

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Кафедра біохімії та біотехнології

**БІОХІМІЧНИЙ МОНІТОРИНГ РОЗВИТКУ ОСТЕОПОРОЗУ
ЗА УМОВ РЕВМАТОЇД-АСОЦІЙОВАНИХ СТАНІВ**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Виконала: студентка VI курсу, групи 611-М
спеціальності 091 біологія
(освітня програма «біохімія та
лабораторна діагностика»)

Дарина ЩУДЛЯК

Керівник: д.б.н., професор Галина КОПИЛЬЧУК

Чернівці – 2023

Анотація

Магістерська робота присвячена аналізу клініко-лабораторних та біохімічних показників розвитку остеопорозу за умов ревматоїд-асоційованих станів.

Встановлено, що в хворих на ревматоїдний артрит підвищення показника ШОЕ до 55 мм/год та зростання рівня С-реактивного протеїну > 50 мг/л в сироватці крові під час перебігу розгорнутої форми захворювання можна розглядати як діагностичний критерій загострення системної запальної відповіді організму.

Максимальне зростання рівня ревмофактора при розгорнутій стадії РА до 75 МО/мл засвідчує розвиток ревматоїдного поліартриту (ураження суглобів і сполучної тканини) на тлі підвищення титр антистрептолізину-О ще в період ранньої стадії патології.

Визначення антитіл до циклічного цитрулінового пептиду є чутливим та високоспецифічним серологічним тестом для діагностики ревматоїдного артрити на ранніх стадіях захворювання у зв'язку з можливістю на його основі прогнозувати функціональну недостатність суглобів у пацієнтів із дебютом захворювання.

В умовах перебігу ревматоїдного артрити, зокрема його розгорнутої форми, виникнення гіпокальціємії погіршується вітамін D-дефіцитним станом, що може виступати додатковим фактором ризику остеопорозу.

Ключові слова: С-реактивний білок, ревмопроби, антитіла до циклічного цитрулінового пептиду, кальцій, вітамін D, ревматоїдний артрит, остеопороз

Annotation

The master's thesis is dedicated to the analysis of clinical, laboratory and biochemical indicators of the development of osteoporosis in rheumatoid-associated communities.

It has been established that in patients with rheumatoid arthritis, the increase in the level of CRE up to 55 mm/year and the increase in the level of C-reactive protein > 50 mg/l in the blood serum during the hour of overcoming the flared form of illness can be considered as diagnostic. This is a criterion for the exacerbation of the systemic ignition type of the body.

The maximum increase in the level of rheumatoid polyarthritis at the advanced stage of RA to 75 U/ml is due to the development of rheumatoid polyarthritis (impairment of the joints and tissues) in aphids and an increase in the titer of antistreptolysin-O even during the early period stages of pathology.

Significant antibodies to cyclic citrullinated peptide are a sensitive and highly specific serological test for the diagnosis of rheumatoid arthritis in the early stages of disease in the ligament with the ability to predict function on its basis. a general lack of fluids in patients with the onset of illness.

In cases of rheumatoid arthritis, in its most acute form, hypocalcemia is caused by vitamin D deficiency, which may be an additional factor in the risk of osteoporosis.

Key words: C-reactive protein, rheumatoid tests, anti-cyclic citrullinated peptide, calcium, vitamin D, rheumatoid arthritis, osteoporosis

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Д.А. Щудляк
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Сучасні уявлення про патогенез ревматоїдного артриту.....	7
1.1.1. Епідеміологія ревматоїдного артриту.....	9
1.1.2. Фактори ризику розвитку ревматоїдного артриту.....	11
1.1.3. Патобіохімічні механізми розвитку ревматоїдного артриту.....	14
1.2. Механізми розвитку остеопорозу в хворих на ревматоїдний артрит.....	21
1.3. Клініко-діагностичні маркери розвитку ревматоїдного артриту та остеопорозу.....	23
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	27
2.1. Об'єкти та методи досліджень.....	27
2.2. Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ).....	28
2.3. Визначення вмісту С-реактивного білка.....	28
2.4. Визначення рівня ревматоїдного фактору.....	29
2.5. Визначення вмісту антистрептолізину-О.....	29
2.6. Визначення рівня антитіл до циклічного цитрулінового пептиду.....	30
2.7. Визначення вмісту загального кальцію.....	30
2.8. Визначення концентрації вітаміну D.....	31
2.9. Статистичні методи.....	31
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	32
ВИСНОВКИ.....	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	47
ДОДАТКИ.....	54

ВСТУП

Нині відмічено значне збільшення частоти ревматичних захворювань з аутоімунними та імунокомплексними механізмами патогенезу. За останні роки патології кістково-суглобової системи та сполучної тканини займають третє місце в структурі тимчасової непрацездатності та інвалідності молодих людей практично в усіх країнах світу [1, 2].

Ревматоїдний артрит (РА) є різновидом поширеного аутоімунного захворювання з гіперплазією суглобової тканини та синовіальним запаленням, яке може призвести до серйозних систематичних розладів, зокрема, серцево-судинних, легневих, скелетних тощо. Саме дебют даного захворювання є вирішальним у розвитку та прогресуванні патологічного процесу [3].

Ревматоїдний артрит асоціюється з посиленням локалізованого та генералізованого остеопорозу (ОП) – системного метаболічного захворювання скелета, що призводить до підвищеного ризику переломів навіть при легких травмах [4]. Остеопороз характеризується порушенням мікроархітекτονіки кісткової тканини з подальшим підвищенням її крихкості та супроводжується зниженням кісткової маси. Епідеміологічні дослідження засвідчують, що близько 60-80% пацієнтів із РА мають супутню патологію ОП [5].

Ризик виникнення остеопоротичних переломів має місце в 30-40% жіночого населення Європи старше 50 років і 13-22% чоловіків відповідного віку. Згідно з прогнозами експертів, до 2050 року частина переломів шийки стегнової кістки, пов'язаних з остеопорозом, зросте у світі до 6,3 млн [6], що спричинить зростання не тільки соціальних і клінічних проблем, але й економічних витрат на лікування даної патології.

Є три основні причини, через які збільшується ризик розвитку остеопорозу. До них належать: використання глюкокортикоїдів, запалення та низький рівень фізичної активності. Відомо, що прийом кортикостероїдна терапія призводить до швидкої втрати мінеральної щільності кістки, швидкість якої максимальна в перший рік лікування, та може досягти 30 % в перші місяці прийому препарату [7].

Характерною ознакою (доклінічного) РА є локальна втрата кісткової тканини (навколосуглобова остеопенія) через зменшення кісткових трабекул і наявність набряку кісткового мозку. Периартикулярна втрата кісткової тканини є наслідком постійного впливу запальних цитокінів, таких як інтерлейкін (IL)-6 або фактор некрозу пухлини-альфа (TNF- α) на (пери)суглобові ділянки, і частіше спостерігається у пацієнтів з РА з аутоантитілами проти цитрулінованих білків [8].

Цікаво, що нещодавні дослідження засвідчують прямий зв'язок між зменшенням кісткової маси (тобто мінеральною щільністю кісткової тканини) та морфометричними параметрами кістки (тобто якістю кістки) і титрами антитіл проти цитрулінованих білків у пацієнтів з РА. Локальна втрата кісткової тканини в навколосуглобових ділянках є результатом витончення кортикальної кістки в місцях прикріплення запаленої синовіальної оболонки, яка є переважною локалізацією розвитку кісткової ерозії. Поряд із локалізованою втратою кісткової тканини генералізований остеопороз є поширеною патологією, особливо у пацієнтів із тривалим і неконтрольованим РА [9].

У літературі [10] зазначено, що для встановлення структурно-функціональних змін сполучної тканини при патологіях кістково-м'язової системи з імуннозапальними та аутоімунними механізмами розвитку, зокрема, ревматоїдному артриті, у клініко-біохімічній практиці використовують специфічні лабораторні маркери. Для РА властиве значне порушення обміну структурних протеогліканів, протеїнів сполучної тканини – колагену та еластину, а також інтенсифікація процесів резорбції у кістці, що виникають як наслідок дії різних ушкоджувальних механізмів запалення та спричинені активацією прозапальних цитокінів.

Мета роботи – проаналізувати клініко-лабораторні та біохімічні показники розвитку остеопорозу за умов ревматоїд-асоційованих станів.

РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про патогенез ревматоїдного артриту

Ревматоїдний артрит (РА) визначається як системна аутоімунна патологія, пов'язана з хронічним запальним процесом, який може пошкоджувати як суглоби, так і позасуглобові органи, включаючи серце, нирки, легені, травну систему, очі, шкіру та нервову систему. Численні типи артритів були досліджені та описані для того, щоб класифікувати їх на незапальний артрит (остеоартрит) і запальний артрит, спричинений відкладенням кристалів (псевдоподагра, кальцієво-фосфатна хвороба, подагра), бактеріальними та вірусними інфекціями (*Staphylococcus aureus*, *Neisseria*, ускладненнями хвороби Лайма, парвовірусом, ентеровірусом) або аутоімунними процесами [11].

До гетерогенної групи аутоімунних ревматичних захворювань належать також системний червоний вовчак, синдром Шегрена, склеродермія у дорослих, спондилоартрит, псоріатичний артрит, поліміозит тощо. Через те, що вони можуть бути подібні за ознаками та симптомами, необхідна їх диференційна діагностика [12].

Ревматоїдний артрит – це хронічне запальне захворювання сполучної тканини з переважним ураженням суглобів за типом ерозивно-деструктивного прогресуючого поліартриту, що супроводжується порушеннями гуморального та клітинного імунітету, які надають ревматоїдному запаленню характеру імунноопосередкованого, та супроводжується нестримною проліферацією синовіоцитів. Характерною особливістю запального процесу при ревматоїдному артриті є проліферація синовіальної мембрани, що призводить до руйнування хряща і деструкції кісткової тканини. Механізми гіперплазії синовіальної оболонки супроводжуються появою паранеопластичних характеристик у синовіальних макрофагів та фібробластів у вигляді експресії протоонкогенів та їх інвазивності [13].

Єдиного погляду щодо етіопатогенезу РА не існує. Ревматоїдний артрит – багатофакторне захворювання. Суглоби порівняно з внутрішніми органами є поверхневими структурами, у зв'язку з чим часто зазнають невеликих травм,

що призводять до незначно виражених запальних змін з ймовірним надходженням у суглобову порожнину компонентів плазми та лейкоцитів, швидким вивільненням ферментів, що містяться в цих клітинах, і реакцією на них синовіальних клітин [14]. Хоча спочатку уражаються лише декілька суглобів, на пізніх стадіях уражаються багато суглобів, а позасуглобові симптоми є поширеними.

Клінічно симптоми РА значно відрізняються між ранньою стадією та недостатньо пролікованими пізніми стадіями захворювання. Рання стадія РА характеризується такими генералізованими симптомами захворювання, як втома, грипоподібне відчуття, набряклі та чутливі суглоби та ранкова скутість; і паралельно з підвищеними рівнями С-реактивного білка (СРБ) і підвищеною швидкістю осідання еритроцитів (ШОЕ) [15]. На відміну від цього, недостатньо лікований РА демонструє складну клінічну картину з появою серйозних системних проявів, таких як плевральний випіт, вузлики в легенях та інтерстиціальне захворювання легенів, лімфоми, васкуліти в артеріях малого або середнього розміру, кератокон'юнктивіт, атеросклероз, гематологічні аномалії (наприклад, анемія, лейкопенія, нейтропенія, еозинофілія, тромбоцитопенія або тромбоцитоз), неправильне положення суглобів, втрата діапазону рухів, ерозія кісток, руйнування хряща та ревматичні вузлики. У сукупності ці системні прояви, викликані хронічним запальним станом у пацієнтів з РА, призводять до підвищення смертності [16].

Активні рухи в суглобах, що супроводжуються тертям дотичних поверхонь, також сприяють мікротравматизації і злуцуванню поверхневих тканинних елементів у суглобову порожнину. Рясна іннервація суглобових тканин призводить до того, що навіть мінімально виражене запалення супроводжується болем. У результаті больових відчуттів із закінчень чутливих нервів виділяються нейрогенні медіатори запалення (насамперед, речовина Р), що сприяють розвитку синовіту [17].

Значна частина покривних синовіальних клітин – активні фагоцити моноцитарного ряду, здатні захоплювати інфекційний або будь-який інший антигенний (зокрема, аутоантигенний) матеріал, який виявляється в синовіальній рідині або в крові, що циркулює в синовіальній мембрані. Ці клітини мають кістково-мозкове походження, а їх зниження поповнюється за рахунок моноцитів або попередників моноцитів, що надходять із кісткового мозку. Дані клітини можуть здійснювати транспорт у замкнуту порожнину суглоба патогенних речовин, фагоцитоз яких призводить до активації імунної системи [18].

Хоча запропоновано низку біомолекулярних механізмів, етіологія РА ще не повністю з'ясована, сучасна гіпотеза полягає в тому, що нерегульована цитрулінізація призводить до вироблення антитіл проти цитрулінованого білка (АСРА). Еволюція РА коливається з епізодичними загостреннями та за відсутності оптимального лікування симптоми поступово погіршуються, поки суглоби не будуть незворотно пошкоджені [19].

1.1.1. Епідеміологія ревматоїдного артриту

Більшість епідеміологічних досліджень РА о проведено в західних країнах, показуючи поширеність РА в діапазоні 0,5–1,0% у США. Загалом жінки в 2–3 рази частіше хворіють на РА, ніж чоловіки. Дійсно, кумулятивний ризик розвитку ревматоїдного артриту у дорослому віці приблизно оцінюється в 3,6% для жінок і 1,7% для чоловіків [20].

Як зазначено в літературі [17], «значну частку ревматологічної патології займає ревматоїдний артрит – одне з найпоширеніших захворювань сполучної тканини (близько 1% – в світі, 0,4% – в Україні). У світі налічується приблизно 63 млн. хворих на РА. Майже 1/3 пацієнтів із ревматоїдним артритом впродовж 20 років стають інвалідами, а виживаність при тяжкому перебігу вісцеральних проявів протягом 5 років не перевищує 50%. Лише в Україні налічується близько 125 тис. хворих з цією недугою».

РА має сильний генетичний компонент. Дослідження близнюків оцінили успадкованість РА приблизно в 60%. Це число спостерігається у АСРА-позитивних пацієнтів, тоді як оцінки серонегативних захворювань нижчі. Однак конкордатність захворювання однойцевих близнюків становить лише 12–15%, що вказує на те, що фактори зовнішнього середовища також відіграють важливу роль у сприйнятливості [21].

Близько 100 локусів ідентифіковано в геномах, що містять варіанти сприйнятливості до РА, за допомогою загальногеномних досліджень асоціацій, з детальним картуванням, підходами до генів-кандидатів та мета-аналізом геному – широкі асоційовані дослідження за участю >100 000 осіб. Зокрема, локуси специфічного лейкоцитарного антигену людини класу II (HLA; також відомі як головний комплекс гістосумісності (МНС)), які кодують молекули МНС, які можуть містити загальний епітоп, демонструють дуже сильну сприйнятливості до РА, що відповідає класичним висновкам [22].

Куріння, вплив кремнезему та пародонтит є факторами ризику розвитку РА. Як генетичні, так і екологічні фактори ризику сприяють виникненню ревматоїдного артеріального артрити, і може знадобитися кілька факторів ризику, перш ніж досягти порогу, при якому запускається РА. Прогресування захворювання включає безсимптомний синовіт, ініціацію та поширення аутоімунітету проти змінених аутобілків, що може виникнути за роки до появи клінічних симптомів [23].

Вплив віку на захворюваність РА оцінено дослідженнями, які показали збільшення з віком до 80 років. Декілька досліджень повідомляють про відмінності в рівнях захворюваності на регіональному рівні всередині країн. Одним із потенційних пояснень цих коливань може бути вплив хімічних речовин на навколишнє середовище, кліматичні зміни, інфекційні захворювання та їжа. Крім того, повідомлялося, що люди з низьким соціально-економічним статусом, які живуть у сільській місцевості в дитинстві, мають вищий ризик розвитку РА в дорослому віці. Останні дослідження показали, що Сполучене Королівство має найвищий стандартизований рівень захворюваності (27,5 випадків

на 100 000 жителів), а Канада мала найбільший ріст рівня захворюваності за останні 30 років [24]. Причини зростання захворюваності не мають однозначного пояснення, але важливу роль можуть відігравати фактори ризику.

1.1.2. Фактори ризику розвитку ревматоїдного артрити

РА є мультифакторним захворюванням, спричиненим генетичними, екологічними та стохастичними факторами. Генетичний ризик РА, оцінений науковими дослідженнями, становить приблизно 50%. Наявність або відсутність ревматоїдного фактора (РФ) і АСРАs може розділити РА на два типи (серопозитивний і серонегативний), а також існують відмінності між факторами ризику. Алелі ризику нерецептора тирозинфосфатази типу 22 (PTPN22), алелі, пов'язані з людським лейкоцитарним антигеном D (HLA-DR), фактор 1, асоційований з рецептором фактора некрозу пухлин, і компонент комплементу 5 (TRAF1/C5) споріднені гени є основними генетичними факторами, пов'язаними з АСРА-позитивним підтипом, тоді як регуляторний фактор інтерферону 5 (IRF-5) обмежується АСРА-негативним підтипом [25].

