vol. 331. – № 2. – P. 520–526.

10. Adiponectin stimulates RANKL and inhibits OPG expression in human osteoblasts through the MAPK signaling pathway / X.H. Luo, L.J. Guo, H. Xie [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2006. – Vol. 21. – № 10. – P. 1648–1656.

11. Adiponectin, an Unlocking Adipocytokine / Y. Sun, K. Xun, C. Wang [et al.] // *Cardiovascular Therapeutics*. – 2009. – Vol. 27. – № 1. – P. 59–75.

12. Aggarwal B.B. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey / B.B. Aggarwal, S.C. Gupta, J.H. Kim // *Blood*. – 2012. – Vol. 119. – P. 651–665.

13. Akdis M. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : Receptors, functions, and roles in diseases / M. Akdis, S. Burgler, R. Cramer // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2011. – Vol. 127. – № 3. – P. 701–721.

14. Akhurst R.J. Targeting the TGF $\beta$  signalling pathway in disease / R.J. Akhurst, A. Hata // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2012. – Vol. 11. – № 10. – P. 790–811. doi: 10.1038/nrd3810.

15. Al-Lamki R.S. TNF receptors: signaling pathways and contribution to renal dysfunction / R.S. Al-Lamki, T.N. Mayadas // *Kidney Int.* – 2015. – Vol. 87. – № 2. – P. 281–296. doi: 10.1038/ki.2014.285.

16. Allen C. *Laboratory Manual for Anatomy and Physiology* / C. Allen, V. Harper. – John Wiley & Sons, 2011. – 752 p.

17. Alternatively activated dendritic cells regulate CD4<sup>+</sup> T-cell polarization in vitro and in vivo / P.C. Cook, L.H. Jones, S.J Jenkins, T.A. Wynn [at.al] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2012. – Vol. 109. – № 25. – P. 9977–9982.

18. Amin K. The role of mast cells in allergic inflammation / K. Amin // *Respiratory Medicine*. – 2012. – Vol. 106. – № 1. – P. 9–14.
19. Amplification of atherosclerotic calcification and Mönckeberg's sclerosis: a spectrum of the same disease process // P.A. McCullough, K.M. Chinnaiyan, V. Agrawal [et al.] // *Adv. Chronic. Kidney. Dis.* – 2008. – Vol. 15. – № 4. – P. 396–412. doi: 10.1053/j.ackd.2008.07.009.
20. Anandarajah A.P. Role of RANKL in bone diseases / A.P. Anandarajah // *Trends Epidemiol Metab.* – 2008. – Vol. 20. – № 2. – P. 88–94.
21. Armstrong C.P. Effects of bile, infection and pressure on pancreatic duct integrity / C.P. Armstrong, T.V. Taylor, H.B. Torrance // *Br. J. Surg.* – 1985. – Vol. 72. – № 10. – P. 792–795.
22. Asadullah K. Interleukin-10 therapy – review of a new approach / K. Asadullah, W. Sterry, H.D. Volk // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – Vol. 55. – P. 241–269.
23. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography / M. Yin, J.A. Talwalkar, K.J. Glaser [et al.] // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 5. – № 10. – P. 1207–1213.
24. Association of kidney function with incident hip fracture in older adults / L.F. Fried, M.L. Biggs, M.G. Shlipak [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2007. – Vol. 18. – № 1. – P. 282–286.
25. Autocrine production of TGF- $\beta$  confers resistance to apoptosis after an epithelial-mesenchymal transition process in hepatocytes: Role of EGF receptor ligands / G. Del Castillo, M.M. Murillo, A. Varez-Barrientos [et al.] // *Exp. Cell. Res.* – 2006. – Vol. 312. – № 15. – P. 2860–2871.
26. Bakris G.L. Hypertension and kidney disease: a marriage that should be prevented / G.L. Bakris, E. Ritz / World Kidney Day Steering Committee // *J. Hypertens.* – 2009. – Vol. 27. – № 3. – P. 666–669.
27. Banchereau J. Generation of human B-cell lines dependent on CD40-ligation and interleukin-4 [Electronic resource] / J. Banchereau // *Front.*

Immunol. – 2015. – Vol. 6. – Article 55. – 3 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00055>.

28. Barnes T.C. The Many Faces of Interleukin-6: The Role of IL-6 in Inflammation, Vasculopathy, and Fibrosis in Systemic Sclerosis / T.C. Barnes, M.E. Anderson, R.J. Moots // *International Journal of Rheumatology*. – 2011. – Vol.70. – №2. – P.366–372. doi.10.1155/2011/721608.

29. Beaussier M. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries / M. Beaussier, D. Wendum, E. Schiffer [et al] // *Lab. Invest.* – 2007. – Vol. 87. – № 3. – P. 292–303.

30. Bekkers J.E. Diagnostic modalities for diseased articular cartilage – from defect to degeneration a review / J.E. Bekkers, L. Creemers, W.J Dhert // *Cartilage*. – 2010. – Vol. 1. – № 3. – P. 157–164.

31. Bellido T. Osteocyte-driven bone remodeling / T. Bellido // *Calcif. Tissue Int.* – 2014. – Vol. 94. – № 1. – P. 25–34. doi: 10.1007/s00223-013-9774-y.

32. Bellini A. The role of the fibrocyte, a bone marrow-derived mesenchymal progenitor, in reactive and reparative fibroses / A. Bellini // *Lab. Investigation*. – 2007. – Vol. 87. – № 9. – P. 858–870.

33. Beneficial Regulation of Matrix Metalloproteinases for Skin Health [Electronic resource] / N.Philips, S. Auler, R.Hugo, S.Gonzalez // *Enzyme Research*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1–4. – Article ID 427285. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.4061/2011/427285>.

34. Bhatia A. Sex Hormones and Immune Dimorphism [Electronic resource] / A. Bhatia, H. K. Sekhon, G. Kaur // *The Scientific World Journal*. – 2014. – Article ID 159150, 8 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/159150>.

35. Bhatia S.K. The State Diagram for Cell Adhesion Mediated by Two Receptors / S.K. Bhatia, M.R. King, D.A. Hammer // *Biophysical Journal*. – 2003. – Vol. 84. – № 4. – P. 2671–2690.

36. Bijlsma J.W. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice / J.W. Bijlsma, F. Berenbaum, F.P. Lافeber // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377. – № 9783. – P. 2115–2126. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60243-2.
37. Biomarkers of the Osteoprotegerin Pathway Clinical Correlates, Subclinical Disease, Incident Cardiovascular Disease, and Mortality / W. Lieb, Ph. Gona, M.G. Larson [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2010. – Vol. 30. – № 9. – P.1849–1854.
38. Bird L. Inflammation: Directions from the matrix / L. Bird // *Nature Reviews Immunology*. – 2011. – Vol. 11. – № 1. – P. 6–7. doi: 10.1038/nri2911.
39. Bonnans C. Remodelling the extracellular matrix in development and disease / C. Bonnans, J. Chou, Z. Werb // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2014. – Vol. 15. – № 12. – P. 786–801. doi: 10.1038/nrm3904.
40. Boyce B. F. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin / B.F. Boyce, L. Xing // *Arthritis Research & Therapy*. – 2007. – Vol. 9. – Suppl. 1. – S. 1. doi: 10.1186/ar2165.
41. Boyce B.F. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling / B.F. Boyce, L. Xing // *Arch. Biochem. Biophys*. – 2008. – Vol. 473. – № 2. – P. 139–146.
42. Boyman O. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system / O. Boyman, J. Sprent // *Nature Reviews Immunology*. – 2012. – Vol. 12. – № 3. – P. 180–190. doi:10.1038/nri3156.
43. Brenmoehl J. Transforming growth factor-beta 1 induces intestinal myofibroblast differentiation and modulates their migration / J. Brenmoehl, S.N. Miller // *World J. Gastroenterol*. – 2009. – Vol. 15. – № 13. – P. 1431–1442.
44. Brown M.A. IL-4 production by T cells: you need a little to get a lot / M.A. Brown // *The Journal of Immunology* – 2008. – Vol. 181. – № 5. – P. 2941–2942.
45. Buehler M.J. Nature designs tough collagen: explaining the nanostructure of collagen fibrils / M.J. Buehler // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2006. – Vol. 103. – № 33. – P. 12285–12290.



46. Cagnetta V. The role of the immune system in the physiopathology of osteoporosis / V. Cagnetta, V. Patella // *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* – 2012. – Vol.9. – № 2. – P. 85–88.
47. Caidahl K. Osteoprotegerin: A Biomarker With Many Faces / K. Caidahl, T. Ueland, P. Aukrust // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2010. – Vol. 30. – № 9. – P. 1684–1686.
48. Camporeale A. IL-6, IL-17 and STAT3: a holy trinity in autoimmunity? / A. Camporeale, V. Poli // *Front. Biosci.* – 2012. – Vol. 17. – P. 2306–2326.
49. Cardiovascular manifestations in men and women carrying a FBN1 mutation / D. Detaint, L. Faivre, G. Collod-Beroud [et al.] // *European Heart Journal.* – 2010. – Vol. 31. – № 18. – P. 2223–2229.
50. Carlsten H. Immune responses and bone loss: the estrogen connection / H. Carlsten // *Immunological Reviews.* – 2005. – Vol. 208. – Issue 1. – P. 194–206.
51. Hepatic stellate cells do not derive from the neural crest / D. Cassiman, A. Barlow, B. Vander [et al.] // *J. Hepatol.* – 2006. – Vol. 44. – № 6. – P. 98–104.
52. Castro S.V. Biomarkers in systemic sclerosis / S.V. Castro, S.A. Jimenez // *Bio-mark.Med.* – 2010. – Vol. 4. – № 1. – P. 133–147.
53. Caterson B. Fell–Muir Lecture: Chondroitin sulphate glycosaminoglycans: fun for some and confusion for others / B. Caterson // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2012. – Vol. 93. – №1. – P. 1–10.
54. Cellular Stress Responses: Cell Survival and Cell Death [Electronic resource] / S. Fulda, A. M. Gorman, O. Hori [et al.] // *International Journal of Cell Biology.* – 2010. – Article ID 214074, 23 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2010/214074>.
55. Chamorro A. Role of inflammation in stroke and atherothrombosis / A. Chamorro // *Cerebrovasc. Dis.* – 2004. – Vol. 17. – Suppl 3. – P. 1–5.
56. Chang S.W. Molecular biomechanics of collagen molecules / S.W.Chang, M.J.Buehler // *Materials Today.* – 2014. – Vol. 17. – № 2. – P. 70–76.

57. Changes of the cytokine profile in inflammatory bowel diseases / G.Múzes, B.Molnár, Z.Tulassay [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18. – № 41. – P. 5848–5861.

58. Chawla L.S. Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome / L.S. Chawla, P.L. Kimmel // *Kidney Int.* – 2012. – Vol. 82. – № 5. – P. 516–524. doi: 10.1038/ki.2012.208.

59. Chen W. Fibroblasts in post–infarction inflammation and cardiac repair / W. Chen, N.G. Frangogiannis // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – Vol. 1833. – № 4. – P. 945–953. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.08.023.

60. Cheng F. The osteocyte – a novel endocrine regulator of body phosphate homeostasis / F. Cheng, P. Hulley // *Maturitas.* – 2010. – Vol. 67. – № 4. – P. 327–338.

61. Chronic Filarial Infection Provides Protection against Bacterial Sepsis by Functionally Reprogramming Macrophages [Electronic resource] / F. Gondorf, A. Berbudi, B. C. Buerfent [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2015. – Vol. 11. – № 1. – e1004616. Published: January 22, 2015. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004616>.

62. Chronic granulomatous disease: a review of the infectious and inflammatory complications / E.K.Song, G.B.Jaishankar, H.Saleh [et al.] // *Clinical and Molecular Allergy.* – 2011. – Vol. 9. – № 10. – P. 1–14.

63. Circulating fibrocytes are an indicator for poor prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis / A. Moeller, S.E. Gilpin, K. Ask [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 179. – № 7. – P.588–594.

64. Circulating peripheral blood fibrocytes in human fibrotic interstitial lung disease / B. Mehrad, M.D. Burdick, D.A. Zisman [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 353. – № 1. – P. 104–108.

65. Clowes J.A. The role of the immune system in the pathophysiology of osteoporosis / J.A. Clowes, B.L. Riggs, S. Khosla // *Immunological Reviews.* – 2005. – Vol. 208. – Issue 1. – P. 207–227.

66. Cluster analysis of host cytokine responses to biodefense pathogens in a whole blood ex vivo exposure model (WEEM) [Electronic resource] / B.A. Chromy, I.K. Fodor, N.K. Montgomery [et al.] // BMC Microbiology. – 2012. – Vol.12. – № 1. – Article 79. doi: 10.1186/1471-2180-12-79. – Access mode: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/12/79>.

67. Comparative glycomics of leukocyte glycosaminoglycans / C. Shao, X. Shi, M. White [et al.] // FEBS Journal. – 2013. – Vol. 280. – № 10. – P. 2447–2461.

68. Confavreux C.B. A paradigm of integrative physiology, the crosstalk between bone and energy metabolisms / C.B. Confavreux, R.L. Levine, G. Karsenty // Mol. Cell Endocrinol. – 2009. – Vol. 310. – № 1–2. – P. 21–29.

69. Confavreux C.B. Bone: from a reservoir of minerals to a regulator of energy metabolism / C.B. Confavreux // Kidney Int. – 2011. – Vol. 79. – Suppl. 121. – P. S14–S19.

70. Connective tissue and diseases: from morphology to proteomics towards the development of new therapeutic approaches / D. Quaglino, F. Boraldi, G. Annovi [et al.] // Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench. – 2009. – Vol. 2. – P. 56–65.

71. Consistent control of mineral and bone disorder in incident hemodialysis patients / M.D. Danese, V. Belozeroff, K. Smirnakis, K.J. Rothman // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2008. – Vol. 3. – № 5. – P. 1423–1429. doi: 10.2215/CJN.01060308.

72. Constitutive STAT phosphorylation is critical for interleukin-2 receptor alpha expression in human blood T lymphocytes / E. Mityushova, A. Shatrova, V. Zenin [et al.] // The FEBS Journal. – St.-Petersburg. – 2013. – Vol. 280. – № 1. – P. 465.

73. Coondoo A. Cytokines in dermatology – A basic overview / A. Coondoo // Indian Journal of Dermatology. – 2011. – Vol. 56. – № 4. – P. 368–374. doi:10.4103/0019-5154.84717.

74. Coondoo A. The Role of Cytokines in The Pathomechanism of Cutaneous Disorders / A. Coondoo // *Indian J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 57. – № 2. – P. 90–96. doi: 10.4103/0019-5154.94272.

75. Cox T.R. Remodeling and homeostasis of the extracellular matrix: implications for fibrotic diseases and cancer / T.R. Cox, J.T. Erler // *Dis Model Mech.* – 2011. – Vol. 4. – № 2. – P. 165–178. doi: 10.1242/dmm.004077.

76. Cross-talk between nervous and immune systems: cytokines modulating morphology and function of both systems under stress conditions / M.L.Cañavate, A. García de Galdeano, O. Arteaga [et al.] // *Microscopy: advances in scientific research and education Microscopy Book.* – 2014. – Vol. 1. – Series 6. – P. 414–421.

77. Crystal Structure of Human Type III Collagen Gly991-Gly1032 Cystine Knot-containing Peptide Shows Both 7/2 and 10/3 Triple Helical Symmetries / S.P. Boudko, J. Engel, K. Okuyama [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry.* – 2008. – Vol. 283. – № 47. – P. 32580–32589. doi: 10.1074/jbc.M805394200.

78. Cytokine-Mediated Activation of NK Cells during Viral Infection / B.E. Freeman, H.P. Raué, A.B. Hill [et al.] // *J. Virol.* – 2015. – Vol. 89. – № 15. – P. 7922–7931. doi: 10.1128/JVI.00199–15.

79. Cytokines and Pain / C.M.B. Oliveira, R.K. Sakata, A.M. Issy [et al.] // *Rev. Bras. Anesthesiol.* – 2011. – Vol. 61. – № 2. – P. 255–265. doi:10.1590/S0034-70942011000200014.

80. Dancer R.C.A. Metalloproteinases in idiopathic pulmonary fibrosis / R.C.A. Dancer, A.M. Wood, D.R. Thickett // *European Respiratory Journal.* – 2011. – Vol.38. – № 6. – P. 1461–1467. doi: 10.1183/09031936.00024711.

81. David T.E. Outcomes of mitral valve repair for mitral regurgitation due to degenerative disease / T.E. David // *Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2007. – Vol. 19. – № 2. – P. 116–120.

82. Dawson S. / From bones to blood pressure, developing novel biologic approaches targeting the osteoprotegerin pathway for pulmonary vascular disease [Electronic resource] / S. Dawson, A. Lawrie // *Pharmacology & Therapeutics.* –

2016. – doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.06.017. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.06.017>.

83. Dembic Z. The Cytokines of the Immune System: The Role of Cytokines in Disease Related to Immune Response / Z. Dembic. – Academic Press, 2015. – 320 p.

84. Demontiero O. / Aging and bone loss: new insights for the clinician / O. Demontiero, C. Vidal, G. Duque // Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease. – 2012. – Vol.4. – № 2. – P. 61–76. doi:10.1177/1759720X11430858.

85. Detection of Active Matrix Metalloproteinase-3 in Serum and Fibroblast-Like Synoviocytes of Collagen-Induced Arthritis Mice / Sung-Jae Choi, Kyeongsoon Park, Jong Woong Park [et.al] // Bioconjugate Chem. – 2013. – Vol. 24. – № 6. – P. 1068–1074. doi: 10.1021/bc4001273.

86. Detection of Chronic Kidney Disease in Patients With or at Increased Risk of Cardiovascular Disease / F.C. Brosius 3rd, T.H. Hostetter, E. Kelepouris [et al.] // Circulation. – 2006. – Vol. 114. – 1083–1087.

87. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update / M.G. Ghany, D.B. Strader, D.L. Thomas, L.B. Seeff // Hepatology. – 2009. – Vol. 49. – № 4. – P. 1335–1374. doi: 10.1002/hep.22759.

88. Dimitrakova E. Studies on the level of proinflammatory cytokines IL-1a, IL-1b, IL-6, TNF-a in pregnant women with acute pyelonephritis / E. Dimitrakova, I. Kostov // Akush Ginekol (Sofia). – 2011. – Vol. 50. – №2. – P. 3–6.

89. Dougall W.C. RANKL signaling in bone physiology and cancer / W.C. Dougall // Curr. Opin. Support. Palliat. Care. – 2007. – Vol. 1. – № 4. – P. 317–322.

90. Duque G.A. Macrophage Cytokines: Involvement in Immunity and Infectious Diseases // G.A. Duque, A. Descoteaux // Front Immunol. – 2014. – Vol. 5. – P. 491–203. doi: 10.3389/fimmu.2014.00491.

91. Durable responses and reversible toxicity of high-dose interleukin-2 treatment of melanoma and renal cancer in a Community Hospital Biotherapy

Program / R. Payne, L. Glenn, H. Hoen [et al.] / *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. – 2014. – Vol. 2. – P. 13–23. doi: 10.1186/2051–1426–2–13.

92. Early estrogen-induced gene 1, a novel RANK signaling component, is essential for osteoclastogenesis / H.K. Choi, H.R. Kang, E. Jung [et al.] // *Cell Res*. – 2013. – Vol. 23. – № 4. – P. 524–536. doi: 10.1038/cr.2013.33.

93. Eastoe J.E. The organic matrix of bone / J.E. Eastoe // *The Biochemistry and Physiology of Bone* [Edited by G. H. Bourne]. – Elsevier, 2014. – P. 81–106.

94. Effect of allopurinol decreasing proteinuria in type 2 diabetic patients / A. Momeni, S. Shahidi, S. Seirafian [et al.] // *Iran J. Kidney Dis*. – 2010. – Vol. 4. – №2. – P. 128–132.

95. Effect of Interleukin 6 Deficiency on Renal Interstitial Fibrosis / J. Yang, J. Chen, J. Yan [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – № 12. – P. 1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0052415

96. Effects of interferon and ribavirin combination therapy on CD4+ proliferation, lymphocyte activation, and Th1 and Th2 cytokine profiles in chronic hepatitis C / R.T. Marinho, R. Pinto, M.L. Santos [et al.] // *J. Viral Hepatol*. – 2004. – Vol. 11. – P. 206–216.

97. Effects of telmisartan vs olmesartan on metabolic parameters, insulin resistance and adipocytokines in hypertensive obese patients / D.A. De Luis, R. Conde, M. Gonzalez-Sagrado [et al.] // *Nutr. Hosp*. – 2010. – Vol. 25. – № 2. – P. 275–279.

98. Elevated level of macrophage colony-stimulating factor in human fracture healing / K. Sarahrudi, M. Mousavi, A. Thomas [et al.] // *J. Orthoped. Res*. – 2010. – Vol. 28. – № 5. – P. 671–676.

99. Elevated levels of plasma osteoprotegerin are associated with all-cause mortality risk and atherosclerosis in patients with stages 3 to 5 chronic kidney disease / M.M. Nascimento, S.Y. Hayashi, M.C. Riella, B. Lindholm // *Braz. J. Med. Biol. Res*. – 2014. – Vol. 47. – № 11. – P. 955–1002.

100. Ellermann-Eriksen S. Macrophages and cytokines in the early defence against herpes simplex virus / S. Ellermann-Eriksen // *Virology Journal*. – 2005. – Vol. 3. – № 2. – P. 59–89.
101. Elmarakby A.A. Relationship between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy / A.A. Elmarakby, J.C. Sullivan // *Cardiovascular Therapeutics*. – 2012. – Vol. 30. – № 1. – P. 49–59. doi: 10.1111/j.1755-5922.2010.00218.
102. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton / N.K. Lee, H. Sowa, E. Hinoi [et al.] // *Cell*. – 2007. – Vol. 130. – № 3. – P. 456–469.
103. Endoglin (CD105): a marker of tumor vasculature and potential target for therapy / N.A. Dallas, S. Samuel, L. Xia [et al.] // *Clin. Cancer Res*. – 2008. – Vol. 14. – № 7. – P. 1931–1937. doi: 10.1158/1078–0432.CCR–07–4478.
104. Endothelial dysfunction in inflammatory bowel diseases: Pathogenesis, assessment and implications / D. Cibor, R. Domagala-Rodacka, T. Rodacki [et al.] // *World J. Gastroenterol*. – 2016. – Vol. 22. – № 3. – P. 1067–1077. doi:10.3748/wjg.v22.i3.1067.
105. Enhanced osteoclast development in collagen-induced arthritis in interferon-gamma receptor knock-out mice as related to increased splenic CD11b+ myelopoiesis / B. De Klerck, I. Carpentier, R. J. Lories [et al.] // *Arthritis Res. Ther*. – 2004. – Vol. 6. – № 3. – P. R220–R231.
106. Erta M. Interleukin-6, a Major Cytokine in the Central Nervous System / M. Erta, A. Quintana, J. Hidalgo // *Int. J. Biol. Sci*. – 2012. – Vol. 8. – № 9. – P. 1254–1266. doi:10.7150/ijbs.4679.
107. Estrogen Deficiency Induces the Differentiation of IL-17 Secreting Th17 Cells: A New Candidate in the Pathogenesis of Osteoporosis [Electronic resourc] / A.M. Tyagi, K. Srivastava, M.N. Mansoori [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – № 9. – e44552. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0044552>.

108. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression / T. Nakashima, M. Hayashi, T. Fukunaga [et al.] // *Nat Med.* – 2011. – Vol. 17. – № 10. – P. 1231–1234.

109. Evidence of substance P autocrine circuitry that involves TNF- $\alpha$ , IL-6, and PGE2 in endogenous pyrogen-induced fever / H.O. Brito, F.L. Barbosa, R.C. Reis [et al.] // *Journal of Neuroimmunology.* – 2016. – Vol. 293. – P. 1–7. doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.01.016.

110. Expression and upregulation of cathepsin S and other early molecules required for antigen presentation in activated hepatic stellate cells upon IFN- $\gamma$  treatment / G. Maubach, M.C.C. Lim, S. Kumar, L. Zhuo // *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell. Res.* – 2007. – Vol. 1773. – P. 219–231.

111. Expression of Interleukin-1 and Interleukin-1 Receptors Type 1 and Type 2 in Hodgkin Lymphoma [Electronic resource] / E. Oelmann, H. Stein, W.E. Berdel [et al.] // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10. – Published: September 25, 2015. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0138747>.

112. Fibroblasts as novel therapeutic targets in chronic inflammation / S.J. Flavell, T.Z. Hou, S.Lax [et al.] // *British. J. Pharmacology.* – 2008. – Vol. 153. – Issue S1. – P. 241–246.

113. Fibrogenesis of the pancreas: the role of stellate cells / M.G.Bachem, Sh.Zhou, W.Schneiderhan, M.Siech // In: *The pancreas: An integrated textbook of basic science, medicine and surgery.* – Second ed. / Ed. by H. Beger, A. Warshaw, M. Buchler [et al.]. – Blackwell Publishing Limited, 2008. – P. 383–503.

114. Fine characterization of mitral valve glycosaminoglycans and their modification with degenerative disease / L. Dainese, G. Polvani, F. Barili [et al.] // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* – 2007. – Vol. 45. – № 3. – P. 361–366.

115. Fleit H.B. Chronic inflammation / H.B. Fleit // *Pathobiology of Human Disease. A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* / Edited by L.M. McManus, R.N. Mitchell. – Elsevier Science and Technology Books. – 2014. – P. 300–314.



116. Foey A.D. Macrophages-Masters of Immune Activation, Suppression and Deviation / A.D. Foey // Immune Response Activation / Edited by G.H.T.Duc. – Publisher: InTech, 2014. – 274 p., Chapter 5. doi: 10.5772/57541.
117. Frank J. Three-Dimensional Electron Microscopy of Macromolecular Assemblies / J. Frank. – 2nd ed. – Oxford University Press, 2006. – 410 p.
118. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK / J.A. Kanis, O. Johnell, A. Oden [et al.] // Osteoporos Int. – 2008. – Vol. 19. – № 4. – P. 385–397. doi: 10.1007/s00198-007-0543-5.
119. Friedman S.L. Hepatic fibrosis 2006: Report of the third AASLD Single Topic Conference / S.L. Friedman, D.C. Rockey, D.M. Bissell // Hepatol. – 2007. – Vol. 45. – № 1. – P. 242–249.
120. Friedman S.L. Evolving challenges in hepatic fibrosis / S.L. Friedman // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2010. – Vol. 7. – P. 425–436.
121. Gaffen S.L. Structure and signalling in the IL-17 receptor family / S.L. Gaffen // Nat. Rev. Immunol. – 2009. – Vol. 9. – № 8. – P. 556–567.
122. Gal-Moscovici A. Bone health in chronic kidney disease-mineral and bone disease / A. Gal-Moscovici, S.M. Sprague // Adv. Chronic Kidney Dis. – 2007. – Vol. 14. – № 1. – P.27–36.
123. Garlanda C. The Interleukin-1 Family: Back to the Future / C. Garlanda, C.A. Dinarello, A. Mantovani // Immunity. – 2013. – Vol. 39. – Issue 6. – P. 1003–1018.
124. Genetic polymorphism of the calcitonin receptor gene and bone mineral density in Polish population of postmenopausal women / K. Drews, A. Seremak-Mrozikiewicz, J. Bartkowiak-Wieczorek [et al.] // Ginekol. Pol. – 2005. – Vol. 76. – № 8. – P. 612–618.
125. Ghosh A.K. PAI-1 in Tissue Fibrosis / A.K. Ghosh, D.E. Vaughan // J. Cell. Physiol. – 2012. – Vol. 227. – № 2. – P. 493–507. doi: 10.1002/jcp.22783.
126. Giannandrea M. Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis / M. Giannandrea, W.C. Parks // Disease Models and Mechanisms. – 2014. – Vol. 7. – № 2. – P. 193–203. doi: 10.1242/dmm.012062.

127. Gill S.E. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing / S.E. Gill, W.C. Parks // *Int Journ. Biochem. Cell. Biol.* – 2008. – Vol. 40. – № 6–7. – P. 1334–1347.
128. Gil-Lamaignere C. Differential effects of the combination of caspofungin and terbinafine against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* and *Candida kefyr* / C. Gil-Lamaignere, F.M. Muller // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2004. – Vol. 23. – № 5. – P. 520–523.
129. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy / E. Canalis, G. Mazziotti, A. Giustina, J. P. Bilezikian // *Osteoporos. Int.* – 2007. – Vol. 18. – № 10. – P.1319–1328.
130. Glycosaminoglycans and mucopolysaccharidosis type III / J. Jakobkiewicz-Banecka, M. Gabig-Ciminska, A. Kloska [et al.] // *Front Biosci (Landmark Ed).* – 2016. – Vol. 21. – P. 1393–409.
131. Glycosaminoglycans: key players in cancer cell biology and treatment / N. Afratis, C. Gialeli, D. Nikitovic [et al.] // *FEBS Journal.* – 2012. – Vol. 279. – № 7. – P. 1177–1197. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08529.x.
132. Golebiewska E.M. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond / E.M. Golebiewska, A.W. Poole // *Blood Rev.* – 2015. – Vol. 29. – № 3. – P. 153–162. . doi: 10.1016/j.blre.2014.10.003.
133. Gordon K.J. Role of transforming growth factor- $\beta$  superfamily signaling pathways in human disease / K.J. Gordon, G.C. Blobe // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease.* – 2008. – Vol. 1782. – № 4. – P. 197–228.
134. Granulomatous liver diseases: A review / M. Coash, F. Forouhar, C.H. Wu [et al.] // *Journal of the Formosan Medical Association.* – 2012. – Vol. 111. – Issue 1. – P. 3–13.
135. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012) The Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-

Thoracic Surgery (EACTS) / A. Vahanian, O. Alfieri, F. Andreotti [et al.] // *European Heart Journal*. – 2012. – Vol. 19. – № 33. – P. 2451–2496.

136. Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts / H. Tilg, A. R. Moschen, A. Kaser [et al.] // *Gut*. – 2008. – Vol. 57. – № 5. – P. 684–694.

137. Hamada Y. Chronic kidney disease (CKD) and bone. The mechanisms of chronic kidney disease – mineral and bone disorder (CKD-MBD) / Y. Hamada, M. Fukagawa // *Clin. Calcium*. – 2009. – Vol. 19. – № 4. – P. 486–492. doi: CliCa0904486492.

138. Harris N. B cell function in the immune response to helminths / N. Harris, W.C. Gause // *Trends in immunology*. – 2011. – Vol. 32. – № 2. – P. 80–88. doi: 10.1016/j.it.2010.11.005.

139. Harvey N. Osteoporosis: impact on health and economics / N. Harvey, E.M. Dennison, C. Cooper // *Nat. Rev. Rheumatol*. – 2010. – Vol. 6. – № 1. – P. 99–105.

140. Hayden M.S. NF-kappa B and the immune response / M.S. Hayden, A.P. West, S. Ghosh // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25. – № 51. – P. 6758–6780.

141. Hepatic 31P MRS in rat models of chronic liver disease: assessing the extent and progression of disease / I.R. Corbin, R. Buist, J. Peeling [et al.] // *Gut*. – 2003. Vol. 52. – № 7. – P.1046–1053.

142. Herzog E.L. Fibrocytes in health and disease / E.L. Herzog, R. Bucala // *Experimental Hematology*. – 2010. – Vol. 38. – № 7. – P. 548–556.