Як і інші захворювання, куріння пов'язане з розвитком або загостренням РА. Перші докази асоціації курців із підвищеним ризиком розвитку РА спостерігалися випадковістю в дослідженні з іншою метою. З тих пір це стало найкраще описаним фактором ризику РА. Шкідливі хімічні речовини в тютюнових виробах були всебічно оцінені, і результати показують, що куріння подає певний сигнал. Куріння може бути пов'язане з генетичним контекстом зі специфічною роллю в запуску певного підтипу РА. Повідомлено, що куріння впливає на RF- або АСРА-позитивний РА і не впливає або має дуже незначний вплив на АСРА-негативний РА. Крім того, ризик розвитку АСРА-позитивного РА набагато вищий у курців, які є носіями спільних епітопних алелей HLA-DR Beta 1. Не спостерігалось жодного зв'язку між пасивними курцями та ризиком розвитку РА [26].

Вплив силікатного пилу є професійним типом впливу, який впливає на РА. Повідомлялося про наявність зв'язку між силікозом і ревматоїдним артритом, що вражає переважно пацієнтів з АСРА-позитивним РА. Хронічний вплив кремнезему може призвести до ревматоїдного пневмоконіозу, також відомого як синдром Каплана, рідкісного захворювання пацієнтів з РА, у яких розвинувся силікоз [27].

Як і гіпотеза щодо інших аутоімунних захворювань, ймовірно, що початкове встановлення РА вимагає двох окремих подій:

- ✓ генетичної схильності відповідного пацієнта, що призводить до генерації аутореактивних Т- і В-клітин;
- ✓ тригерної події, якою можуть бути як вірусні, так і бактеріальні інфекції або пошкодження тканин, забезпечуючи утворення активованих антигенпрезентуючих клітин (АРС) для активації раніше згенерованих аутореактивних лімфоцитів, що призводить до порушення толерантності та подальшого руйнування тканин/органів [16].

Таким чином, РА, ймовірно, розвивається у генетично схильних осіб через поєднання генетичних варіацій, епігенетичної модифікації та факторів навколишнього середовища, ініційованих стохастичною подією (наприклад, травмою або інфекцією).

Повідомлялося також, що фактори ризику розвитку РА включають ожиріння, вплив ультрафіолетового випромінювання, статеві гормони, наркотики, зміни в мікробіомі кишечника, ротової порожнини та легень, захворювання пародонту (пародонтит) та інфекції. Інфекції є біологічними факторами ризику, які можуть спровокувати розвиток РА. Порівняльне когортне дослідження показало, що ризик інфекцій суглобів, шкіри та кісток значно вищий у пацієнтів з РА порівняно з незапальними ревматичними захворюваннями. Крім того, бактеріальні тригери також були виявлені у випадку Лайм-артриту, патології, багато в чому подібної до РА. Серед цих факторів особливо цікавим є зв'язок між захворюваннями пародонту та розвитком РА [28].

Хоча зв'язок між пародонтитом і розвитком ревматоїдного артриту був визнаний ще в XIX столітті, останні дослідження показали, що інфекції, викликані поширеною пародонтальною бактерією *Porphyromonas gingivalis*, можуть призводити до індукції аутоімунних реакцій через цитрулінізацію пептидів господаря. Під час цього процесу, який каталізується ферментом протеїнова аргініндеїміназа (PAD), позитивно заряджені залишки аргініну «власних» білків перетворюються на нейтральні залишки цитруліну, що призводить до сумарної втрати поверхневого заряду, підвищеної сприйнятливості цитрулінованих «власних» білків до деградації та генерації неоепітопів [29].

Це порушення місцевої толерантності *P. gingivalis*, що експресує PADi4 (сприяє перетворенню аргініну в цитрулін), сприяє аутоімунним реакціям, а також генерації антитіл проти цитрулінованого білка (АСРА). Крім того, припущено, що інші вірусні (вірус Епштейна–Барра) та бактеріальні інфекції (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*) можуть ініціювати розвиток РА за допомогою механізмів молекулярної мімікрії, викликані подібністю між амінокислотними послідовностями «власних» антигенів і певними бактеріальними або вірусні білки [30].

Окрім цитрулінування, карбамілювання залишків лізину також сприяє утворенню неоепітопів з кількох «власних» білків (наприклад, колагену, фібриногену або віментину) і подальшого порушення імунологічної «власної» толерантності.

Оскільки сімейний анамнез РА підвищує ризик розвитку РА в три-п'ять разів, а рівень ризику конкордатності в однайцевих близнюків підвищується порівняно як з неспорідненими контрольними групами, так і з неідентичними близнюками, припускають, що генетичні фактори також сприяють розвитку РА. Дослідження повногеномних асоціацій з використанням однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) показали, що більше 100 локусів асоціюються з розвитком РА. Як і очікувалося, багато з цих локусів беруть участь в індукції, регуляції та підтримці імунних відповідей і є спільними з іншими хронічними

запальними захворюваннями. До деяких факторів ризику РА належать наявність певних алелів HLA, зміни в коstimуляторних шляхах (наприклад, через зміни експресії CD28 або CD40), а також зміни в активації вроджених імунних клітин, пороги активації лімфоцитів (наприклад, PTPN22) або передача сигналів цитокінів [31].

Дослідники припустили, що алелі HLA, які мають спільні амінокислотні послідовності в межах своїх пептидних зв'язуючих ділянок, здатні переважно презентувати певні пептидні епітопи, отримані з відповідних аутоантигенів РА. Крім того, деякі з цих алелів HLA-DRB1 пов'язані з більш агресивною ерозією кісток і підвищенням рівня смертності [16].

Отже, це свідчить про сильний Т-клітинно-залежний компонент при ревматоїдному артриті, і справді підгрупи Т-клітин Th1 і Th17 є переважаючими типами клітин, які зустрічаються синовіальній тканині під час запалення.

1.1.3. Патобіохімічні механізми розвитку ревматоїдного артрити

При ревматоїдному артриті аутоімунне руйнування тканини проявляється як синовіт, запалення суглобової капсули, що складається з синовіальної оболонки, синовіальної рідини та відповідних кісток. Це запалення суглобів ініціюється та підтримується складною взаємодією між різними підтипами дендритних клітин (ДК), Т-клітинами, макрофагами, В-клітинами, нейтрофілами, фібробластами та остеокластами. Оскільки повсюдно присутні РА-специфічні аутоантигени не можуть бути повністю очищені, ця безперервна активація імунних клітин призводить до самозбереження, хронічного запального стану в суглобі та набряку синовіальної оболонки, що розпізнається ураженими пацієнтами як біль і набряк суглоба. Це хронічне запальне середовище в артритному суглобі, у свою чергу, призводить до розширення синовіальної оболонки, що називається «паннусом», який проникає в навколосуглобову кістку в місці з'єднання хряща та кістки, що призводить до ерозії кістки та дегградації хряща [32].

Існує дві важливі патогенетичні зміни синовіальної оболонки при РА. Щодо першої, інтима значно розширюється завдяки збільшенню та активації обох типів синовіоцитів – макрофагоподібних синовіоцитів (MLS) і фібробластоподібних синовіоцитів (FLS), які є визначними джерелами цитокінів і протеаз, включаючи інтегрини, селектини та члени надродини імуноглобулінів. MLS продукують різноманітні прозапальні цитокіни, включаючи IL-1, IL-6 та фактор некрозу пухлин (TNF)- α . FLS експресують не тільки IL-6, але також величезну кількість матриксних металопротеїназ (MMP) і низькомолекулярних медіаторів (простагландинів і лейкотрієнів). Крім того, FLS допомагають в активації імунних відповідей, взаємодіючи з імунними клітинами та підтримуючи формування FLS у синовіальних тканинах [33]. По-друге, це інфільтрація адаптивних імунних клітин у синовіальну оболонку. Це призводить до характерного утворення «паннусу» на межі хряща та кістки. Паннус може складатися з макрофагів, FLS, дендритних або плазматичних клітин і тучних клітин, і він опосередковує пошкодження та утворення ерозії в подальшому захворюванні [34].