143. Heterogeneity of Collagen VI Microfibrils: structural analysis of non-collagenous regions / T. Maab, C.P. Bayley, M. Mörgelin [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2016. – Vol. 291. – № 10. – P. 5247–58. doi: 10.1074/jbc.M115.705160

144. High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator / V.R. Sopasakis, M. Sandqvist, B. Gustafson [et al.] // *Obes. Res*. – 2004. – Vol. 12. – № 3. – P. 454–460.

145. Hinz B. The myofibroblast: Paradigm for a mechanically active cell / B. Hinz // *J. Biomechanics*. – 2010. – Vol. 43. – № 1. – P. 146–155. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.09.020.
146. Holick M. F. Vitamin D deficiency / M. F. Holick // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – № 357. – P. 266–281. doi: 10.1056/NEJMra070553
147. Hunter C.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease / C.A.Hunter, S.A.Jones // *Nature Immunology*. – 2015. – Vol.16. – № 5. – P. 448–457. doi:10.1038/ni.3153.
148. IL-17 stimulates the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells: implications for bone remodeling / H. Huang, H.J. Kim, E.J. Chang [et al.] // *Cell Death and Differentiation*. – 2009. – Vol. 16. – № 10. – P. 1332–1343. doi: 10.1038/cdd.2009.74.
149. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells / T. Korn, E. Bettelli, W. Gao [et al.] // *Nature*. – 2007. – Vol. 448. – P. 484–487.
150. IL-4 Modulates CCL11 and CCL20 Productions from IL-1 $\beta$ -Stimulated Human Periodontal Ligament Cells // Y. Hosokawa, I. Hosokawa, S. Shindo [et al.] // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2016. – Vol. 38. – № 1. – P. 153–159. doi: 10.1159/000438617.
151. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology / S.T. Kwan, M. Padrines, S. Theoleyre [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2004. – Vol. 15. – № 1. – P. 49–60.
152. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions / M. Mihara, M. Hashizume, H. Yoshida [et al.] // *Clinical Science*. – 2012. – Vol. 122. – № 4. – P. 143–159. doi: 10.1042/CS20110340.
153. Immune versus thrombotic stimulation of platelets differentially regulates signalling pathways , intracellular protein – protein interactions, and alpha-granule release / S. Rex, L.M. Beaulieu, D.H. Perlman [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2009. – Vol. 102. – № 1. – P. 97–110.

154. Immunohistological changes in skin wounds during the early periods of healing in a rat model / F. Sabol, L. Dancakova, P. Gal [et al.] // *Veterinarni Medicina*. – 2012. – Vol. 57. – № 2. – P. 77–82.

155. Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure / J.J. Kazama, T. Shigematsu, K. Yano [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2002. – Vol. 39. – № 3. – P. 525–532.

156. Increased collagen deposition and diastolic dysfunction but preserved myocardial hypertrophy after pressure overload in mice lacking PKCepsilon / G. Klein, A. Schaefer, D. Hilfiker-Kleiner [et al.] // *Circ. Res.* – 2005. – Vol. 96. – № 7. – P. 748–755.

157. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization / T.B. Dahl, A. Yndestad, M. Skjelland [et al.] // *Circulation*. – 2007. – Vol. 115. – № 8. – P. 972–980.

158. Increased interleukin-4-positive lymphocytes in patients with Hashimoto's thyroiditis and concurrent non-endocrine autoimmune disorders / M.G. Santaguida, S. Nardo, S.C. Del Duca [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2011. – Vol. 165. – № 2. – P. 148–154. doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04419.x

159. Increased plasma osteoprotegerin concentrations are associated with indices of bone strength of the hip / E.J. Samelson, K.E. Broe, S. Demissie [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2008. – Vol. 93. – № 5. – P. 1789–1795. doi: 10.1210/jc.2007-2492.

160. Inflammation, neovascularization and intra-plaque hemorrhage are associated with increased reparative collagen content: implication for plaque progression in diabetic atherosclerosis / K. R. Purushothaman, M. Purushothaman, P. Muntner [et al.] // *Vasc. Med.* – 2011. – Vol. 16. – № 2. – P. 103–108. doi: 10.1177/1358863X11402249.

161. Influence of adipokines and ghrelin on bone mineral density and fracture risk: a systematic review and meta-analysis / E. Biver, C. Salliot, C. Combescure [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96. – № 9. – P. 2703–2713. doi: 10.1210/jc.2011–0047.

162. Influence of left atrial and ventricular volumes on the relation between mitral valve annulus and coronary sinus / A. Sorgente, Q.A. Truong, C. Conca [et al.] // *American Journal of Cardiology.* – 2008. – Vol. 102. – № 7. – P. 890–896.

163. Ingram J.L. Metalloproteinases as modulators of allergic asthma: therapeutic perspectives / J.L. Ingram, M. Kraft // *Browse Journals.* – 2015. – Vol. 2. – P. 61–74. doi.org / 10.2147 / MNM.S63614.

164. Interleukin 4 Deficiency Reverses Development of Secondary *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia during Sepsis-Associated Immunosuppression / Z. Song, J. Zhang, X. Zhang, D. Li [at al.] // *The Journal of Infectious Diseases.* – 2015. – Vol. 211. – Issue 10. – P. 1616–1627. doi: 10.1093/infdis/jiu668.

165. Interleukin–1 Participates in the Progression from Liver Injury to Fibrosis / R.G. Gieling, K. Wallace, Y.P. Han [et al.] // *Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2009. – Vol. 296. – № 6. – P. 1324–1331.

166. Interleukin-17a Homodimer Reduces Pro-inflammatory Cytokine Production By Inflammatory Bowel Disease Mucosa Cultured Ex Vivo [Electronic resourc] / P. Biancheri, A.D. Sabotino, R. Curciarello [et al.] // *Gut.* – 2014. – Vol. 63. – Suppl. 1. A162. doi:10.1136/gutjnl-2014-307263.347. – Access mode: [http://gut.bmj.com/content/63/Suppl\\_1/A162.1](http://gut.bmj.com/content/63/Suppl_1/A162.1).

167. Interleukin-4 and Cardiac Fibrosis in Patients with Heart Failure / E. Roselló-Lletí, M. Rivera, V. Bertomeu [et al.] // *Rev. Esp. Cardiol.* – 2007. – Vol. 60. – № 7. – P. 777–780.

168. Interleukine-8 receptor knockout mice have subepithelial neutrofil entrapment and renal scarring following acute pyelonephritis / L. Hang,

B. Frendeus, G. Godaly, C. Svanborg // *J. Infect. Dis.* – 2000. – Vol. 182. – № 6. – P. 1738–1748.

169. Interleukins 1 beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells / E.V. Acosta-Rodrigues, G. Napolitani, A. Lanzayecchia, F. Sallusto // *Nat. Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – № 9. – P. 942–949.

170. Interleukin-4-induced loss of CD8 expression and cytolytic function in effector CD8 T cells persists long term in vivo / S. Olver, S.H. Apte, A. Baz [et al.] // *J. Immunol.* – 2013. – Vol. 139(2). – № 6. – P. 187–196.

171. *International Review of Connective Tissue Research* / [Edited by M.A. Epstein]. – Academic Press, 2013. – Vol. 3 – 296 p.

172. Involvement of the Toll like receptor 4 pathway and use of TNF- $\alpha$  antagonists for treatment of the mucopolysaccharidosis / C.M. Simonaro, G. Y. Eliyahu, He X. Jepsen, E.H. Schichman // *Proc National Academy Science USA.* – 2010. – Vol. – 107. – № 1. – P. 222–227. doi: 10.1073/pnas.0912937107.

173. Ishmael F. T. The Inflammatory Response in the Pathogenesis of Asthma / F.T. Ishmael // *The Journal of the American Osteopathic Association.* – 2011. – Vol. 111. – Suppl. 7 (The Whole Patient). – № 11. – P.11–17.

174. Järvinen T.A. Targeted Antiscarring Therapy for Tissue Injuries / T.A. Järvinen, E. Ruoslahti // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* – 2013. – Vol. 2. – № 2. – P. 50–54.

175. Jiang H. Lysine fatty acylation promotes lysosomal targeting of TNF- $\alpha$  [Electronic resource] / H. Jiang, X. Zhang, H. Lin // *Scientific Reports* 6. – 2016. – Article number: 24371. – Published online: 15 April 2016. – doi:10.1038/srep24371. – Access mode: <http://www.nature.com/articles/srep24371>.

176. Jin W. IL-17 cytokines in immunity and inflammation / W. Jin, C. Dong // *Emerging Microbes and Infections.* – 2013. – Vol. 2. – № 9. – P. 1–5. doi: 10.1038/emi.2013.58.

177. Junqueira L.C. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy / L.C. Junqueira, W. Cossermelli, R. Brentani // *Arch. Histol. Jpn.* – 1978. – № 41. – P. 267–274.

178. Jones J.A. Transforming growth factor-beta signaling in thoracic aortic aneurysm development: a paradox in pathogenesis / J.A. Jones, F.G. Spinale, J.S. Ikonomidis // *J. Vasc. Res.* – 2009. – Vol. 46. – P. 119–137.

179. Kachgal S. Mesenchymal stem cells from adipose and bone marrow promote angiogenesis via distinct cytokine and protease expression mechanisms / S. Kachgal, A.J. Putnam // *Angiogenesis.* – 2011. – Vol. 14. – № 1. – P. 47–59.

180. Kanasaki K. Diabetic nephropathy: the role of inflammation in fibroblast activation and kidney fibrosis [Electronic resourc] / K. Kanasaki, G. Taduri, D. Koya // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2013. – Vol. 4. – № 7. doi:10.3389/fendo.2013.00007. – PMID: PMC3565176. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3565176/>.

181. KDIGO 2012. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of chronic kidney disease // *Kidney international supplements.* – 2013. – Vol. 3. – Iss.1. – P. 73.

182. Kessel A. Introduction to Proteins: Structure, Function, and Motion / A. Kessel, N. Ben-Tal. – CRC Press, 2010. – 654 p.

183. Khan R. Fibrosis in heart disease: understanding the role of transforming growth factor-beta in cardiomyopathy, valvular disease and arrhythmia / R. Khan, R. Sheppard // *Immunology.* – 2006. – Vol. 118. – № 1. – P. 10–24.

184. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD) // *Kidney International.* – 2009. – Vol. 76. – Suppl 113. – P. S1–S130.

185. Kim S.H. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor / S.H. Kim,



J. Turnbull, S. Guimond // *J. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 209. – № 2. – P. 139–151. doi: 10.1530/JOE–10–0377.

186. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms / S.J. Klebanoff, A.J. Kettle, H. Rosen // *Journal of Leukocyte Biology.* – 2013. – Vol. 93. – № 2. – P. 185–198.

187. Kochhar D.M. Alteration in the Metabolism of Glycosaminoglycans and Collagen / D.M. Kochhar, K.S. Larsson // *Mechanisms and Pathogenesis* / Edited by J. Wilson. – Springer Science & Business Media, 2013. – P. 231–270.

188. Kolios G. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease / G.Kolios, V.Valata, E.Kouroumalis // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol.12. – № 16. – P.7413–7420.

189. Kwak H.B. Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart / H.B. Kwak // *Journal of Exercise Rehabilitation.* – 2013. – Vol. 9. – № 3. – P. 338–347. doi: 10.12965/jer.130049.

190. Kwan T.S. Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? / T.S. Kwan, D. Lajeunesse, J.P. Pelletier // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* – 2010. – Vol. 24. – № 1. – P. – 51–70.

191. Lacy P. Cytokine release from innate immune cells: association with diverse membrane trafficking pathways / P. Lacy, J.L. Stow // *Blood.* – 2011. – Vol.118. – № 1. – P. 9–18. doi:10.1182/blood–2010–08–265892.

192. Lee S.H. Communication between the skeletal and immune systems / S.H. Lee, Y. Choi // *Osteoporosis and Sarcopenia.* – 2015. – Vol. 1. – Issue 2. – P. 81–91. doi:10.1016/j.afos.2015.09.004.

193. Lee T.H. Collagen inhibitory peptide R1R2 mediates vascular remodeling by decreasing inflammation and smooth muscle cell activation [Electronic resource] / T.H. Lee, J. Sottile, H.Y. Chiang // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10. – № 2. – e0117356. doi: 10.1371/journal.pone.0117356. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25675397>.

194. Lewis R. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease: new insights into mechanism and management / R. Lewis // *Ann. Clin. Biochem.* – 2012. – Vol. 49. – № 5. – P. 432–440.
195. LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption / Jian Luo, Zhengfeng Yang, Yu Ma [et al.] // *Nature Medicine.* – 2016. – Vol. 22. – № 5. – 539–546. doi:10.1038/nm.4076.
196. Li X.J. Detection of collagens in hypertrophic scars by picrosirius polarization method / X.J. Li, T. Lei, J.H. Gao // *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao.* – 2002. – Vol. 422. – № 3. – P. 217–219.
197. Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease / P. Libby // *Nutr. Rev.* – 2007. – Vol. 65. – № 12. – Pt 2. – P. 140–146.
198. Ligand-specific glucocorticoid receptor activation in human platelets / L.A. Moraes, M.J. Paul-Clark, A. Rickman [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol.106. – № 13. – P. 4167–4175.
199. Lin S. IL-4 Modulates Macrophage Polarization in Ankylosing Spondylitis / S. Lin, M. Qiu, J. Chen // *Cellular Physiology and Biochemistry.* – 2015. – Vol. 35. – № 6. – P. 2213–2222. doi: 10.1159/000374026.
200. Löffek S. Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance / S. Löffek, O. Schilling, C.W. Franzke // *European Respiratory Journal.* – 2011. – Vol. 38. – P. 191–208. doi: 10.1183/09031936.00146510.
201. López B. Circulating Biomarkers of Collagen Metabolism in Cardiac Diseases / B. López, A. González, J. Díez. // *Circulation.* – 2010. – Vol. 121. – № 14. – P. 1645–1654. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.912774.
202. Association of interleukin 8 single nucleotide polymorphisms with the susceptibility to respiratory syncytial virus infection / A.Z. Lu, L.B. Wang, M.Z. Zhang, X.B. Zhang // *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* – 2007. – Vol. 45. – №2. – P. 100–104.

203. Lugovskov A.D. Concentration studying pro- and antiinflammatory cytokines at patients with virus hepatitis A during water flash / A.D. Lugovskov, W. Zukow // *Journal of Health Sciences*. – 2013. – Vol.3. – №7. – P.21–36.
204. Lukens J.R. IL-1 family cytokines trigger sterile inflammatory disease / J.R. Lukens, J.M. Gross, T.D. Kanneganti // *Front. Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 315. doi: 10.3389/fimmu.2012.00315.
205. MacDonald T.T. The cytokine network in IBD [Electronic resource] / T.T. MacDonald // *Inflammatory bowel disease – diagnostic and therapeutic strategy: falk symposium*. – Moscow, 2006. – P. 24 – 25. – Access mode: <https://www.dr.falk.co.uk>.
206. Macrophage polarization in response to wear particles in vitro / J.K. Antonios, Z. Yao, C. Li [et al.] // *Cellular and Molecular Immunology*. – 2013. – Vol. 10. – № 6. – P. 471–482. doi:10.1038/cmi.2013.39.
207. Malhi H. Cellular and Molecular Mechanisms of Liver Injury / H. Malhi, G.J. Gores // *Gastroenterology*. – 2008. – Vol. 134. – № 6. – P. 1641–1654.
208. Marini F. Genetic determinants of osteoporosis: common bases to cardiovascular diseases? [Electronic resource] / F. Marini, M.L. Brandi // *International Journal of Hypertension*. – 2010. – Vol. 2010. – Article ID 394579. – 16 p. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.4061/2010/394579>.
209. Martin G.R. Gastrointestinal inflammation: A central component of mucosal defense and repair / G.R. Martin, J.L. Wallace // *Exp. Biol. Med.* – 2006. – Vol. 231. – P. 130–137.
210. *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects* / W.J. Marshall, M. Lapsley, A. Day, R. Ayling. – 3 rd ed. – Churchill Livingstone, 2014. – 944 p.
211. Martin M.L. Cardiac Intercellular Communication: Are myocytes and fibroblasts fair-weather friends? / M.L. Martin, B.C. Blaxall // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* – 2012. – Vol. 5. – № 6. – P. 68–782. doi:10.1007/s12265-012-9404-5.

212. Martinez F.O. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment [Electronic resource] / F.O. Martinez, S. Gordon // F1000Prime Rep. – 2014. – Vol. 6. – Article 13. – 13 pages. doi: 10.12703/P6-13. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/>.

213. Matrix Metalloproteinase 8 (Collagenase 2) Induces the Expression of Interleukins 6 and 8 in Breast Cancer Cells / S. Thirkettle, J. Decock, H. Arnold [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2013. – Vol. 288. – № 23. – P. 16282–16294. doi: 10.1074/jbc.M113.464230.

214. Matrix metalloproteinases (with accent to collagenases) / B. Evrosimovska, B. Velickovski, C. Dimova, D. Veleska-Stefkovska // Journal of Cell and Animal Biology. – 2011. – Vol. 5. – № 7. – P. 113–120.

215. Matrix metalloproteinases as potential fecal biomarkers for ulcerative colitis – a function beyond their proteolytic activity / A. Pujada, L. Walter, T. Dhere, P. Garg // Browse Journals. – 2016. – Vol.3. – P.19–29.

216. Matull W.R. Biochemical markers of acute pancreatitis / W.R. Matull, S.P. Pereira, J.W. O'Donohue // J. Clin.Pathol. – 2006. – Vol. 59. – № 4. – P. 340–344. doi: 10.1136/jcp.2002.002923.

217. Measurement of hydroxyproline in collagen with three different methods / B. Qiu, F. Wei, X. Sun [et al.] // Molecular Medicine Reports. – 2014. – Vol. 10. – № 2. – P. 1157–1163. doi: 10.3892/mmr.2014.2267

218. Mechanical forces regulate the interactions of fibronectin and collagen I in extracellular matrix / K.E. Kubow, R. Vukmirovic, L. Zhe [et al.] // Nat. Commun. – 2015. – № 6. – P. 8026.

219. Mechanism of glycosaminoglycan-mediated bone and joint disease: implication for mucopolysaccharidoses and other connective tissue diseases / C.M. Simonaro, M. D'Angelo, M.E. Haskins [et al.] // American Journal of Pathology. – 2008. – Vol. 172. – № 1. – P.112–122.

220. Mechanisms of disease: the link between RANKL and arthritic bone disease / G. Schett, S. Hayer, J. Zwerina [et al.] // Nat. Clin. Pract. Rheumatol. – 2005. – Vol. 1. – № 1. – P. 47–54.

221. Meta-analysis: excess mortality after hip fracture among older women and men / P. Haentjens, J. Magaziner, C.S. Colon-Emeric [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 152. – № 6. – P. 380–390.

222. Metabolic abnormalities in patients with normocalcemic hyperparathyroidism detected at a population-based screening / E. Hagström, E. Lundgren, J. Rastad, P. Hellman // *European Journal of Endocrinology.* – 2006. – Vol. 155. – № 1. – P. 33–39.

223. Migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  and its possible role in wound healing / X. Fu, B. Han, S. Cai [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 2009. – Vol.17. – № 2. – P. 185–191.

224. Miller P.D. Diagnosis and treatment of osteoporosis in chronic renal disease / P.D. Miller // *Semin. Nephrol.* – 2009. – Vol. 29. – № 2. – P. 144–155. doi: 10.1016/j.semnephrol.2009.01.007.

225. Miossec P. IL-17 and Th17 cells in human inflammatory diseases / P. Miossec // *Microbes Infect.* – 2009. – Vol. 11. – № 5. – P. 625–630.

226. Mitral valve prolapse syndrome as cause of sudden death in young adults / S. Anders, S. Said, F. Schulz [et al.] // *Forensic Science International.* – 2007. – Vol. 171. – № 2–3. – P. 127–130.

227. Mizrahi K. Physiological functions of TNF family receptor/ligand interactions in hematopoiesis and transplantation / K. Mizrahi, N. Askenasy // *Blood.* – 2014. – Vol. 124. – № 2. – P. 176–183. doi:10.1182/blood-2014-03-559641.

228. Moe S.M. Disorders involving calcium, phosphorus, and magnesium / S.M. Moe // *Prim. Care.* – 2008. – Vol. 35. – № 2. – P. 215.

229. Molecular aspects of adipokine-bone interactions / P. Magni, E. Dozio, E. Galliera [et al.] // *Curr. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 10. – № 6. – P. 522–532.

230. Momeni A. Concurrent diabetic nephropathy and C1q nephropathy in a young male patient: The first report in literature / A. Momeni, H. Nasri // *J. Nephrothol.* – 2013. – Vol. 2. – № 3. – P. – 201–203.

231. Mortality after low trauma hip fracture: a prospective cohort study / M. Valizadeh, S. Mazloomzadeh, S. Golmohammadi, B. Larijani // *BMC Musculoskeletal Disorders*. – 2012. – Vol. 13. – P. 143. doi: 10.1186/1471-2474-13-143.

232. Muiznieks L.D. Molecular assembly and mechanical properties of the extracellular matrix: A fibrous protein perspective / L.D. Muiznieks, F.W. Keeley // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. – 2013. – Vol. 1832. – Issue 7. – P. 866–875.

233. Murray K.N. Interleukin-1 and acute brain injury // K.N. Murray, A.R. Parry-Jones, S.M. Allan // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2015. – Vol. 9. – P. 1–17.

234. Murray P.J. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets / P.J. Murray, T.A. Wynn // *Nat Rev Immunol*. – 2011. – Vol. 11. – № 11. – P. 723–737. doi: 10.1038/nri3073.

235. Mutual cross-talk between reactive oxygen species and nuclear factor-kappa B: molecular basis and biological significance / C. Bubici, S. Papa, K. Dean, G. Franzoso // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25. – № 51. – P. 6731–6748.

236. Myocardial Extracellular Matrix / M. Rienks, A.P. Papageorgiou, N.G. Frangogiannis [et al.] // *Circulation Research*. – 2014. – Vol. 114. – P. 872–888.

237. Nabeshima Y. Discovery of  $\alpha$ -Klotho unveiled new insights into calcium and phosphate homeostasis / Y. Nabeshima // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B*. – 2009. – Vol. 85. – № 3. – P. 125–141.

238. Nagy V. The RANKL-RANK Story / V. Nagy, J.M. Penninger // *Gerontology*. – 2015. – Vol. 61. – № 6. – P. 534–542. doi:10.1159/000371845.

239. Naik P. *Biochemistry* / P. Naik. – 4th ed.: JP Medical Ltd, 2015. – 684 p.

240. Nakahama K. Cellular communications in bone homeostasis and repair / K. Nakahama // *Cell Mol. Life Sci*. – 2010. – Vol. 67. – № 23. – P. 4001–4009.

241. Nakashima T. Regulation of bone resorption by osteocytes / T. Nakashima, M. Hayash, H. Takayanagi // *Clin. Calcium.* – 2012. – Vol. 22. – № 5. – P. 685–696.

242. National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification / A.S. Levey, J. Coresh, E. Balk [et. al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2003. Vol. 139. – № 2. – P. 137–147. doi:10.7326/0003–4819–139–2–200307150–00013.

243. Natural variation in four human collagen genes across an ethnically diverse population / T.F. Chan, A. Poon, A. Basu [et al.] // *Genomics.* – 2008. – Vol. 91. – № 4. – P. 307–314.

244. Neumann E. The RANK/RANKL/osteoprotegerin system in rheumatoid arthritis: new insights from animal models / E. Neumann, S. Gay, U. Miller-Ladner // *Arthritis Rheum.* – 2005. – Vol. 52. – №10. – P. 2960–2967.

245. New concepts of IL-10-induced lung fibrosis: fibrocyte recruitment and M2 activation in a CCL2/CCR2 axis / L. Sun, M. C. Louie, K. M. Vannella [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2011. – Vol. 300. – № 3. – P. 341–53.

246. New insights into the mechanism of fibroblast to myofibroblast transformation and associated pathologies / M.A. Watsky, K.T. Weber, Y. Sun, A. Postlethwaite // *International Review of Cell and Molecular Biology.* – 2010. – Vol. 282. – P. 165–192. doi: 10.1016/S1937–6448(10)82004–0.

247. Nitric oxide synthase expression and activity in the tight-skin mouse model of fibrosis / A. Dooley, S.Y. Low, A. Holmes [et al.] // *Rheumatology (Oxford).* – 2008. – Vol. 47. – № 3. – P. 272–280. doi: 10.1093/rheumatology/kem303.

248. Nurden A.T. Platelets, inflammation and tissue regeneration / A.T. Nurden // *Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 105. – Suppl. 1. – P. 13–33.

249. Nybo M. The capability of plasma osteoprotegerin as a predictor of cardiovascular disease: a systematic review / M. Nybo, L. M. Rasmussen // *Eur. J. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 159. – № 5. – P. 603–608. doi: 10.1530/EJE–08–0554.

250. O'Connor W. The dual nature of Th17 cells: shifting the focus to function / W. O'Connor, L.A. Zenewicz, R.A. Flavell / *Nature Immunology*. – 2010. – Vol. 11. – № 6. – P. 471–476.

251. Olczyk P. The Role of the Extracellular Matrix Components in Cutaneous Wound Healing [Electronic resource] / P. Olczyk, Ł. Mencner, K. Komosinska-Vassev // *BioMed Research International*. – 2014. – Vol. 2014. – Article ID 747584. – 8 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/747584>.

252. Omelyanenko N.P. Connective Tissue: Histophysiology, Biochemistry, Molecular Biology / N.P. Omelyanenko, L.I. Slutsky, S.P. Mironov. – CRC Press, 2016. – 638 p.

253. Onishi R.M. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease / R.M. Onishi, S.L. Gaffen // *Immunology*. – 2010. – Vol. 129. – № 3. – P. 311–321.

254. OPG/RANKL/RANK axis is a critical inflammatory signaling system in ischemic brain in mice / Munehisa Shimamura, Hironori Nakagami, Mariana K. Osako [et.al] // *Current Issue*. – 2014. – Vol. 111. – № 22. – P. 8191–8196. doi: 10.1073/pnas.1400544111.

255. Osteocyte network: a negative regulatory system for bone mass augmented by the induction of RANKL in osteoblasts and SOST in osteocytes at unloading [Electronic resource] / T. Moriishi, R. Fukuyama, M. Ito [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – №.6. – e40143. doi: 10.1371/journal.pone.0040143.

256. Osteoimmunology in mucopolysaccharidoses type I, II, VI and VII. Immunological regulation of the osteoarticular system in the course of metabolic inflammation / V. Opoka-Winiarska, A. Jurecka, A. Emeryk, A. Tylki-Szymanska // *Osteoarthritis and Cartilage Journal*. – 2013. – Vol. 21. – № 12. – P. 1813–1823.

257. Osteoimmunology: cytokines and the skeletal system / S.H. Lee, T.S. Kim, Y. Choi [et al.] // *BMB reports*. – 2008. – Vol. 41. – № 7. – P. 495–510.



258. Osteoprotegerin and Osteopontin are expressed at high concentrations within carotid atherosclerosis / J. Golledge, M. McCann, S. Mangan [et al.] // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35. – № 7. – P. 1636–1641.

259. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in ApoE<sup>-/-</sup> mice / B.J. Bennett, M. Scatena, E.A. Kirk [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2006. – Vol 26. – № 9. – P. 2117–2124.

260. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr*<sup>(-/-)</sup> mice / S. Morony, Y. Tintut, Z. Zhang [et al.] // *Circulation*. – 2008. – Vol. 117. – № 3. – P. 411–420. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.707380.

261. Osteoprotegerin, RANKL and bone turnover in postmenopausal osteoporosis / S. Jabbar, J. Druny, J. N. Nordam [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2011. – Vol. 64. – № 4. – P. 354–357.

262. Pagani F. Markers of bone turnover: biochemical and clinical perspectives / F. Pagani, C.M. Francucci, L. Moro // *J. Endocrinol. Invest.* – 2005. – Vol. 28. – Suppl. 10. – P. 8–13.

263. Palevsky P.M. Chronic-on-acute kidney injury / P.M. Palevsky // *Kidney Int.* – 2012. – Vol. 81. – № 5. – P. 430–431. doi: 10.1038/ki.2011.435.

264. Parsons C.J. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis / C.J. Parsons, M. Takashima, R.A. Rippe // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol 22. – № 1. – P. 79–84.

265. Effect of IL-17A blockade with secukinumab in autoimmune diseases / D.D. Patel, D.M. Lee, F. Kolbinger, C. Antoni // *Ann. Rheum. Dis.* – 2013. – Vol. 72. – № 2. – P.116–123. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202371.

266. Patton K.T. *Anatomy and Physiology* / K.T. Patton. – 9th ed. – London: Elsevier Health Sciences, 2015. – 1264 p.

267. Paul W.E. History of interleukin-4 / W.E. Paul // *Cytokine*. – 2015. – Vol. 75. – № 1. – P. 3–7. doi:10.1016/j.cyto.2015.01.038.

268. Pedersen B.K. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 / B.K. Pedersen, M.A. Febbraio // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88. – № 4. – P. 1379–1406. doi: 10.1152/physrev.90100.2007.

269. Peifer C. New approaches to the treatment of inflammatory disorders small molecule inhibitors of p38 MAP kinase / C. Peifer, G. Wagner, S. Laufer // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2006. – Vol.6. – № 2. – P. 113–149.

270. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites / R. Abe, S.C. Donnelly, T. Peng [et al.] // *J.Immunol.* – 2001. – Vol. 166. – № 12. – P. 7556–7562.

271. PKA-induced Receptor Activator of NF- $\kappa$ B Ligand (RANKL) Expression in Vascular Cells Mediates Osteoclastogenesis but Not Matrix Calcification / W. Tseng, L.S. Graham, Y. Geng [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry.* – 2010. – Vol. 285. – № 39. – P. 29925–29931. doi: 10.1074/jbc.M110.117366.

272. Place L.W. Synthesis and Characterization of Proteoglycan-Mimetic Graft Copolymers with Tunable Glycosaminoglycan Density / L.W. Place, S.M. Kelly, M.J. Kipper // *Biomacromolecules.* – 2014. – Vol. 15. – № 10. – P. 3772–3780.

273. Pleiotropic functions of TNF- $\alpha$  in the regulation of the intestinal epithelial response to inflammation / M. Leppkes, M. Roulis, M.F. Neurath [et al.] // *Int.Immunol.* – 2014. – Vol. 26. – № 9. – P. 509–515. doi: 10.1093/intimm/dxu051.

274. Porporato P.E. Understanding cachexia as a cancer metabolism syndrome / P.E. Porporato [Electronic resource] // *Oncogenesis.* – 2016. – Vol. 5. – e200. doi:10.1038/oncsis.2016.3. – Published online 22 February 2016. –Access mode: <http://www.nature.com/oncsis/journal/v5/n2/full/oncsis20163a.html>.

275. Possible Impairment of Transcardiac Utilization of Adiponectin in Patients With Type 2 Diabetes / M. Furuhashi, U. Nobuyuki, N. Moniwa [et al.] // *Diabetes Care.* – 2004. – Vol. 27. – № 9. – P. 2217–2221.

276. Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines during Immune Stimulation: Modulation of Iron Status and Red Blood Cell Profile [Electronic resource] / A.M. Koorts, P.F. Levay, P.J. Becker [et al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2011. – Article ID 716301, 11 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/716301>.