Хоча патофізіологічні механізми розвитку ревматоїдного артрити повністю не з'ясовані, висунуто декілька гіпотез. Повідомлялося, що імунологічні процеси можуть відбуватися за багато років до появи симптомів запалення суглобів, так звана фаза перед РА. Взаємодія між епігенетичними модифікаціями геномної структури та факторами навколишнього середовища може призвести до модифікованих власних антигенів, як у випадку імуноглобуліну G (IgG), колагену 2 типу та віментину. Ці білки із залишками аргініну можуть бути перетворені на цитрулін за допомогою пептидиларгініндеїміназ у посттрансляційній модифікації, яка називається цитрулінуванням [35]. Крім того, захворювання суглобів, такі як синовіальна гіперплазія або синовіальні інфекції, можуть викликати вивільнення цитокінів, які можуть викликати запалення суглобів, а також модифіковані власні антигени.

Через наявність генів чутливості HLA-DR1 і HLA-DR4 імунна система більше не в змозі розпізнавати цитруліновані білки (віментин, колаген типу II,

гістони, фібрин, фібронектин, ядерний антиген Епштейна-Барра 1, α -енолазу) як власні структури. Антигени поглинаються антигенопрезентуючими клітинами (APC), що є дендритними клітинами, які активуються для ініціації імунної відповіді. Весь комплекс мігрує в лімфатичний вузол, де відбувається активація Т-клітин-хелперів CD4⁺. Крім того, зародковий центр лімфатичного вузла містить В-клітини, які активуються реципрокними та послідовними сигналами з Т-клітинами, внаслідок чого запускається імунологічний процес, який називається коstimуляцією [36].

Прикладом коstimуляції є взаємодія між CD28 і CD80/86. На цьому рівні В-клітини піддаються соматичній гіпермутації або рекомбінації з перемиканням класів і починають проліферувати та диференціювати інтроплазматичні клітини, які виробляють аутоантитіла залежно від рецепторів клітин-попередників.

Аутоантитіла – це білки, що виробляються імунною системою, яка більше не розрізняє себе від невластних структур, тому власні тканини та органи стають випадковими цілями.

Ревматоїдний фактор (RF) і антицитрулінові антитіла (АСРА) є найбільш вивченими аутоантитілами, залученими до РА. RF – це антитіло IgM зі специфічністю тестування 85% у пацієнтів з ревматоїдним артритом, яке націлено на Fc-частину IgG, яку також називають константною ділянкою. Він також утворює імунний комплекс з IgG і білком комплементу, комплекс, здатний мігрувати в синовіальній рідині. Однак АСРА є більш специфічним для РА і націлені на цитруліновані білки, і після їх взаємодії зв'язування утворюються імунні комплекси з накопиченням у синовіальній рідині [37].

У сфері РА забруднення повітря, яке складається із суміші зважених твердих частинок різного розміру та газів (нітратів, озону, діоксиду сірки та монооксиду вуглецю), останнім часом приділяє все більшу увагу. Забруднювачі потрапляють у повітря через різноманітні техногенні та природні джерела, включаючи сільське господарство, спалювання викопного палива, хімічну

промисловість, використання розчинників, виверження вулканів, пил, що носить вітром, викиди рослин тощо. Клінічний вплив забруднення повітря в першу чергу розглядається по відношенню до респіраторних захворювань. Проте три великі епідеміологічні дослідження, проведені в Сполучених Штатах, Канаді та Швеції, продемонстрували, що забруднювачі повітря можуть бути пов'язані з патогенезом РА.

Alsaber та ін. (2020), провів дослідження, щоб дослідити кореляції між забруднювачами повітря та активністю РА за допомогою регресійних моделей. Виявлено, що нітрати та діоксид сірки є важливими факторами ризику розвитку РА. Одне з останніх опублікованих досліджень – це перехресне дослідження (яке оцінювало потенційний зв'язок між забруднювачами повітря в районі Верони та розвитком РА) у 888 пацієнтів з РА, яке показало, що забруднення повітря пов'язане з високим вмістом С-реактивного білка, що призводить до тяжкості захворювання РА та його реактивації через погану відповідь на біологічну терапію [37].

Участь забруднювачів повітря в патогенезі РА може бути заснована на кількох механічних процесах. Вільні активні форми кисню (АФК), що утворюються при вдиханні твердих часток, можуть активувати ядерний фактор каппа В (NF- κ B), який активує Т-хелперні клітини типу 1 (Th1) для утворення фактора некрозу пухлини альфа (TNF- α), інтерлейкіну-1 (IL-1) та інтерлейкіну-6 (IL-6). Ці цитокіни сприяють дозріванню моноцитів у зрілі дендритні клітини, які потім пропонують аутоантигени самореактивним Т-лімфоцитам, змушуючи їх рухатися до тканин-мішеней і сприяти запаленню та ерозії суглобів. Крім того, цитрулінізації залишків амінокислот аргініну в цитруліновані пептиди також сприяють АФК, які сприяють хронічним захворюванням легень і системному запаленню. АСРА, які утворюються в результаті біохімічних реакцій, викликають імунологічну відповідь шляхом зв'язування з клітинними рецепторами Fc і активації комплементу, що призводить до запалення суглобів і ерозії кісток [21].

Знижене ультрафіолетове випромінювання В (UVB) спричиняє зниження вироблення 1,25-дигідроксिवітаміну D₃ в шкірі, який функціонує як імуномодулятор, активуючи рецептор вітаміну D (VDR). Як наслідок, імуномодуючі функції не є оптимальними, і це може спровокувати РА [21].

Іншим важливим елементом, який має серйозне значення для патогенезу РА, є кишкова мікробіота, найбільш щільно колонізована бактеріальна популяція в організмі людини. Етіологія РА також пов'язана з кишковим дисбактеріозом, який призводить до певних аутоімунних шляхів і механізмів, таких як стимуляція APC шляхом активації Toll-подібних рецепторів (TLR) або нод-подібних рецепторів (NLR), молекулярна мімікрія, зміни кишкової проникності, просування диференціювання Т-клітин і посилення запалення слизової через певні шляхи.

Продемонстровано, що кишкові мікроорганізми впливають на імунологічні, метаболічні та нейроповедінкові особливості. Порівняно зі здоровими особами контролю, пацієнти з РА показали значні відмінності у складі кишкової мікробіоти, пов'язані зі збільшенням або зменшенням певних бактеріальних популяцій [38].

Шлунково-кишкова мікробіота може впливати на розвиток РА через проксимальні кишкові імуномодуючі клітини, які знаходяться в певних місцях у кишечнику. Кілька досліджень типу «випадок-контроль» продемонстрували кількісні зміни в специфічних бактеріях у пацієнтів з ревматоїдним артритом за допомогою секвенування 16S рРНК і метагеномного секвенування. За результатами досліджень [21] *Prevotella copri*, *Collinsella* та *Lactobacillus salivarius* були більш поширеними у хворих на РА, тоді як *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Veillonella* та *Haemophilus* були меншими за кількістю.

РА зазвичай характеризується прихованою появою симптомів, але з часом хвороба прогресує та поступово погіршується. Тригер симптомів РА невідомий, але описані імунологічні процеси, що відбуваються в синовіальній оболонці та синовіальній рідині. Синовіальні макрофаги вивільняють цитокіни,

такі як фактор некрозу пухлини альфа (TNF- α), інтерлейкін-1 (IL-1) та інтерлейкін-6 (IL-6), які пов'язані із запальними процесами, стимуляцією фібробластоподібних синовіоцитів (FLS) та стимуляція активності остеокластів. Підвищена активність і дозрівання остеокластів призводить до ерозії кістки. Після активації FLS є спеціалізованими клітинами, які можуть виробляти матриксну металопротеїназу (MMP). MMP може призвести до деградації хряща, а хрящ також секретує протеази за механізмом зворотного зв'язку. FLS може мігрувати від суглоба до суглоба, створюючи патерн симетричного РА. Крім того, FLS стимулює експресію рецепторного активатора ліганду ядерного фактора κ B (RANKL), дозволяючи Т-клітинам зв'язувати білки на поверхні остеокластів, що також призводить до ерозії кістки шляхом збільшення активності остеокластів [39].

Т-клітини сприяють запаленню, ерозії кісток і деградації хряща, стимулюючи експресію RANKL і продукуючи інтерлейкін 17 (IL-17), відіграючи важливу роль у стимуляції синовіальних макрофагів і FLS. Плазматичні клітини також сприяють запаленню через цитокіни та аутоантитіла.

Повідомлялося про присутність нейтрофілів у синовіальній рідині, які виробляють протеази та активні форми кисню (АФК), які можуть спричинити ерозію кісток і деградацію хряща. Імунні комплекси також були виявлені в синовіальній рідині, такі як антитіла, які зв'язуються одне з одним, сприяють запаленню та надмірно активують систему комплементу [23].