277. Prominent Bone Loss Mediated by RANKL and IL-17 Produced by CD4+ T Cells in TallyHo/JngJ Mice [Electronic resource] / H.Y. Won, J.A. Lee, Z.S. Park [et al.] // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6. – № 3. – e18168. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0018168>.

278. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections / B. Puthothu, M. Krueger, J. Heinze [et al.] // *Clin. Mol. Allergy*. – 2006. – Vol. 4. – № 2. – P. 14–16.

279. Quan T.E. The role of circulating fibrocytes in fibrosis / T.E. Quan, S.E. Cowper, R. Bucala // *Current Rheumatology Reports*. – 2006. – Vol. 8. – № 2. – P.145–150.

280. Raggant L.J. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling / L.J. Raggant, N.C. Partridge // *J. Biol. Chem*. – 2010. – Vol. 285. – № 33. – P. 25103–25108.

281. Raisz L.G. Screening for Osteoporosis / L.G. Raisz // *New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 353. – P. 164–171. doi: 10.1056/NEJMcp042092

282. Rajan S.T. Bidirectional communication between the neuroendocrine system and the immune system: relevance to health and diseases / S.T. Rajan, H.P. Priyanka // *Ann Neurosci*. – 2012. – Vol. 19. – № 1. – P. 40–46. doi:10.5214/ans.0972.7531.180410.

283. Ramesh G. Cytokines and Chemokines at the Crossroads of Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Neuropathic Pain [Electronic resource] / G. Ramesh, A.G. MacLean, M.T. Philipp // *Mediators of Inflammation*. – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 480739. – 20 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/480739>.

284. Raska O. Bone metabolism: a note on the significance of mouse models / O. Raska, K. Bernaskova, J. R. Raska // *Physiological research*. – 2009. – Vol. 58. – № 4. – P. 459–471.

285. Reappraisal of generic bisphosphonates in osteoporosis / J.A. Kanis, J.Y. Reginster, J.M. Kaufman [et al.] // *Osteoporosis Int*. – 2012. – Vol. 23. – № 1. – P. 213–221.

286. Recent Advances on the Role of Cytokines in Atherosclerosis / Hafid Ait-Oufella, Soraya Taleb, Ziad Mallat, Alain Tedgui // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. – 2011. – Vol. 31. – № 5. – P. 969–979.

287. Recent progress towards a molecular understanding of Marfan syndrome / H.C. Dietz, B. Loeys, L. Carta, F. Ramirez // *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*. – 2005. – Vol.139. – № 1. – P. 4–9.

288. Regulation of pancreatic inflammation by connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) / A. Charrier, R. Chen, S. Kemper, D.R. Brigstock // *Immunology*. – 2014. – Vol.141. – Issue 4. – P. 564–576.

289. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells / E. Bettelli, Y. Carrier, W. Gao [et al.] // *Nature*. – 2006. – Vol. 441 (7090). – P. 235–238.

290. Reducing serum uric acid attenuates TGF- $\beta$ 1-induced profibrogenic progression in type 2 diabetic nephropathy / S.M. Kim, Y.W. Choi, H.Y. Seok [et al.] // *Nephron Exp Nephrol*. – 2012. – Vol. 121. – № 3–4.– P. 109–121. doi: 10.1159/000343567.

291. Regulation and role of connective tissue growth factor in Ang.II-induced myocardial fibrosis / N.L. Rosin, A. Falkenham, M.J. Sopol [et al.] // *Am. J. Pathol*. – 2013. – Vol 182. – № 3. – P. 714–726.

292. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of “alternatives”/ I.G. Luzina, A.D. Keegan, N.M. Heller [et al.] // *J. Leukoc. Biol*. – 2012. – Vol. 92. – № 4. – P.753–764. doi: 10.1189/jlb.0412214.

293. Reid I. R. Fat and bone / I. R. Reid // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2010. – Vol. 503. – № 1. – P. 20–27. doi: 10.1016/j.abb.2010.06.027.
294. Relationships between serum adiponectin, leptin, resistin, visfatin levels and bone mineral density, and bone biochemical markers in Chinese men / X.D. Peng, H. Xie, Q. Zhao [et al.] // *Clinica Chimica Acta.* – 2008. – Vol. 387. – № 1–2. – P. 31–35.
295. Relationships between serum adiponectin with metabolic syndrome and components of metabolic syndrome in non-diabetic Koreans: ARIRANG study / S.B. Koh, J. Yoon, J.Y. Kim [et al.] // *Yonsei Med. J.* – 2011. – Vol. 52. – № 2. – P. – 234–241.
296. Renal function and risk of hip and vertebral fractures in older women / K. Ensrug, L. Lui, B. Taylor [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2007. – Vol. 167. – № 2. – P. 133–139.
297. Resch H. Osteoporosis: New-Generation Drugs / H. Resch // *Breast Care (Basel).* – 2010. – Vol. 5. – № 5. – P. 313–319.
298. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S. Reynolds // *J.Cell.Biol.* – 1963. – Vol.17. – P. 208–212.
299. Ribatti D. Mast Cells and Tumours: from Biology to Clinic / D Ribatti, E Crivellato. – Springer Science & Business Media, 2011. – 142 p.
300. Ricard-Blum S. The Collagen Family / S. Ricard-Blum // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2011. – Vol. 3. – №1. – P. 1–19. doi: 10.1101/cshperspect.a004978.
301. Role of collagen enzymatic and glycation induced cross-links as a determinant of bone quality in spontaneously diabetic WBN/Kob rats / M. Saito, K. Fujii, Y. Mori, K. Marumo // *Osteoporosis International.* – 2006. – Vol. 17. – № 10. – P. 1514–1523.
302. Role of interleukin-6 in regulation of immune responses to remodeling after myocardial infarction / M. Huang, D. Yang, M. Xiang, J. Wang // *Heart Fail. Rev.* – 2015. – Vol. 20. – № 1. – P. 25–38. doi: 10.1007/s10741-014-9431-1.

303. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis / P. Pittayapruek, J. Meephanan, O. Prapapan [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17. – № 6. – P. 868. doi:10.3390/ijms17060868.

304. Role of osteoprotegerin in arterial calcification: development of new animal model / Y. Orita, H. Yamamoto, N. Kohno [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2007. – Vol.27 – № 9. – P. 2058–2064.

305. Romagnani P. Peripheral blood as a source of stem cells for regenerative medicine / P. Romagnani // *Expert. Opin. Biol. Ther.* – 2006. – Vol. 6. – № 3. – P. 193–202.

306. Rondinone C.M. Adipocyte-derived hormones, cytokines, and mediators / C.M. Rondinone // *Endocrine*. – 2006. – Vol. 29. – № 1. – P. 81–90.

307. Rose-John S. IL-6 Trans-Signaling via the Soluble IL-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of IL-6 / S. Rose-John // *International Journal of Biological Sciences*. – 2012. – Vol.8. – №9. – P.1237–1247. doi:10.7150/ijbs.4989.

308. Ruffner M.A. Dendritic Cells Transduced to Express Interleukin 4 Reduce Diabetes Onset in Both Normoglycemic and Prediabetic Nonobese Diabetic Mice [Electronic resource] / M.A. Ruffner, P.D. Robbins // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5. – № 7. – e11848. doi:10.1371/journal.pone.0011848. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20686610>.

309. S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF-(alpha) signaling through IKK2 / J. Zhang., Z. Gao, J. Yin [et al.] // *Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – № 51. – P. 35375–35382.

310. Sagalovsky S. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis / S. Sagalovsky, M. Schonert // *Journal of Clinical and Experimental Pathology*. – 2011. – Vol. 10. – № 2. – P. 146–153.

311. Salamon A. Role of fibroblasts in physiologic, reparative and pathologic processes / A. Salamon, E. Toldy // *Orvosi Hetilap*. – 2007. – Vol. 148. – № 36. – P. 1683–1690.
312. Collagen and health disease / S.V. Sandhu, S. Gupta, H. Bansai, K. Singta // *Journal of Orofacial Research*. – 2012. – Vol. 2. – № 3. – P. 153–159. doi: 10/5005/jp-journals-10026-103.
313. Santibanez J.F. TGF- $\beta$ /TGF- $\beta$  receptor system and its role in physiological and pathological conditions / J.F. Santibanez, M. Quintanilla, C. Bernabeu // *Clin. Sci.* – 2011. – Vol.121. – № 6. – P. 233–251. doi: 10.1042/CS20110086.
314. Sarahrudi K. Elevated transforming growth factor-beta 1 (TGF- $\beta$ 1) levels in human fracture healing / K. Sarahrudi, A. Thomas, M. Mousavi // *Injury*. – 2011. – Vol. 42. – № 8. – P. 833–837.
315. Sarahrudi K. The influence of low molecular weight heparin on the expression of osteogenic growth factors in human fracture healing / K. Sarahrudi, G. Kaiser, A. Thomas // *Int. Orthop.* – 2012. – Vol. 36. – № 5. P. – 1095–1098.
316. Schepeler T. Heterogeneity and plasticity of epidermal stem cells / T. Schepeler, M.E. Page, K.B. Jensen // *Development*. – 2014. – Vol. 141. – № 13. – P. 2559–2567.
317. Schneeweis L.A. Functional dissociation of osteoprotegerin and its interaction with receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand / L.A. Schneeweis, D. Willard, M.E. Milla // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – № 41. – P. 155–164.
318. Secretion of the adipocyte-specific secretory protein adiponectin critically depends on thiol-mediated protein retention / Z.V. Wang, T.D. Schraw, J.Y. Kim [et al.] // *Molecular and Cellular Biology*. – 2007. – Vol. 27. – № 10. – P. 3716–3731.
319. Sedger L.M. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future / L.M. Sedger, M.F. McDermott // *Cytokine and Growth Factor Reviews*. – 2014. – Vol. 25. – Issue 4. – P. 453–472.

320. Segel L.A. Diffuse Feedback from a Diffuse Informational Network: In the Immune System and Other Distributed Autonomous Systems, in Design Principles for the Immune System and Other Distributed Autonomous Systems / L.A. Segel, I.R. Cohen // Oxford, U.K.: Oxford University Press. – 2001. – P. 203–226.

321. Serum adiponectin and bone mineral density in women / J.B. Richards, A.M. Valdes, K. Burling [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2007. – Vol. 92. – № 4. – P. 1517–1523.

322. Serum adiponektin, leptin and bone mineral density in postmenopausal women / X. Lei, X. Peng, N. Wu [et al.] // Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2009. – Vol. 34. – № 6. – P. 559–562.

323. Serum osteoprotegerin is associated with carotid intima media thickness in women with previous gestational diabetes / B. Akinci, T. Bemir, A. Celtik [et al.] // Diab. Res. Clin. Pract. – 2008. – № 82. – № 2. – P. 172–178. doi: 10.1016/j.diabres.2008.07.014.

324. Shoulders M.D. Collagen structure and stability / M.D.Shoulders, R.T. Raines // Annu Rev. Biochem. – 2009. – Vol. 78. – P. 929–958. doi: 10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833

325. Silva M.T. Macrophage phagocytosis of neutrophils at inflammatory/infectious foci: a cooperative mechanism in the control of infection and infectious inflammation / M.T. Silva // Journal of Leukocyte Biology. – 2011. – Vol. 89. – № 5. – P. 675–683. doi: 10.1189/jlb.0910536.

326. Silveira e Sá R.C. A Review on Anti-Inflammatory Activity of Monoterpenes / R.C. Silveira e Sá, L.N. Andrade, D.P.de Sousa // Molecules. – 2013. – Vol. 18. – № 1. – P. – 1227–1254. doi:10.3390/molecules18011227.

327. Simonaro C.M. Articular chondrocytes from animals with dermatan sulfat storage disease undergo a high rate of apoptosis and release nitric oxide and inflammatory cytokins: a possible mechanism underlying degenerative joint disease in the mucopolysaccharidosis / C.M. Simonaro, M.E. Haskins, E.H. Schichman // Laboratory Investigation Journal. – 2001. – Vol. 81. – № 9. – P. 1319–1328.



328. Sims N.A. Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit [Electronic resource] / N.A. Sims, T.J. Martin // *BoneKEy Report*. – 2014. – Vol. 3. – Article number 481. doi:10.1038/bonekey.2013.215. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3899560/>.

329. Spartalis M. Receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand/osteoprotegerin axis and vascular calcifications in patients with chronic kidney disease / M. Spartalis, A. Papagianni // *World J. Nephrol.* – 2016. – Vol. 5. – № 1. – P. 1–5.

330. Stice J.P. Estrogen, NF $\kappa$ B and the Heat Shock Response / J.P. Stice, A.A. Knowlton // *Mol. Med.* – 2008. – Vol. 14. – № 7–8. – P. 517–527. doi: 10.2119/2008–00026.Stice.

331. Stokes K.Y. Platelets: a critical link between inflammation and microvascular dysfunction / K.Y. Stokes, D.N. Granger // *J. Physiol.* – 2012. – Vol. 590. – № 5. – P. 1023–1034. doi: 10.1113/jphysiol.2011.225417

332. Stromal cells in tumor microenvironment and breast cancer / Y. Mao, E.T. Keller, D.H. Garfield [et al.] // *Cancer Metastasis Rev.* – 2012. – Vol. 32. – № 1–2. – P. 303–315.

333. Structural insights into triple-helical collagen cleavage by matrix metalloproteinase 1 / S.W. Manka, F. Carafoli, R.Visse [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* – 2012. – Vol. 109. – № 31. – P. 12461–12466. doi: 10.1073/pnas.1204991109.

334. Systemic Cytokine Levels Do Not Predict CD4+T-Cell Recovery After Suppressive Combination Antiretroviral Therapy in Chronic Human Immunodeficiency Virus Infection / P.J. Norris, J. Zhang, A. Worlock [et al.] // *Open Forum Infect. Dis.* – 2016. – Vol. 3. – № 1. – 9 p. doi: 10.1093/ofid/ofw025.

335. T cell-macrophage interactions and granuloma formation in vasculitis / M. Hilhorst, T. Shirai, G. Berry [et al.] // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – Article 432. – P. 1–14. doi: 10.3389/fimmu.2014.00432.

336. Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems / H. Takayanagi // *Nat. Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 7. – № 4. – P. 292–304.

337. Targeting Interleukin-1 in Heart Disease / B.W. Van Tassell, S. Toldo, E. Mezzaroma [et al.] // *Circulation.* – 2013. – Vol. 128. – № 17. – P. 1910–1923. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003199.

338. T-cell response to bacterial agents / M.M. D’Elios, M. Benagiano, C.D. Bella [et al.] // *J. Infect. Dev. Ctries.* – 2011. – Vol. 5. – № 9. – P. 640–645.

339. Th17 cells in human disease / L.A. Tesmer, K. Lundy, S. Sarkar, D.A. Fox // *Immunological Reviews.* – 2008. – Vol. 223. – P. 87–113. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00628.x.

340. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis / G. Wheeler, M. Elshahaly, S.P. Tuck [et al.] // *Journal of Translational Medicine.* – 2013. – Vol. 11. – № 1. – P. 201–215. doi:10.1186/1479-5876-11-201.

341. The content and ratio of type I and III collagen in skin differ with age and injury / W.Cheng, R.Yan-hua, N.Fang-gang [et al.] // *African Journal of Biotechnology.* – 2011. – Vol. 10. – № 13. – P. 2524–2529.

342. The Effects of Interleukin-17 (IL-17)-Related Inflammatory Cytokines and A20 Regulatory Proteins on Astrocytes in Spinal Cord Cultured In Vitro / S. Zong, K. Li, G. Zeng [et al.] // *J. Cell. Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol.38. – № 3. – P.1100 – 1110. doi: 10.1159/000443060.

343. The Interplay between the Bone and the Immune System [Electronic resource] / G. Mori, P. D’Amelio, R. Faccio, G. Brunetti // *Clinical and Developmental Immunology.* – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 720504. – 16 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/720504>.

344. The kidney and bone metabolism: nephrologists' point of view / M. Fukagawa, Y. Hamada, S. Nakanishi, M. Tanaka // *J. Bone Miner. Metab.* – 2006. – Vol. 24. – № 6. – P.434–438.

345. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6 / J. Scheller, A. Chalaris, D. Schmidt-Arras [et al.] // *Biochimica*

et Biophysica Acta. – 2011. – Vol.1813. – № 5. – P. 878–888. doi:10.1016/j.bbamcr.2011.01.034.

346. The proteoglycan bikunin has a defined sequence / M. Ly, F.E. Leach III, T.N. Laremore [et al.] // Nature Chemical Biology. – 2011. – Vol. 7. – P. 827–833.

347. The ratio of type II collagen breakdown to synthesis and its relationship with the progression of knee osteoarthritis / S. Cahue, L. Sharma, D. Dunlop [et al.] // Osteoarthritis and Cartilage. – 2007. – Vol. 15. – № 7. – P. 819–823.

348. The relationship between adipokines, body composition, and bone density in men with chronic obstructive pulmonary disease / S.F. Vondracek, N.F. Voelkel, M.T. McDermott, C. Valdez // International Journal of COPD. – 2009. – Vol.4. – P. 267–277.

349. The relationship between adipokines, osteocalcin and bone quality in chronic kidney disease / J. Bacchetta, S. Boutroy, F. Guebre [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2009. – Vol. 24. – № 10. – P. 3120–3125. doi: 10.1093/ndt/gfp262..

350. The relationship between serum adiponectin level and anthropometry, bone mass, osteoporotic fracture risk in postmenopausal women / B. Ozkurt, Z.N. Ozkurt, M. Altay [et al.] // Eklem. Hastalik Cerrahishi. – 2009. – Vol. 20. – № 2. – P. 78–84.

351. The Role of Macrophage Migration Inhibitory Factor in Mast Cell-Stimulated Fibroblast Proliferation and Collagen Production [Electronic resource] / G. Ningyan, Y. Xu, S. Hongfei [et al.] / PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10(3): e0122482. doi:10.1371/journal.pone.0122482. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122482>.

352. The role of tumor necrosis factor- $\alpha$  and TNF- $\alpha$  receptors in cerebral arteries following cerebral ischemia in rat / A. Maddahi, L.S. Kruse, Q.W. Chen, L. Edvinsson // Journal of Neuroinflammation. – 2011. – Vol. 8. – P. 107. doi: 10.1186/1742-2094-8-107.

353. The triple helical structure and stability of collagen model peptide with 4(S)-hydroxyprolyl-Pro-Gly units / D. Motooka, K. Kawahara, S. Nakamura [et al.] // *Biopolymers*. – 2012. – Vol. 98. – № 2. – P. 111–121.

354. Therapeutic Potential of Perineural Invasion, Hypoxia and Desmoplasia in Pancreatic Cancer / H. Liu, Q. Ma, Q. Xu [et al.] // *Curr Pharm Des*. – 2012. – Vol. 18. – № 17. – P. 2395–2403.

355. Tilg H. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity / H. Tilg, A.R. Moschen // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 6. – № 10. – P. 772–783.

356. TL1A Induces TCR Independent IL-6 and TNF- $\alpha$  Production and Growth of PLZF+ Leukocytes [Electronic resource] / K. Reichwald, T.Z. Jørgensen, P. Tougaard, S. Skov // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – № 1.: e85793. – Published: January 8, 2014. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0085793>.

357. TNF-alpha enhances engraftment of mesenchymal stem cells into infarcted myocardium / Y.S. Kim, H.J. Park, M.H. Hong [et al.] // *Front. Biosci.* – 2009. – Vol. 14. – № 1. – P. 2845–2856.

358. TNFa modulates protein degradation pathways in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts / A.M. Connor, N. Mahomed, R. Gandhi [et al.] // *Arthritis Research and Therapy*. – 2012. – Vol.14. – № 2. – P. 1–19. doi: 10.1186/ar3778.

359. Todd N.W. Molecular and cellular mechanisms of pulmonary fibrosis / N.W. Todd, I.G. Luzina, S.P. Atamas // *Fibrogenesis and Tissue Repair*. – 2012. – Vol. 5. – № 11. – P. 1–24.

360. TRAIL-expressing T cells induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in the atherosclerotic plaque / K. Sato, A. Niessner, S.L. Kopecky [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol. – 203. – № 1. – P. 239–250.

361. Transforming growth factor beta signaling in adult cardiovascular diseases and repair / T. Doetschman, J.V. Barnett, R.B. Runyan [et al.] // *Cell and Tissue Research*. – 2012. – Vol. 347. – № 1. – P. 203–223. doi: 10.1007/s00441-011-1241-3.

362. Trouvin A.P. Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss / A.P. Trouvin, V. Goeb // *Clin. Intervent. Aging.* – 2010. – Vol. 5. – № 4. – P. 345–354.

363. Tsutsui H. Interleukin-1 Family Cytokines in Liver Diseases [Electronic resource] / H. Tsutsui, X. Cai, S. Hayashi // *Mediators of Inflammation.* – 2015. – Vol.2015. – Article ID 630265. – 19 pages. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/630265>.

364. Tugal Derin. Transcriptional Control of Macrophage Polarization / Derin Tugal, Xudong Liao, Mukesh K. Jain // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* – 2013. – Vol. 33. – № 6. – P. 1135–1144.

365. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and the cytokine network in psoriasis / A.M. Brotas, J.M.T. Cunha, E.H.J. Lago [et al.] // *An. Bras. Dermatol.* – 2012. – Vol. 87. – № 5. – P. 673–683. doi: /10.1590/S0365–05962012000500001.

366. Umland E.M. An update on osteoporosis epidemiology and bone physiology / E.M. Umland // *Univer. Tennessee Adv. Stud. Pharmacy.* – 2008. – Vol. 5. – № 7. – P. 210–214.

367. Unexpected impairment of TNF- $\alpha$ -induced maturation of human dendritic cells in vitro by IL-4 / V. Chabot, L. Martin, D. Meley [et al.] // *Journal of Translational Medicine.* – 2016. – Vol. 14. – №1. – P. 93 – 106. doi: 10.1186/s12967–016–0848.

368. Unique Versus Redundant Functions of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the Tumor Microenvironment / E. Voronov, S. Dotan, Y. Krelin [et al.] // *Front Immunol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 177. doi:10.3389/fimmu.2013.00177.

369. Up-regulation of the anti-inflammatory adipokine adiponectin in acute liver failure in mice / A.M. Wolf, D. Wolf , M.A. Avila [et al.] // *J. Hepatol.* – 2006. – Vol. 44. – № 3. – P. 537–543.

370. Urinary interleukin-6 is useful in distinguishing between upper and lower urinary tract infections / L.M. Rodríguez, B. Robles, J.M. Marugán [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* – 2008. – Vol. 23. – № 3. – P. 429–433.

371. Valenick L.V. Fibronectin fragmentation promotes alpha4beta1 integrin-mediated contraction of a fibrin-fibronectin provisional matrix / L.V. Valenick, H.C. Hsia, J.E. Schwarzbauer // *Exp. Cell. Res.* – 2005. – Vol. 309. – № 1. – P. 48–55.

372. Van Linthout S. Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells / S. Van Linthout, K. Miteva, C. Tschöpe // *Cardiovascular Research.* – 2014. – Vol. 102. – № 2. – P. 258–269. doi: 10.1093/cvr/cvu062.

373. Varga J. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder / J. Varga, D. Abraham // *J. Clin Invest.* – 2007. – Vol. 117. – № 3. – P. 557–567.

374. Vega D. CLINICAL Review: The role of receptor activator of nuclear factor kB (RANK) RANK-ligand/osteoprotegerin: clinical implications / D. Vega, N.M. Maalouf, K. Sakhaee // *J. Clin. Endocrinol Metab.* – 2007. – Vol. 92. – № 12. – P. 4514–4521.

375. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties / A.R. Moschen, A. Kaser, B. Enrich [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178. – № 3. – P. 1748–1758.

376. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin / A. Fukuhara, M. Matsuda, M. Nishizawa [et al.] // *Science.* – 2005. – Vol. 307 (5708). – P. 426–430.

377. Vitamin D status, parathyroid function, bone turnover, and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: global perspective / N.O. Kuchuk, N.M. van Schoor, S. Pluijm [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2009. – Vol. 24. – № 4. – P. 693–701. doi: 10.1359/jbmr.081209.

378. Vitamin D with calcium reduces mortality: patient level pooled analysis of 70,528 patients from eight major vitamin D trials / L. Rejnmark, A. Avenel, T. Masud [et al.] // *J. Clin. Endocrin. Metab.* – 2012. Vol. 97. – № 8. – P. 2670–2681.

379. Walsh M.C. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond [Electronic resource] / M.C. Walsh, Y. Choi // *Front. Immunol.*

– 2014. – Vol. 5. – Article 511. – Access mode:  
<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00511>.

380. Wang J.Y. Glucosaminoglycans are potential cause of rheumatoid arthritis / J.Y. Wang, M.H. Roehrl // *Proc. National. Academy Science USA*. – 2002. – Vol. 99. – №.22. – P.14362–14367.

381. Ware C.F. The TNF superfamily / C.F. Ware // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2008. – Vol. 19. – № 3–4. – P. 183–186. doi:  
[10.1016/j.cytogfr.2008.05.001](https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.05.001).

382. Weitzmann M. N. The role of T lymphocytes in bone metabolism / M.N. Weitzmann, R. Pacifici // *Immunological Reviews*. – 2005. – Vol. 208. – Issue 1. – P. 154–168.

383. Wojdasiewicz P. The Role of Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Osteoarthritis [Electronic resource] / P. Wojdasiewicz, L.A. Poniatowski, D. Szukiewicz // *Mediators of Inflammation*. – 2014. – Vol. 2014. – Article ID 561459 – 19 p. – Access mode:  
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/561459>.

384. Wolf J. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system / J. Wolf, S. Rose-John, C. Garbers // *Cytokine*. – 2014. – Vol.70. – № 1. – P. 11–20.

385. Wong T. The role of fibroblasts in tissue engineering and regeneration / T. Wong, J.A. McGrath, H. Navsaria // *J. Dermatol.* – 2007. – Vol. 156. – № 6. – P. 1149 – 1155.

386. Wynn T.A. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies / T.A. Wynn // *Nature Reviews Immunology*. – 2015. – Vol. 15. – № 5. – P. 271–282. doi:  
[10.1038/nri3831](https://doi.org/10.1038/nri3831).

387. Wynn T.A. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases / T.A. Wynn // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – № 3. – P. 524–529. doi: [10.1172/JCI31487](https://doi.org/10.1172/JCI31487)

388. Xu Z. Interferon- $\gamma$  Targets Cancer Cells And Osteoclasts To Prevent Tumor-Associated Bone Loss And Bone Metastases / Z. Xu, M.A. Hurchla,

H. Deng // *The Journal Of Biological Chemistry*. – 2009. – Vol. 284. – № 7. – P. 4658–4666.

389. Yamada H. Current perspectives on the role of IL-17 in autoimmune disease / H. Yamada // *J. Inflamm. Res.* – 2010. – № 3. – P.33–44.

390. Yamauchi M. Lysine post-translational modifications of collagen / M. Yamauchi, M. Sricholpech // *Essays Biochem.* – 2012. – Vol. 52. – № 1. – P.113–133. doi: 10.1042/bse0520113.

391. Ye J. Regulation of PPARgamma function by TNF-alfa / J. Ye // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol. 374. – № 3. – P. 405–408.

392. Zagoroulko A. Digest on pathomorphology / A. Zagoroulko, T. Filonenko. – Simferopol, 2007. – 520 p.

393. Zahraa M.M. Isolation of Latent Matrix Metallo Proteinase-1 (Latent Collagenase-1) from Serum and Synovial Fluid of Rheumatoid Arthritis Patient / M.M. Zahraa, L.A. Hamoudatt // *Raf. J. Sci.* – 2013. – Vol. 24. – № 6 . – P.23–36.

394. Zaitseva O.V. Biochemical markers of bone collagen type I metabolism / O.V. Zaitseva, S G. Shandrenko, M.M. Veliky // *Ukr. Biochem. J.* – 2015. – Vol. 87. – №1. – P. 21–32.

395. Zebrafish tissue injury causes upregulation of interleukin-1 and caspase-dependent amplification of the inflammatory response / N.V. Ogryzko, E.E. Hoggett, S.Solaymani-Kohal [et al.] // *Disease Models and Mechanisms*. – 2014. – Vol.7. – P.259 – 264. doi:10.1242/dmm.013029.

396. Zhao R. Immune regulation of osteoclast function in postmenopausal osteoporosis: a critical interdisciplinary perspective / R. Zhao // *Int. J. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 9. – № 9. – P. 825–832.

397. Zhou Z. Hepatocytes: a key cell type for innate immunity / Z. Zhou, M.J. Xu, B. Gao // *Cellular and Molecular Immunology*. – 2016. – Vol.13. – № 3. – P. 301–315. doi:10.1038/cmi.2015.97.

398. Zhu S. IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: mechanisms and therapeutic potential / S. Zhu, Y. Qian // *Clin. Sci (Lond)*. – 2012. – Vol. 122. – № 11. – P. 487–511.



399. Авдеев С.Н. Идиопатический легочный фиброз / С.Н. Авдеев // Пульмонология. – 2015. – № 5. – С. – 600–612.
400. А.с. №960626 СССР М.Кл. G 01 N 33/48 Способ определения гликозаминогликансульфатов в сыворотке крови / М.Р. Штерн, О.П. Тимошенко, Ф.С. Леонтьева, Г.Ф. Ключева. – Заявлено 23.10.80; Опубл. 23.09.82 // Открытия. Изобретения. – 1982. – № 35. – С.163.
401. Актуальность проблемы хронической болезни почек в практике врача-терапевта / Е.Л. Скокова, Н.И. Заборских, Е.А. Цыпленкова, Е.Н. Чичерина // Вятский медицинский вестник. – 2011. – № 1. – С. 12–17.
402. Принципы оценки специфической активности биотехнологических лекарственных препаратов / Н.А. Алпатова, Ж.И. Авдеева, А.А. Солдатов [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2015. – № 3. – С. 10–18.
403. Андруша А.Б. Остеопороз: распространенность, пути формирования, современные методы диагностики / А.Б. Андруша // Врачебная практика. – 2005. – № 4. – С. 58–62.
404. Динамика уровня противовоспалительных цитокинов и их роль в развитии полимодальных локальных эффектов при прогрессировании рака яичников / И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2013. – Т. 12. – № 4. – С. 43–49.
405. Арсентьев В.Г. Дисплазия соединительной ткани как конституциональная основа полиорганных нарушений у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 «педиатрия» / В.Г. Арсентьев. – СПб., 2012. – 46 с.
406. Архипов Е.В. Современные рекомендации по диагностике и лечению пиелонефрита с позиции доказательной медицины / Е.В. Архипов, О.Н. Сигитова, А.Р. Богданова // Вестник современной клинической медицины. – 2015. – Т. 8. – вып. 6. – С.115–120
407. Ассоциация полиморфного варианта (CA)<sub>n</sub> гена кальцитонина (CALCA) с риском развития постменопаузального остеопороза и уровнем

кальцитонина в сыворотке крови у русских женщин Волго-Уральского региона России / Л.И. Селезнева, Р.И. Хусаинова, Р.З. Нурлыгаянов [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2009. – № 1. – С. 2–6.

408. Бабак О.Я. Фиброз печени: современные представления о механизмах, способах диагностики и лечения / О.Я. Бабак, Е.В. Колесникова, Н.А. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. – Т. 46. – № 2. – 2009. – С. 5–17.

409. Баринов Э.Ф. Гастроинтестинальные миофибробласты – роль в регуляции физиологической активности и репарации желудочно-кишечного тракта / Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулаева // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Т.20. – №3. – С. 9–18.