Ангіогенез – це процес утворення нових кровоносних судин із існуючих, що також відбувається при РА. На відміну від його корисної ролі в багатьох фізіологічних процесах, при ревматоїдному артриті він відіграє вирішальну роль, оскільки імунні клітини можуть мігрувати в суглоби завдяки збільшенню проникності судин і експресії молекул адгезії (молекула судинної адгезії 1). Крім того, васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF) є проангіогенним фактором, локалізованим у синовіальній оболонці пацієнтів з ревматоїдним артритом, який відіграє потужну роль у руйнуванні кісткової тканини як стимулятор генезу остеокластів.

Складність цієї патології також ґрунтується на численних сигнальних молекулах, які відіграють певну роль у запальних процесах. Янус-кінази (JAK) є невеликими сигнальними білками з патофізіологічним значенням, оскільки вони можуть представляти молекулярні мішені для багатьох терапевтичних засобів [40].

1.2. Механізми розвитку остеопорозу в хворих на ревматоїдний артрит

Остеопороз (ОП) – одне з найпоширеніших позасуглобових ускладнень ревматоїдного артриту, оскільки його поширеність серед пацієнтів з РА майже вдвічі вища, ніж у загальній популяції. ОП – це системне захворювання скелета, що характеризується зниженням мінеральної щільності кісткової тканини та його ускладненням (підвищеною крихкістю та переломами внаслідок зниження опору скрученню та стисненню). Крихкість кісток у людей з РА включає поєднання системного запалення, циркулюючих аутоантитіл і прозапальних цитокінів (IL-1, IL-6, TNF тощо). Хронічне запалення у людей з ревматоїдним артритом впливає на кістковий метаболізм і порушує нормальний цикл резорбції та знижує локалізовану та генералізовану мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ) [41].

На зменшення кісткової маси також можуть впливати такі фактори, як тяжкість захворювання, стать, особливо після менопаузи, зниження рівня вітаміну D, похилий вік, використання кортикостероїдів і протиревматичних препаратів, що модифікують хворобу, і зниження рухливості. У США дані показують, що остеопоротичні переломи спричиняють приблизно одну третину смертності, пов'язаної з РА. Переломи підвищують захворюваність і смертність, знижують якість життя, знижують самостійне функціонування людей, особливо в літньому віці. Перелом хребців є одним із найпоширеніших переломів через зниження МЩКТ, що спричиняє обмеження активності, інвалідність, кіфоз і зниження легеневої функції [2].

Остеопороз характеризується низькою кістковою масою, погіршенням мікроархітектури кісткової тканини та зниженням міцності кісток. Кісткова

маса дорослої людини є результатом піку кісткової маси, досягнутого в підлітковому віці і згодом зберігається до тих пір, поки не відбудуться порушення в циклі ремоделювання кістки – як правило, дуже тісно пов'язані процеси – і не зміняться баланс між кісткоутворюючими остеобластами та кістково-резорбуючими остеокластами. У нормальному циклі ремоделювання кількість втраченої кістки є такою ж, як кількість нової кістки, що утворюється. Коли цей процес стає «роз'єднаним» – як у випадку з дефіцитом естрогену, високим рівнем глюкокортикоїдів, зміною рівня кальцію в сироватці крові, коливанням рівня паратиреоїдного гормону (ПТГ) і зміною рівня гормону росту – виникає втрата кісткової тканини [42].

Розвиток навколосуглобового остеопорозу тісно пов'язаний з наявністю хронічного запалення суглобів. Цитокіни та фактори росту відіграють тут надзвичайно важливу роль і регулюють взаємодію між ними остеокласти, остеобласти та імунні клітини, залучені до РА.

Основне значення в утворенні ерозій і втрата кісткової тканини при ревматоїдному артриті зумовлені посиленням процесу резорбції за участю остеокластів. Остеокласти – багатоядерні клітини, які виникають подібно до мегакаріоцитів, гранулоцитів, моноцитів і макрофагів із гемопоетичних стовбурових клітин. Їх утворення і диференціація залежать від гормонів, цитокінів і факторів росту. Перетворення клітин-попередників в остеокласти вимагає наявності двох цитокінів: макрофагального колонієстимулюючого фактора (M-CSF – *macrophage colony stimulating factor*) і ліганда рецептора активованого ядерного фактора κB (RANKL – *receptor activator of nuclear factor NF-κB ligand*). M-CSF збільшує кількість попередників остеокластів і запобігає їх апоптозу. RANKL, з іншого боку, у поєднанні з ядерним фактором κB, що активує рецептор (RANK), індукує диференціацію, злиття та активація остеокластів. Білок остеопротегерин (OPG) блокує взаємодію між лігандом RANKL та його рецептором (RANK) [43].

Дисбаланс між RANKL і остеопротегерином призводить до патологій в кістковій тканині. Перевага RANKL порівняно з OPG підвищує резорбцію кісткової тканини, при цьому перевага OPG над RANKL зменшує його тяжкість. Дефіцит остеопротегерину викликає остеопороз, зумовлений посиленням остеокластогенезу. Мутації генів, що кодують RANK і RANKL у людей, призводили до різкого зменшення кількості остеокластів, спричиняли порушення їх функціонування та остеопетроз. Зміни кісток супроводжувалися макроцефалією, прогресуючою сліпотою, глухотою, паралічем лицевого нерва, гепатоспленомегалією і важкою анемією [4].

Зрілі остеокласти мігрують в ту ділянку кістки, де зазнають резорбції і там поляризуються, з'єднуються з кістковим матриксом за допомогою подосом, що містять актинові філаменти та інтегрини (переважно $\alpha\beta3$). З нижнього полюса остеокластичної клітини (шнуркової кінцівки) іони водню та хлориду виділяються в порожнину резорбції в результаті каталізу вугільної кислоти карбоангідроазою. Відбувається вимивання гідроксиapatиту. На наступному етапі через вивільнення літичних ферментів – металопротейназ, лізосомальних цистеїнових протеїназ (катепсин К, лужна фосфатаза) органічна матриця кістки резорбується [8].

За даними літератури [41], захворюваність на ОП спричинена кількома факторами серед пацієнтів з РА. У патогенезі запалення та зниженні МЦКТ беруть участь різні фактори імунної системи, такі як гіперекспресія та ефект аутоантитіл проти цитрулінованих білків, секреція прозапальних цитокінів та активатор рецептора ліганду NF-каппа В. Імуносупресивні препарати, такі як глюкокортикоїди та DMARDs, використовуються для лікування РА. Глюкокортикоїди з їх протизапальною дією можуть запобігти місцевому та системному зниженню МЦКТ.

Знижене споживання вітаміну D пов'язане з підвищеним ризиком РА, а також дефіцит вітаміну D пов'язаний з активністю захворювання у пацієнтів з РА. Тому дефіцит вітаміну D може бути однією з поширених причин РА та

ОП. Результати мета-аналізу показали, що дефіцит вітаміну D у пацієнтів з ревматоїдним артритом значно вищий, ніж у здорових людей, а рівні вітаміну D у сироватці крові обернено пропорційні активності захворювання [44].

1.3. Клініко-діагностичні маркери розвитку ревматоїдного артриту та остеопорозу

Клінічно у пацієнтів з ревматоїдним артритом зазвичай виникає хворобливість і набряклість суглобів, ранкова скутість суглобів, симптоми генералізованої хвороби, а також відхилення від норми лабораторних тестів. Своєчасна та точна діагностика має велике значення в лікуванні РА, оскільки рання діагностика може зупинити захворювання у багатьох пацієнтів, тим самим запобігаючи або суттєво сповільнюючи прогресування захворювання, неоправдане ураження суглобів та інвалідність до 90% пацієнтів з РА. Як правило, РА діагностується за сукупністю симптомів пацієнта, результатів огляду лікаря, оцінки факторів ризику, сімейного анамнезу, спільної оцінки за допомогою ультразвукової сонографії та оцінки лабораторних маркерів.

Ідентифікація та оптимізація панелей біомаркерів є перспективним клінічним інструментом завдяки їх діагностичній, прогностичній, прогностичній та терапевтичній ролі. За попередніми критеріями лише ревматоїдний фактор розглядали як біомаркер. Остання встановлена класифікація включає чотири біомаркери – ревматоїдний фактор, антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду, швидкість осідання еритроцитів, С-реактивний протеїн) [45].