410. Беловол А.Н. Состояние соединительной ткани у больных псориазом и при сопутствующей гипертонической болезни / А.Н. Беловол // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2012. – № 2. – С. 49–52.

411. Беляева Е.В. Синдром системной дисплазии соединительной ткани у детей с бронхолегочной патологией / Е.В. Беляева, О.И. Вишневская // Вестник РГМУ. – 2005. – № 3 (42) – С. 121.

412. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н.М. Бережная // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6. – №2. – С. 26–35.

413. Брылякова С.Н. Показатели метаболизма костной ткани и системы гемостаза у пациентов пожилого возраста, страдающих инволютивным остеопорозом в сочетании с ишемической болезнью сердца: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.05 «внутренние болезни» / С.Н. Брылякова. – Самара, 2005. – 23 с.

414. Велигоцкий Н.Н. Обструктивные заболевания органов панкреатодуоденальной зоны / Н.Н. Велигоцкий, А.Н. Велигоцкий. – Харьков: Планета-Принт, 2015. – 136 с.

415. Василевский С.С. Интегративные функции фасций и соединительной ткани / С.С. Василевский, А.П. Сиваков // Медицинские новости. – 2010. – № 4. – С. 13–15.

416. Верещагина Г.Н., Махмудян Д.А. Почки при системной дисплазии соединительной ткани / Г.Н. Верещагина, Д.А. Махмудян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – № 2. – 2008. – С. 87–89.

417. Влияние ТЭС-терапии на динамику интерлейкина 4, 6, 10 у больных с острым пиелонефритом / В.С. Тиликин, А.Х. Каде, В.П. Лебедев [и др.]. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4–1. – С. 129–132.

418. Возианов А.Ф. Всемирный день почки в Украине // А.Ф. Возианов, Л.А. Пыриг, А.И. Дядык // Здоров'я України. – 2008. – № 6. – С. 50–51.

419. Возможность обратимости цирроза печени (клинические и патогенетические предпосылки) / Ч.С. Павлов, В.Б. Золоторевский, М.С. Томкевич [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2006. – Т. 16. – № 1. – С. 20–29.

420. Волгина Г.В. Вторичный гиперпаратиреоз при хронической почечной недостаточности. Лечение активными метаболитами витамина D / Г.В. Волгина // Нефрология и диализ. – 2004. – Т. 6. – № 2. – С. 116–126.

421. Волнухин В.А. О роли профибозных цитокинов в патогенезе локализованной склеродермии / В.А. Волнухин, О.Р. Катунина, Н.Л. Мурадян // Вестн. дерматол. и венерол. – 2012. – № 1. – С. 28–33.

422. Восканян С.Э. Морфофункциональная организация поджелудочной железы и клинико-экспериментальные аспекты острого послеоперационного панкреатита: дис. ... докт. мед. наук: 14.01.17 «хирургия», 03.03.01 «физиология» / Восканян Сергей Эдуардович. – Москва, 2013. – 433 с.: ил.

423. Гасанов А.Г. Роль изменений внеклеточного матрикса при возникновении сердечно-сосудистых заболеваний / А.Г. Гасанов, Т.В. Бершова // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55. – вып.2. – С. 155–168.

424. Глотов А.В. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз при дисплазии соединительной ткани и заболеваниях, ассоциированных с ней / А.В. Глотов, О.Л. Миниевич // Омский научный вестник. – 2005. – №1(30). – С. 107 – 110.

425. Гнусаев С.Ф. Клиническое значение малых аномалий сердца у детей / С.Ф. Гнусаев, Ю.М. Белозеров, А.Ф. Виноградов // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 4. – С. 20–25.

426. Состояние внеклеточного матрикса кожи экспериментальных животных при удлинении голени по Илизарову / Е.Н. Горбач, Е.Л. Матвеева, С.А. Романенко [и др.] // Гений ортопедии. – 2011. – № 3. – С.137–141.

427. Громова О.А. Дисплазия соединительной ткани, клеточная биология и молекулярные механизмы воздействия магния / О.А. Громова, И.Ю. Торшин // Русский медицинский журнал. – 2008. – Т. 16. – № 1. – С. 1–10.

428. Грубник В.В. Лапароскопические вмешательства на желчных протоках у больных с механической желтухой неопухолевого генеза / В.В. Грубник, А.И. Ткаченко, А.Л. Ковальчук // Харківська хірургічна школа. – 2009. – № 2.1 (33). – С. 93 – 95.

429. Данилов Н.А. Состояние коллагена в тканях глаза и его целенаправленная модификация: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.04, 01.02.08 / Данилов Никита Александрович. – М., 2011. – 158 с.

430. До питання про поширеність дисплазій сполучної тканини у дітей / Л.І. Омельченко, О.А. Ошлянська, Г.В. Скибан, В.Б. Ніколаєнко // Перинатология и педиатрия. – 2007. – № 3. – С. 80–83.

431. Системная красная волчанка: некоторые вопросы этиологии и патофизиологии / А.И. Дядык, А.Э. Багрий, И.В. Ракитская, Е.В. Щукина // Укр. ревматол. журн. – 2009. – № 2 (36). – С. 61–66.

432. Дядык А.И. Ведение больных с заболеваниями почек и артериальной гипертензией / А.И. Дядык, А.Э. Багрий // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 216. – С.22–24.

433. Еркович А.А. Лечение болезни Пейрони с учетом патогенетических механизмов развития и стадий заболевания / А.А. Еркович, С.М. Калыбаев, Е.В. Герасимова // Вопросы патогенеза типовых патологических процессов: Материалы 4-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Новосибирск, 2012. – С. 76–78.

434. Ершова О.Б. Результаты анализа факторов риска и абсолютного риска переломов (FRAX) у мужчин с переломами проксимального отдела бедра / О.Б. Ершова, О.С. Сеницына, К.Ю. Белова // Остеопороз и остеопатии. – 2013. – № 1. – С. 3–6.

435. Закирова А.Н. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии гипертрофии левого желудочка у пациенток с артериальной гипертензией и метаболическим синдромом / А.Н. Закирова, Е.З. Фаткуллина, Н.Э. Закирова // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2014. – Т.10. – № 1. – С 37–42.

436. Жидовинов А.А. Значение лабораторных маркеров эндотоксикоза и цитокинового профиля в диагностике и эффективности лечения осложненных форм острого холецистита / А.А. Жидовинов, В.А. Зурнаджянц, Г.И. Жидовинов // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5. – № 3. – С. 27–33.

437. Жилиев Е.В. Клиническое значение и нарушение кальциевого обмена / Е.В. Жилиев, А.В. Глазунов, П.А. Глазунов // Клиническая медицина. – 2011. – № 4. – С. 13–17.

438. Земцовский Э.В. Диспластические синдромы и фенотипы. Диспластическое сердце / Э.В. Земцовский. – СПб.: «Ольга», 2007. – 80 с.

439. Значение фактора некроза опухолей в патогенезе и лечении саркоидоза / А.А. Визель, М.Э. Гурылева, Е.А. Визель, Г.Р. Насретдинова // Клин. медицина. – 2003. – Т. 81. – № 9. – С.4–8.

440. Ивашкин А.Н. Восстановление эпителиальных тканей с использованием криоконсервированных жизнеспособных

дермотрансплантантов и живого эквивалента кожи: дис. ... докт. мед. наук: 14.00.27 «хирургия» / Ивашкин Александр Николаевич. – М., 2009. – 253 с.

441. Иммунохимические и молекулярно–генетические маркеры в диагностике рака желудка / Е.В. Елистратова, П.П. Лактионов, П.И. Шелестюк [и др.] // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55. – вып. 1. – С. 15–31.

442. Интерстициальный фиброз как определяющий фактор типа ремоделирования миокарда левого желудочка у больных артериальной гипертонией пожилого возраста / Н.К. Горшунова, Н.В. Медведев, В.В. Савич, О.Л. Усенкова // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2015. – № 3. – С. – 11–15.

443. Информативность показателей цитокинового профиля сыворотки крови и слюнной жидкости у больных хроническими болезнями почек / М.Е. Малышев, О.А. Бельских, А.А. Сорокина, О.И. Зубор // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2016. – № 1. – С. 44–49.

444. Кадурина Т.И. Дисплазия соединительной ткани: руководство для врачей / Т.И. Кадурина, В.Н. Горбунова. – СПб.: Элби-СПб, 2009. – 704 с.

445. Калдыбекова А.А. Недифференцированный синдром соединительнотканной дисплазии в нефрологической практике / А.А. Калдыбекова // Уральский медицинский журнал. – 2006. – № 8. – С. 5–8.

446. Калмыкова А.С. Состояние центральной гемодинамики у детей и подростков с синдромом дисплазии соединительной ткани сердца / А.С. Калмыкова, Н.П. Пацева // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2008. – № 2. – С. 55–57.

447. Калмыкова А.С. Синдром дисплазии соединительной ткани у детей / А.С. Калмыкова, Н.В. Ткачева, Н.А. Федько. – Ставрополь: СтГМА, 2009. – 318 с.

448. Карпачев А.А. Оперативная эндоскопия в лечении заболеваний органов панкреатодуоденальной зоны: дис. ... докт. мед. наук: 14.01.17 «хирургия» / Карпачев Александр Александрович. – Курск, 2014.– 260 с.: ил.

449. Ким Л.Б. Соединительная ткань и заболевания человека / Л.Б. Ким // Вестник Новосибирского Государственного Университета. – Серия: Биология, клиническая медицина. – 2010. – Т. 8. – вып. 1. – С. 162–170.

450. Клинико-иммунологическое исследование эффективности применения Y-D-Glu-L-Trp у пациентов с хроническим пиелонефритом / А.В. Сереженков, А.С. Симбирцев, А.И. Горелов [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 77–83.

451. Клиническое значение показателей обмена соединительной ткани у детей с пиелонефритом / А.И. Сафина, С.В. Мальцев, Н.Р. Захарова, П.Н. Шараев // Рос. педиатр, журн. – 2005. – № 1. – С. 44–47.

452. Кляритская И.Л. Сывороточные цитокины как маркеры фиброза печени и предикторы эффективности противовирусной терапии при хроническом гепатите С / И.Л. Кляритская, Е.И. Стилиди // Крымский терапевтический журнал. – №1. – 2013. – С. 95–99.

453. Козлов В.К. Цитокиноterapia: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиническая эффективность / В.К. Козлов. – Санкт-Петербург: Альтер Эго, 2010. – 148 с.

454. Коломейцева И.А. Изменение структуры сна при разных сроках стрессирования / И.А. Коломейцева // Экспериментальные неврозы их фармакологическая терапия. М.: Наука, 1988. – С. 53–60.

455. Кондаков І.І. Вплив гліцеролу на функціонально–морфологічні показники нирок при моделюванні гострої та хронічної ниркової недостатності у щурів / І.І. Кондаков, І.І. Топчій, О.М. Кірієнко // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – № 3(39). – С. 14–20.

456. Корепанов А.М. Особенности метаболизма коллагена при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / А.М. Корепанов,

А.Е. Шкляев, П.Н. Шараев // Клин. лаб. диагностика. – 2005. – № 5. – С. 14–16.

457. Кудинова Е.Г. Маркеры тромбофилий и вероятность акушерских осложнений у пациенток с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани / Е.Г. Кудинова // Русский медицинский журнал. – 2012. – Т. 2. – №17. – С. 883–886.

458. Кудряшова И.П. Динамика показателей цитокинового профиля при хроническом пиелонефрите / И.П. Кудряшова, Т.П. Оспельникова, Ф.И. Ершов // Клиническая нефрология. – 2012. – № 4. – С. 39–41.

459. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография / Б.И. Кузник; Читинская медицинская академия (Чита). – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 832 с.: цв.ил.

460. Кулаичев А.П. Компьютерная электрофизиология и функциональная диагностика / А.П. Кулаичев. – М.: ФЛРУМ:ИНФРА, 2007. – 640 с.

461. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая [и др.]; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.: ил.

462. Ли Вей. Роль нарушений метаболизма основных компонентов матрикса соединительной ткани в патогенезе преэклампсии / Вей Ли, О.В. Грищенко, А.В. Сторчак // Сучасні медичні технології. – 2010. – № 4. – С. 5–10.

463. Ли О.А. Концентрация в моче матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов как показатель, характеризующий течение хронического гломерулонефрита / О.А. Ли, И.Н. Бобкова, Л.В. Козловская // Клиническая нефрология. – 2009. – №1. – С. 50–54.

464. Ляшенко А.А. К вопросу о систематизации цитокинов / А.А. Ляшенко, В.Ю. Уваров // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121. – № 6. – С. 599–603.



465. Майданник В.Г. Стан вегетативного гомеостазу у дітей з порушеннями ритму серця за даними холтерівського моніторингу ЕКГ / В.Г. Майданник, О.В. Кулешов // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2008. – № 3. – С. 18–22.

466. Майчук Е.Ю. Сопоставление маркеров атеросклероза с развитием остеопороза у женщин с хирургической менопаузой / Е.Ю. Майчук, С.В. Юренева, Т.В. Митрохина // Проблемы женского здоровья. – 2010. – № 3(5). – С. 18–22.

467. Макаров С.И. Эффективность методов стабилизации прогрессирующей близорукости: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.08 «глазные болезни» / Макаров Сергей Иванович. – М., 2007. – 96 с.

468. Мамбетова А.М. Выраженность недифференцированных форм дисплазии соединительной ткани у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и рефлюкс-нефропатией / А.М. Мамбетова, Р.А. Жетишев, Н.Н. Шабалова // Вопросы практической педиатрии. – 2011. – Т. 6. – № 3. – С. 64–68.

469. Мамбетова А.М. Фактор некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкин- $1\beta$  у детей с врожденными пороками органов мочевой системы на фоне разных степеней тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани / А.М. Мамбетова, Р.А. Жетишев, Н.Н. Шабалова // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т.10. – № 3. – С. 61–67.

470. Мартинюк Л.П. Показники кальцієво–фосфорного обміну у хворих із хронічними хворобами нирок, які перебувають на програмному гемодіалізі / Л.П. Мартинюк, О.О. Ружицька // Український журнал нефрології та діалізу. – 2011. – № 3 (31). – С. 11–16.

471. Матвеева Е.Л. Биохимические изменения в тканях коленного сустава собак в условиях изменения функциональной нагрузки / Е.Л. Матвеева // Актуальные вопросы ветеринарной хирургии: материалы науч.-практ. конф. – Курган, 2006. – С. 39–40.

472. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов; 5-е изд., испр. и доп. – Л.: Медгиз, 1969. – 423 с. – ил.

473. Метиларгинины у крыс в глицериновой модели острой почечной недостаточности / М.А. Гишинский, Р.И. Айзман, Г.А. Корощенко [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30. – № 4. – С. 82–86.

474. Метод анализа белков внеклеточного матрикса, синтезируемого клетками в культуре / М.И. Блинова, Г.П. Пинаев, Л.В. Туроверова [и др.] // Цитология. – 2009. – № 8. – С. 691–696.

475. Миграция фибробластов кожи человека и синтез ими белков внеклеточного матрикса в трехмерных конструкциях / Н.М. Юдинцева, Е.М. Канов, Л.В. Смагина [и др.] // Всероссийская конференция «Биология клетки в культуре». Цитология. – 2006. – Вып. 48. – № 9. – С. 816.

476. Миронов А.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине / А.А. Миронов, Я.Ю. Комиссарчик, В.А. Миронов / [Отв. ред. Н.Н. Никольский]. – Рос. АН, Ин-т цитологии. – СПб.: Наука, 1994. – 399 с.: ил.

477. Москалев А.В. Обмен цитокинов и свободного оксипролина в сыворотке крови у больных эрозивно–язвенными заболеваниями гастродуоденальной области с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / А.В. Москалев, А.С. Рудой // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2006. – Т. 2. – № 16. – С. 64–68.