Як клінічні біомаркери СРБ і ШОЕ зазвичай використовуються для визначення загального запального стану пацієнтів з РА. СРБ – це протеїн гострої фази, що складається з п'яти субодиниць 23 кДа, які належать до сімейства білків пентраксину. Його концентрація в сироватці може збільшуватися на три або більше логарифмічних кроків за наявності інфекції, запалення або пошкодження тканини. За допомогою цитокінів IL-6, IL-1 β і TNF- α основними джерелами продукування СРБ є гепатоцити, але також меншою мірою гладком'язові клітини судин, моноцити, лімфоцити, адипоцити та нейрони [46].

Останні дослідження виявили інші діагностичні білки, які відіграють важливу роль у ранній діагностиці РА: антитіла проти мутованого цитрулінового віментину (анти-MCV), антитіла проти карбамільованих білків (анти-CarP) і білка 14-3-3-eta. Систематичний огляд досліджень, у яких біомаркери перевірялися на їхню потенційну діагностичну роль, не показує різниці між циклічним АСРА та анти-MCV. Таким чином, він може бути діагностичним інструментом, коли RF і АСРА негативні. Крім того, діагностична точність протеїну 14-3-3-eta оцінена в експериментальних дослідженнях, і повідомлено, що для всіх пацієнтів з РА з негативним RF і АСРА білок 14-3-3-eta був позитивним. Анти-CarP виявлено в сироватці крові пацієнтів з РА, і кілька досліджень показали, що присутність анти-CarP пов'язана з передсимптомними фазами та може також використовуватися як прогностичний маркер [47].

Нині, Як правило, при ревматоїдному артриті призначають комплекс ревмопроб. Основними з них є:

- ✓ С-реактивний білок – маркер запалення, що дозволяє оцінити інтенсивність запального процесу;
- ✓ антистрептолізин-О (АСЛ-О) – маркер для діагностики ревматоїдного артриту та ревматизму;
- ✓ ревматоїдний фактор (особливі імуноглобуліни, які виявляються у 60-80% людей з ревматоїдним артритом).

Дослідження можуть бути як якісними, так і кількісними.

До розширеного пакету ревмопроб, окрім перерахованих вище маркерів також входять аналізи на альбумін, загальний білок, сіалові кислоти, формолова проба, серомукоїди.

Ще один обов'язковий аналіз – антитіла до циклічного цитрулінового пептиду (А-РСП). Це високочутливий тест, який у поєднанні з титром ревматоїдного фактора вказує на наявність ревматоїдного артриту.

Крім того, при лікуванні ревматоїдного артриту необхідно контролювати рівень печінкових ферментів – аспартатамінотрансферази (АСТ) та аланінамінотрансферази (АЛТ), оскільки в рамках терапії ревматоїдного артриту

використовуються препарати, які можуть бути гепатотоксичними, тому функцію печінки слід постійно відстежувати та за необхідності коригувати дозування ліків [48].

З позицій доказової медицини остеопороз відноситься до захворювань, що легко діагностуються. У процесі діагностики оцінюються ступінь тяжкості остеопорозу (інструментальні методи) та ступінь активності процесу (біохімічні методи). Ступінь тяжкості визначається за двома параметрами: втратою мінеральної щільності кісткової тканини та наявністю переломів.

Найбільш доступними дослідженнями в оцінці ОП є показники кальцієвого обміну – загальний та іонізований кальцій сироватки крові, їх співвідношення – кальцієвий коефіцієнт, за допомогою якого оцінюють розподіл кальцію між біологічними рідинами, клітинами та позаклітинним простором. Як антагоніст кальцію вивчають вміст магнію в сироватці крові.

Серед біохімічних маркерів ремоделювання кісткової тканини та діагностики ОП розглядають дві групи досліджень: у першій – кальцій-регулюючі паратиреоїдні та тиреоїдні гормони, активні метаболіти вітаміну D₃, основна функція яких – підтримання рівня кальцію в організмі Друга група маркерів контролює утворення та резорбцію кісткової тканини, тобто результати роботи остеокластів та остеобластів [14].

Маркери синтезу кістки представлені остеокальцином, пептидами колагену I типу, загальною лужною фосфатазою та її кістковим ізоферментом.

Остеокальцин розглядають як «золотий стандарт» при дослідженні утворення кістки. Колаген I типу є основним білком фібрил кісткового матриксу і синтезується остеобластами з їх попередників. Водночас загальна лужна фосфатаза міститься не тільки в кістковій тканині, але й печінці, нирках, тонкому кишечнику, тому вона не є високоспецифічним показником. Проте за нормальної роботи печінки та жовчовивідних шляхів, даний фермент виробляється тільки кістковою тканиною [12].

Одним з важливих ферментів кісткоутворення вважається кістковий ізофермент лужної фосфатази. Він виробляється тільки остеобластами, має період напіврозпаду 1-2 дні, у зв'язку з чим сприймається як ідеальний маркер формування кістки [12,14].

До маркерів кісткової резорбції відносять окси-і дезоксипіридиноліни, оксипролін, тартратрезистентну кислоту фосфатазу.

Таким чином визначення біохімічних маркерів дозволяє говорити про швидкість та спрямованість процесів кісткового метаболізму. Слід відмітити, що для метаболічних захворювань не існує специфічного кісткового маркеру. Однак біохімічні дослідження відіграють важливу роль у скринінгу остеодefіцитних станів у групах ризику.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та методи досліджень

У даній роботі проаналізовані 56 виписок з історій хвороб пацієнтів віком від 25 до 76 років із встановленим діагнозом ревматоїдного артриту, які впродовж 2020-2022 рр. знаходилися на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні Хмельницької міської лікарні.

Усі клінічні обстеження передбачали оцінку активності захворювання відповідно до *Disease Activity Score (DAS)-28*. Після встановлення діагнозу усім хворим на ревматоїдний артрит здійснювали лікування відповідно до положень протоколів, затверджених Міністерством охорони здоров'я (МОЗ) України (Наказ МОЗ України № 676 від 12.10.2006 р. «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Ревматологія»).

Активність РА оцінювали відповідно до критеріїв, затверджених Асоціацією ревматологів України (2004 р.). Всім хворим проводилося повне клініко-лабораторне обстеження, що включало збір анамнезу, огляд, фізикальне дослідження, лабораторні та інструментальні дослідження.

Комплекс лабораторних тестів включав загальноклінічні аналізи крові та сечі, біохімічний аналіз крові, визначення С-реактивного білка, а також загальноприйняті імунологічні показники – ревматоїдний фактор, антистрептолізин-О, антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду.

Найчастіше ревматоїдний дебютував у молодому (25–44 роки) та похилому віці (60–76 років). Переважаючи більшість хворих складали жінки (68%), кількість чоловіків від загальної вибірки становила 32%.

Активність ревматоїдного процесу в хворих визначали за трьома ступенями тяжкості: I – мінімальна, II – середня, III – максимальна, що характеризували активність розвитку запального процесу.

Для обговорення результатів загальноклінічних аналізів, біохімічних та імунологічних аналізів крові хворі були розділені на групи за віком:

- ✓ хворі з ревматоїдним артритом (початкова стадія)
- ✓ хворі з ревматоїдним артритом (розгорнута стадія).

2.2. Визначення швидкості осідання еритроцитів

Дослідження ШОЕ проводили методом Панченкова. Принцип методу ґрунтується на тому, що суміш крові з цитратом натрію при стоянні поділяється на 2 шари: нижній – формені елементи; верхній – плазма. Мірою визначення ШОЕ є величина стовпчика плазми, виражена в мм/год [49].

Для визначення ШОЕ методом Т.П. Панченкова застосовують прилад Панченкова – штатив, в якому у вертикальному положенні розміщуються спеціальні капіляри. Капіляри градуйовані в міліметрах і мають позначки:

- ✓ «О» знаходиться на відстані 100 мм від нижнього краю;
- ✓ «Р» – реактив, на рівні 50 мм;
- ✓ на рівні «О» є також позначка «К» – кров.

Капіляри промивають 5% розчином цитрату натрію. Потім набирають цитрат до позначки «Р» і поміщають розчин у тигельок. Роблять прокол пальця скарифікатором, в капіляри дворазово набирають кров до позначки «К» і поміщають її в тигельок з цитратом. Порції крові і цитрату змішують, отриману суміш (співвідношення крові і реактиву становить 4:1) набирають у капіляр до позначки «О», встановлюють капіляр в штатив строго вертикально на одну годину. Через годину визначають скільки становить висота вертикального стовпчика плазми в капілярі.

2.3. Визначення вмісту С-реактивного білка

С-реактивний білок (СРБ) визначали напівкількісно імунотурбодіметричним методом за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна) відповідно до інструкції до набору [50].

Визначення засноване на виявленні у сироватці крові СРБ, що взаємодіє анти-СРБ антитілами, які пов'язані з частинками латексу, з наступною преципітацією комплексу «антиген-антитіло». Темпи утворення імунних комплексів та його преципітації залежать від складу реакційної суміші. Утворення преципітату проявляється посиленням каламутності в реакційній системі, яка пропорційна концентрації СРБ та вимірюється при довжині хвилі 340 нм.

При аналізі результатів дослідження, позитивною вважалася проба, в якій концентрація СРБ перевищувала 10 мг/л, у слабопозитивній пробі рівень СРБ коливався в діапазоні 6-10 мг/л. При концентрації СРБ у досліджуваних зразках менше 6 мг/л проба вважалася негативною.

Оцінка показників СРБ: до 30 мг/л – вірусні інфекції, злоякісні новоутворення, ревматичні хвороби; до 100 мг/л – бактеріальні інфекції, загострення ревматичних захворювань, хірургічні втручання; до 300 мг/л – опіки, сепсис.

2.4. Визначення рівня ревматоїдного фактора

Кількісне визначення рівня ревматоїдного фактора (РФ) проводили методом латексної аглютинації. Це лабораторний аналіз для виявлення аутоантитіл – імунних агентів, що атакують тканини власного організму [51]. Принцип методу ґрунтується на тому, що латексні частинки, покриті людським гамма-глобуліном, аглютинуються при змішуванні із зразками, в яких присутній РФ.

Всі реагенти та зразки витримати при кімнатній температурі. Чутливість тесту може знижуватися за низької температури. Додають 50 мкл зразка і по краплі кожного позитивного та негативного контролю в окремі кружки на тестовому слайді. Делікатно збовтують RF-латексний реагент перед використанням і додають 1 краплю (50 мкл) в кружок, поряд із тестованим. Змішують всі порції мішалкою, поширюючи їх по всій поверхні. Для кожного зразка використовують різні мішалки при 80-100 об/хв на 2 хвилини. Якщо зчитування результатів проводиться пізніше 2 хвилин, можливі помилкові результати.

Негативний результат, коли ревматоїдний фактор вважається невиявленим, констатується при його концентрації в межах 0-25 МО/мл (UI/ml). Вищі показники вказують на позитивний результат тесту.

2.5. Визначення вмісту антистрептолізину-О

Визначення рівня антистрептолізину-О (АСО) в сироватці крові проводили латексним імунотурбідиметричним методом відповідно до інструкції для набору реагентів «Антистрептолізін О-Ново (латекс)» (№ РЗН 2016/3867) [52].

Кількісне визначення антистрептолізину-О базується на реакції аглютинації між тим, що знаходиться в зразку АСО і стрептолізин-О, що покриває латексні частинки в реагенті. Ступінь аглютинації залежить від концентрації АСО у зразку і викликає пропорційну зміну оптичної густини. Концентрація АСО у зразку визначається фотометрично щодо калібратора.

Для контролю якості використовували контрольний матеріал виробництва Діасенс, контроль специфічних білків виробництва Cormay (Польща).

Референсні значення: ≤ 250 МО/мл.

2.6. Визначення рівня антитіл до циклічного цитрулінового пептиду

Антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду (Anti-CCP) – маркер ранньої діагностики ревматоїдного артрити. Виявлення anti-CCP дозволяє діагностувати захворювання на ранніх стадіях (за 1-2 роки до появи перших симптомів).

Anti-CCP відноситься переважно до класу IgG, які мають більш високу специфічність при ревматоїдному артриті порівняно з дослідженням на ревматоїдний фактор. У пацієнтів із антитілами до ЦЦП розвивається більш виражене ушкодження суглобів.

Визначення рівня антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (Anti-CCP) відповідно до направлення проводили на базі приватних клініко-діагностичних лабораторій методом хемілюмінісцентного імуноаналізу.

2.7. Визначення вмісту загального кальцію

Для визначення вмісту загального кальцію використовували набір реагентів «Кальцій-Вітал», призначений для кількісного визначення кальцію у сироватці (плазмі) крові колориметричним методом. Принцип методу ґрунтується на тому, що кальцій у слабкокислому середовищі утворює забарвлений комплекс з Арсеназо III. Інтенсивність забарвлення при довжині хвилі 650 (630-670) нм пропорційна концентрації кальцію у пробі. Вплив магнію нівелюється гідроксихінолінсульфоною кислотою [53].

Перед початком дослідження виконується калібрування (необхідно проводити для кожної серії реагентів і при тривалому зберіганні розкритого реагенту) далі проводиться обов'язковий контроль якості. Для проведення контролю якості рекомендується використовувати контрольну сироватку «Мультиконт-Вітал» (нормальний та патологічний рівень).

Нормальні величини показника загального кальцію у сироватці (плазмі) крові – 2,02–2,60 ммоль/л (8,10–10,4 мг/дл).

2.8. Визначення концентрації вітаміну D

Визначення 25-ОН вітаміну D проводили відповідно до інструкції по застосуванню методом ІФА («НОВАМЕДЛАЙН», Україна) [54].

Твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА) визначення 25-ОН вітаміну D (загальний) ґрунтується на принципі конкурентного зв'язування. У лунки мікропланшета вносять моноклональні (мишачі) антитіла, спрямовані до унікального антигенного сайту 25-ОН-молекули вітаміну D (25-ОН D). Після цього зразки пацієнтів інкубують з реагентом вивільнення у лунках, щоб відділити ендogenous 25-ОН D від вітаміну D-зв'язуючого протеїну (ВДЗП). Після виділений 25-ОН D зв'язується з антитілами, які покривали лунки.

Після стадії відмивання додаються 25-ОН D (ензимний кон'югат), мічений біотином, і стрептавідин (ензимний комплекс), мічений пероксидазою. Біотин-25-ОН D конкурує з ендogenous 25-ОН D за зв'язування з антитілами, якими покривали лунки. Зв'язаний біотин-25-ОН вітаміну D потім виявляється стрептавідином-HRP. Ті компоненти, які виявилися не зв'язаними, після інкубації змиваються. Кількість зв'язаного біотин-стрептавідинового комплексу обернено пропорційна концентрації 25-ОН вітаміну D у зразках.

Потім в реакційне середовище вносять розчин субстрату і розвиток забарвлення після певного часу припиняється. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна концентрації 25-ОН D у зразках. Поглинання вимірюють при довжині хвилі 450 нм за допомогою рідера мікропланшетів.

2.9. Статистичні методи

Статистичний аналіз отриманих результатів дослідження здійснювали за допомогою програми *Excel* на персональному комп'ютері. Оцінку вірогідної різниці між середніми показниками проводили, використовуючи параметричний t-тест Стюдента.

Відповідність форм розподілу кількісних змінних нормальному розподілу перевіряли з допомогою побудови гістограм. Статистично значимим визнавали рівень $p < 0,05$.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Важливою частиною лікування РА є оцінка клінічних аспектів, включаючи ознаки та симптоми, прогностичні лабораторні біомаркери, диференційну діагностику, ускладнення та позасуглобові прояви. Рання та точна діагностика РА дуже важлива для диференціації типів аутоімунних захворювань, своєчасного встановлення правильного лікування та запобігання довгостроковим ускладненням.

При ревматоїдному артриті імунні клітини, знищуючи патогенні мікроорганізми (віруси, бактерії, стрептококи), що мають антигенну структуру, схожу на антигенну структуру хрящів, раптом починають руйнувати і власну тканину організму. Внаслідок цього прошарок гіалінового хряща між поверхнями кісток, що труться, руйнується, що призводить до розвитку запальної реакції [19].