478. Муджикова О.М. Соединительная ткань, соматотип и щитовидная железа / О.М. Муджикова, Ю.И. Строев, Л.П. Чурилов // Вестник Санкт-Петербургского Университета. – 2009. – Сер. 11. – № 2. – С. 35–47.

479. Насонов Е.Л. Интерлейкин 17 – новая мишень для антицитокиновой терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний / Е.Л. Насонов, Л.Н. Денисов, М.Л. Станислав // Научно-практическая ревматология. – 2013. – № 5. – С. 545–552.

480. Нефрология: национальное руководство / [Под ред. Н.А. Мухина]. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. – С. 616–628.

481. Нечаева Г.И. Дисплазия соединительной ткани: распространенность, фенотипические признаки, ассоциация с другими заболеваниями / Г.И. Нечаева, И.В. Викторова, И.В. Друк // Врач. – 2006. – № 1. – С. 19–23.

482. Ничитайло М.Е. Профиль послеоперационной безопасности методов билиарной декомпрессии для больных с осложненной неопухоловой обтурационной желтухой / М.Е. Ничитайло, А.И. Годлевский, С.И. Саволук // Материалы конгресса «Актуальные проблемы хирургической патологии», Донецк. – 2013. – С.125–126.

483. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике. – К.: НАНУ, 2001. – 16 с.

484. Омеляненко Н.П. Соединительная ткань: (гистофизиология и биохимия): [монография] / Н.П. Омеляненко, Л.И. Слуцкий / [Под ред. С.П. Миронова]. – Москва: Известия, 2009. – Т. 1. – 380 с.

485. Особенности обмена биополимеров соединительной ткани в печени крыс с аллоксановым диабетом / С.В. Ломаева, И.Ф. Гетте, Т.С. Булавинцева [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12. – № 6. – с. 38–42.

486. Особенности цитокинового профиля крови и функционального состояния костной ткани у больных остеоартрозом с поражением крупных суставов / Е.В. Карякина, Е.В. Гладкова, Е.А. Персова, Д.М. Пучиньян // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 92–96.

487. Оценка травматичности симультанных лапароскопических вмешательств / О.Э. Луцевич, С.А. Гордеев, Д.А. Запорожцев [и др.] // Эндоскопическая хирургия. – 2005. – № 2. – С. 25–29.

488. Оценка цитокинового профиля у больных с острым калькулезным холециститом / Дж.Н. Гаджиев, А.Г. Гусейналиев, Э.Г. Тагиев [и др.] // Вестник СПбГУ. – 2012. – Т.11. – № 3. – С. 102–108.

489. Оценка частоты и факторов риска низкоэнергетических переломов скелета по данным опроса больных хроническими

воспалительными заболеваниями / И.А. Баранова, О.Б. Ершова, Э.Х. Анаев [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2014. – № 3. – С. 9–14.

490. Павлов С.Б. Влияние особенностей надмолекулярной организации коллагеновых фибрилл межпозвонковых дисков на их чувствительность к протеолитическим ферментам / С.Б. Павлов, Н.М. Бабенко // Сб.: "Новое в медицине: теория, практика": Тезисы докл. науч. конф. – Харьков, 1994. – С. 52.

491. Павлов С.Б. Морфофункциональные изменения соединительной ткани у крыс с экспериментальной патологией панкреатодуоденальной области / С.Б. Павлов, А.В. Гончарова // Проблеми безперервної медичної освіти та науки. – 2011. – № 2. – С.62–65.

492. Павлов Ч.С. Как оценить и уменьшить риск фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с хронической инфекцией вирусами гепатитов В и С / Ч.С. Павлов, В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2007. – Т. 17. – № 5. – С. 16–23.

493. Павлов Ч.С. Место биопсии и морфологического исследования ткани печени у детей и взрослых в практике клинициста / Ч.С. Павлов, М.М. Котович // Клин. мед. – 2007. – Т. 85. – № 9. – С. 72–77.

494. Пат. 2384891 Российская Федерация, МПК С2, G09B23/28 (2006.01). Способ стимуляции костной резорбции у лабораторных животных / В.Г. Подковкин, Д.Г. Иванов; заявитель и патентообладатель В.Г. Подковкин. – № 2008118969/14; заявл. 13.05.2008; опубл. 20.11.2009. – Бюл. № 8.

495. Пауль Г.А. Количественная и качественная характеристика сульфатированных гликозаминогликанов мочи при мукополисахаридозах и сахарном диабете: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 «биохимия», 14.00.16 «патологическая физиология» / Пауль Галина Александровна. – Новосибирск, 2007. – 97 с.

496. Паунова С.С. Патогенетические основы нефросклероза / С.С. Паунова // Нефрология и диализ. – 2005. – Т 7. – № 2. – С. 130–135.

497. Перминова О.В. Влияние синтетических гликозаминогликанов на обмен углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани при длительном стрессе у крыс: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04, «биохимия» / Перминова Ольга Валерьевна. – Уфа, 2007. – 25 с.

498. Петухов В.А. Эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса: по материалам симпозиума / В.А. Петухов // Хирургия / приложение consilium medicum. – 2008. – № 1. – С. 3–11.

499. Поворознюк В.В. Остеопороз: интегральный взгляд на проблему / В.В. Поворознюк, Л.А. Марченкова // Здоров'я України. – 2008. – № 1 (10). – С. 45–46.

500. Поворознюк В.В. Ренальна остеодистрофія / В.В. Поворознюк, Л.П. Мартинюк // Здоров'я України. – 2008. – № 18. – С. 24–26.

501. Подковкин В.Г. Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции / В.Г. Подковкин, Д.Г. Иванов, Г.А. Иванов // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 7. – С.13–16.

502. Поливанова Т.В. Морфо-функциональные параметры коллагена в норме и при патологии / Т.В. Поливанова, В.Т. Манчук // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 2. – С. 25–30.

503. Полиорганные нарушения при дисплазиях соединительной ткани у детей и подростков / В.Г. Арсентьев, Т.И. Арзуманова, М.В. Асеев [и др.] // Педиатрия. – 2009. – Т. 87. – № 1. – С. 135–138.

504. Применение дискриминантной счетной шкалы для оценки фиброобразования в печени у больных с хроническими гепатитами / О.Н. Минушкин, С.И. Леонтьев, Л.В. Масловский [и др.] // Гепатология. – 2005. – № 1. – С. 16–24.

505. Прогнозирование тяжести течения глюкокортикоидного остеопороза (экспериментальное исследование) / А.В. Буфистова, С.Е. Золотухин, В.П. Коробов [и др.] // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2006. – Т. 1. – № 2. – Додаток А. – С. 64–74.

506. Прогностическое значение определения Ил-6 в сыворотке крови и цитохрома P450 в ткани печени у больных хроническим гепатитом С / Ю.В. Коротчаева, Л.М. Самоходская, А.И. Сперанский [и др.] // Клин. персп. гастр., гепатол. – 2008. – Т 18. – №2. – С. 42–47.

507. Развитие атеросклероза и остеопороза у женщин / Е.Ю. Майчук, С.В. Юренева, Т.В. Митрохина [и др.] // Проблемы женского здоровья. – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 51–55.

508. Ранозаживляющее и местное иммуностимулирующее действие рекомбинантного интерлейкина-1 бета человека при применении у больных с длительно незаживающими ранами и трофическими язвами / Е.А. Варюшина, В.В. Москаленко, А.С. Симбирцев [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6. – № 2. – С. 54–62.

509. Роль трансформирующего  $\beta$ -фактора роста в патогенезе пролапса митрального клапана / Э.Г. Малев, Э.В. Земцовский, М.Ю. Омельченко, Л.В. Васина // Кардиология. – 2012. – № 12. – С. 34–39.

510. Ромаданова О.І. Ефективність корекції клітинних механізмів прогресування хронічної хвороби нирок при гіпертонічній хворобі / О.І. Ромаданова // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – Вип.1. – С. 179–182.

511. Рудой А.С. Особенности иммунопатогенеза язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у лиц с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / А.С. Рудой, А.В. Москалев // Новости «Вектор-Бест». – 2009. – № 3. – С. 8 – 12.

512. Румянцева В.А. Клиническое и генетическое разнообразие наследственных дисплазий соединительной ткани / В.А. Румянцева, Е.А. Заклязыминская // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журн. им. акад. Б.В. Петровского. – 2015. – № 2. – С. 5–17.

513. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника [Руководство для врачей и лаборантов] / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перов. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.

514. Свищенко Е.П. Артериальная гипертензия и патология почек / Е.П. Свищенко // Медицинская газета. – 2006. – № 13–14. – С. 12–15.
515. Серов В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б.Шехтер. – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
516. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 9–16.
517. Скрипникова И.А. Инновационные методы лечения остеопороза: ингибиторы RANKL / И.А. Скрипникова, О.И. Косматова, Р.Г. Оганов // Профилактическая медицина. – 2011. – № 2. – С. 23–30.
518. Смагулов Н.К. Роль факторов окружающей среды в формировании уровня здоровья населения / Н.К. Смагулов, Г.Н. Ажиметова // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 11. – С. 57–60.
519. Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты) / Т.В. Сологуб, Н.Г. Романцов, Н.В. Кремень [и др.]. – М.: Академия естествознания, 2008. – 95 с.
520. Сочетанные оперативные вмешательства у больных с холедохолитиазом, стенозом БСДК при наличии нарушений дуоденальной проходимости / Н.Н. Велигоцкий, С.Э. Арутюнов, А.Н. Велигоцкий [и др.] // Харківська хірургічна школа. – 2009. – № 2.1 (33). – С. 82 – 85.
521. Сравнительная информативность денситометрии периферического и осевого скелета в диагностике остеопенического синдрома у больных с хронической почечной недостаточностью / О.Н. Ветчинникова, В.А. Губкина, Н.М. Мылов, М.П. Рубин // Остеопороз и остеопатии. – 2005. – № 11. – С. 7–11.
522. Стволовые клетки и микроокружение: интеграция биохимических и механических факторов / Д.С. Костюшев, В.Н. Самирский, С. Сонг [и др.] // Успехи современной биологии. – 2014. – Т. 134. – № 1. – С. 3–18.

523. Сторожаков Г.И. Патогенетические аспекты фиброгенеза при хронических заболеваниях печени / Г.И. Сторожаков, А.Н. Ивкова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – № 2. – С. 3–10.

524. Стуров В.Г. Наследственные коллагенопатии в ракурсе гемостазиологических дисфункций с синдромокомплексом системной мезенхимальной дисплазии // В.Г. Стуров, А.В. Чупрова, О.В. Лисиченко / Российский сборник научных трудов с международным участием «Педиатрические аспекты дисплазии соединительной ткани. Достижения и перспективы». – М., СПб, Тверь, 2011. – С. 330–341.

525. Теряева Н.Б. Адипокины: регуляция энергетического метаболизма и патогенез сердечно-сосудистых заболеваний / Н.Б. Теряева // Креативная кардиология. – 2007. – № 1–2. – С. 20–25.

526. Трощановский К.В. Повторные операции при гидронефрозе / К.В. Трощановский, Т.В. Шатылко // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2013. – Т. 3. – № 3. – С. 785.

527. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. – М.: Мир, 1975. – 324 с.

528. Улитко М.В. Роль моноцитов-макрофагов в адаптивных реакциях кроветворной ткани при действии на организм экстремальных факторов: дис. ... канд. биол. наук.: 03.00.13 «физиология» / Улитко Мария Валерьевна. – Екатеринбург, 2008. – 183 с.

529. Урологія / С.П. Пасечніков, С.О. Возіанов, В.М. Лісовий [та ін.]; [за ред. С.П. Пасечнікова]. – Вінниця: Нова книга, 2013. – 432 с.

530. Утц И.А. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани у детей / И.А. Утц, Е.Н. Городкова // Педиатрия. – 2008. – № 2. – С. 117–119.

531. Фадєєнко Г.Д. Патогенетичні механізми фіброзу печінки. Діагностичні та прогностичні критерії / Г.Д. Фадєєнко, Н.О. Кравченко // Український терапевтичний журнал. – 2010. – № 1. – С. 19–26.



532. Фурцева Л.Н. Биохимия костной и хрящевой ткани / Л.Н.Фурцева // Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии / Ю.И. Денисов-Никольский, С.П. Миронов, Ю.П. Омеляненко, И.В. Матвейчук. – М.: Типография "Новости", 2005. – 336 с

533. Хатмуллина Л.Р. Нарушения метаболизма костной ткани у больных, находящихся на программном гемодиализе, и эффективность их коррекции с применением миакальцика и бонвива: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04 «биохимия» /Хатмуллина Людмила Рашитовна. – Уфа, 2009. – 142 с.

534. Хрусталева И.Э. Применения препарата рецепторного антагониста интерлейкина-1 для повышения выживаемости адипоцитов при выполнении липофилинга / И.Э. Хрусталева, Е.П. Сухопарова // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т.18. – № 4. – С. 179–181.

535. Цитокины в развитии и прогрессировании хронической сердечной недостаточности / О.А. Осипова, М.А. Власенко, О.М. Годлевская, С.Б. Суязова // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19. – № 2. – С. 322–327.

536. Цуканов Ю.Т. Варикозная болезнь вен нижних конечностей как следствие дисплазии соединительной ткани / Ю.Т. Цуканов, А.Ю. Цуканов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2004. – Т.10. – № 2. – С. 84–89.

537. Чазова И.Е. Особенности поражения сердца при метаболическом синдроме у больных артериальной гипертензией / И.Е. Чазова, В.Б. Мычка, Г.Х. Шарипова // Кардиоваскулярная Терапия и Профилактика. – 2008. – 7. – № 8.– Р. 20–26.

538. Чурилов Л.П. О системном подходе в общей патологии: необходимость и принципы патоинформатики / Л.П. Чурилов // Вестник Санкт-Петербургского Университета. – 2009. – Сер.11. – Вып. 3. – С. 5–23.

539. Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови / П.Н. Шараев // Лабораторное дело. – 1990. – № 5. – С. 283–285.

540. Определение свободного и связанного оксипролина в моче / П.Н. Шараев, Е.А. Ботникова, В.М. Иванова [и др.] // Лабораторное дело. – 1990. – № 12. – С.23–25.

541. Шехтман А.Г. Изменения некоторых показателей системы гемостаза в зависимости от выраженности потери костной массы у пожилых пациентов / А.Г. Шехтман, С.Н. Брылякова // Геронтология и гериатрия. – 2004. – Вып. 3. – С. 167–169.

542. Шипилов М.В. Диагностическая ценность исследования рецепторного антагониста интерлейкина-1 при острых респираторных вирусных инфекциях / М.В. Шипилов, В.В. Иванов // Новые задачи современной медицины: материалы междунар. науч. конф. (г. Пермь, январь 2012 г.). – Пермь: Меркурий, 2012. – С. 107–109.

543. Шулутко Б.И. Нефрология 2000: Современное состояние проблемы / Б.И. Шулутко. – СПб.: Ренкор, 2002. – 780 с.

544. Щирая Е.А. Тактика лечения больных варикозным расширением вен нижних конечностей в зависимости от вариантной анатомии и биомеханических свойств венозной стенки: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 «хирургия» / Щирая Елена Александровна. – СПб., 2014. – 152 с.

545. Эффективность использования квантовой терапии в комплексном послеоперационном лечении детей с врожденными обструктивными уropатиями и вторичным пиелонефритом / М.П. Разин, С.В. Игнатъев, Я.Ю. Иллек [и др.] // Урология. – 2009. – № 4. – С. 55–58.

546. Ягода А.В. Влияние интерферона-альфа на агрегацию и систему циклических нуклеотидов тромбоцитов при хронических вирусных заболеваниях печени / А.В. Ягода, П.В. Корой // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – № 5. – С. 46–49.

547. Яковлев В.М. Современное состояние и перспективы развития проблемы наследственной дисплазии соединительной ткани: мнение клинициста / В.М. Яковлев // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2008. – № 2. – С. 5–7.