Аналіз опрацьованих нами результатів досліджень показує, що у хворих ревматоїдним артритом обох дослідних груп показник ШОЕ значно перевищує референтні значення норми. При цьому за умов перебігу розгорнутої форми захворювання рівень даного показника досягає 55 мм/год, тоді як на ранній стадії знаходиться в межах 30 мм/год (рис. 3.1)

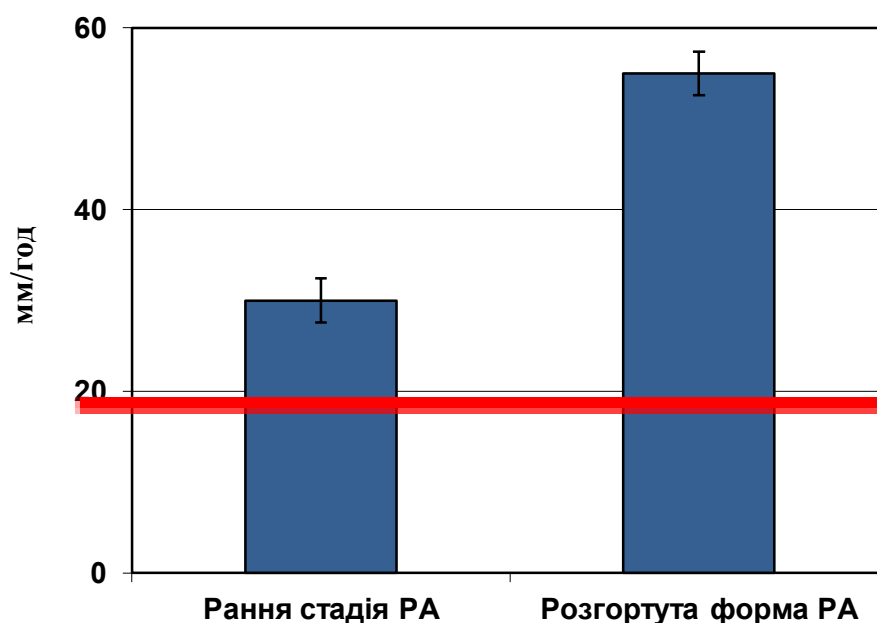


Рис. 3.1. Рівень ШОЕ в сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

ШОЕ – це показник, який відображає часовий проміжок осідання (склеювання) еритроцитів. Даний показник не є специфічним для якогось конкретного захворювання, проте має важливе значення для діагностики, прогнозування та аналізу динаміки захворювань.

Величина ШОЕ залежить від білкового складу плазми та в'язкості крові. В нормі на поверхні еритроцитів формується негативний заряд (Z-потенціал еритроцитів), що перешкоджає їх агрегації через кулонівське відштовхування, яке виникає при зближенні сил та сприяє підтримці еритроцитів у зваженому стані. При збільшенні в плазмі білків гострої фази – маркерів запального процесу (фібриногену, С-реактивного білка, церулоплазміну, гаптоглобіну, альфа-1 антитрипсину, імуноглобулінів та ін.) – Z- потенціал еритроцитів знижується, що призводить до підвищення агрегації еритроцитів.

На Z-потенціал еритроцитів впливають також інші фактори: рН плазми (ацидоз знижує ШОЕ, алкалоз – підвищує), в'язкість крові, іонний заряд плазми, ліпіди, наявність антиеритроцитарних антитіл. Тому, наприклад, при зменшенні в'язкості крові (зниження вмісту альбуміну в плазмі, значне зменшення кількості еритроцитів) ШОЕ збільшується, а при підвищенні в'язкості крові (поліцитемія) – зменшується [55].

Враховуючи те, що показник ШОЕ не завжди в повній мірі відображає клінічну активність захворювання, для аналізу перебігу ревматоїдного артрити використовують тест на С-реактивний білок (СРБ), що також вказує на рівень запалення, і при цьому вважається більш ефективним. У хворих на ревматоїдний артрит високий рівень СРБ вказує на значне запалення або травму.

Нами відмічено, що на ранній стадії розвитку ревматоїдного артрити в хворих вміст С-реактивного білка в сироватці крові досягає рівня 15 мг/л, тоді як в нормі рівень даного показника знаходиться в межах менше 5 мг/л. Водночас під час розгорнутої фази РА концентрація СРБ у крові хворих досягає 47 мг/л (рис. 3.2). На відміну від швидкості осідання еритроцитів С-реактивний

білок є чутливішим показником активності запалення, оскільки виявляє запалення будь-якого походження. СРБ з'являється і зникає раніше, ніж змінюється ШОЕ.

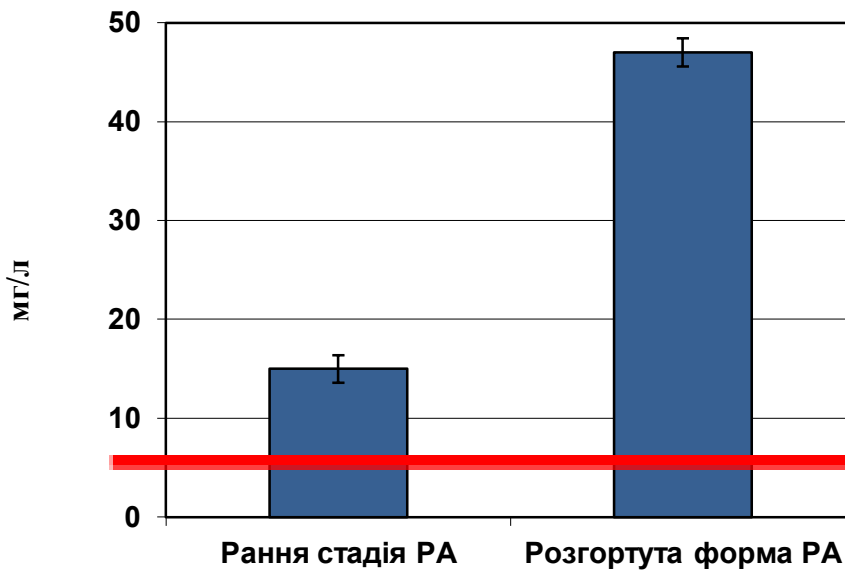


Рис. 3.2. Вміст С-реактивного білка в сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

СРБ – це циклічний олігомер, який складається з майже подібних субодиниць з молекулярною масою 20–30 кДа. Фосфатидилхолін зв'язується з СРБ Ca^{2+} -залежним шляхом. Показано, що СРБ демонструє специфічність зв'язування ліганду залежно від структури.

Загальновизнано, що СРБ проявляє як про-, так і протизапальні властивості. Зв'язуючись із фосфоліпідами, гістонами, хроматином і фібронектином, СРБ відіграє важливу роль в ідентифікації та видаленні патогенів, а також ушкодженні клітин. Виявлено, що він прискорює усунення клітинного «сміття», пошкоджених або апоптичних клітин і чужорідних патогенів шляхом активації традиційної системи комплементу та фагоцитуючих клітин через рецептори Fc. Якщо він активується аутоантитілами з фосфатидилхоліновим плечем, то це викликає аутоімунні процеси. Підвищені рівні СРБ зберігаються при таких станах, як хронічне запалення або ревматоїдний артрит [56].

Тому С-реактивний білок визначається в сироватці крові при різних запальних і некротичних процесах, та виступає показником гострої фази їх перебігу. Свою назву він отримав у зв'язку зі здатністю преципітувати С-полісахарид клітинної стінки пневмокока.

Відомо, що СРБ в основному синтезується гепатоцитами і може збільшуватися в 1000 разів у місцях інфікування. Нативна форма СРБ – це гомопентамерний білок, який постійно розщеплюється на п'ять мономерних форм СРБ. Проте гладком'язові клітини, макрофаги, ендотеліальні клітини, лімфоцити та адипоцити також здатні продукувати СРБ. На рівні СРБ також може впливати естроген, який використовується в замісній гормональній терапії.

СРБ можна знайти у двох різних станах – нативному пентамерному та мономерному – і ці дві форми можуть приєднуватися до різних рецепторів або ліпідних рафтів, щоб набувати різних функціональних характеристик. Хоча деякі дослідження показали, що СРБ також пов'язаний з хронічним запаленням, він визнаний біомаркером гострого запалення, що засвідчує його клінічну важливість [50].

Отже, у хворих на ревматоїдний артрит підвищення показника ШОЕ до 55 мм/год та зростання рівня С-реактивного протеїну > 50 мг/л в сироватці крові під час перебігу розгорнутої форми захворювання можна розглядати як діагностичний критерій медіаторних реакцій при загостренні системної запальної відповіді організму.

У клініко-біохімічній практиці для підтвердження прояву та перебігу РА визначають ревмопроби – це комплекс імунологічних аналізів крові, які включають аналіз на виявлення ревматоїдного фактора та антитіл до антистрептолізину-О. Ревмопроби можуть проводитися як самостійно, так і бути частиною повного імунологічного обстеження [23].

Аналіз отриманих результатів засвідчує значне підвищення рівня ревматоїдного фактору в сироватці крові хворих із ревматоїдним артритом з максимальними значеннями (до 85 МО/мл) у розгорнутій фазі захворювання (рис.

3.3). Відомо, що якщо при оцінці ревмопроб виявлено високий рівень ревмофактора, то він виступає симптомом ревматоїдного поліартрититу (ураження суглобів і сполучної тканини), незначно підвищений – зазвичай виникає при будь-якому хронічному інфекційному запаленні, тому що внаслідок тривалого подразнення імунної системи починають з'являтися аутоантитіла в невеликій кількості. Тому отримані нами значення чітко вказують саме на ознаки ревматоїдного поліартрититу.

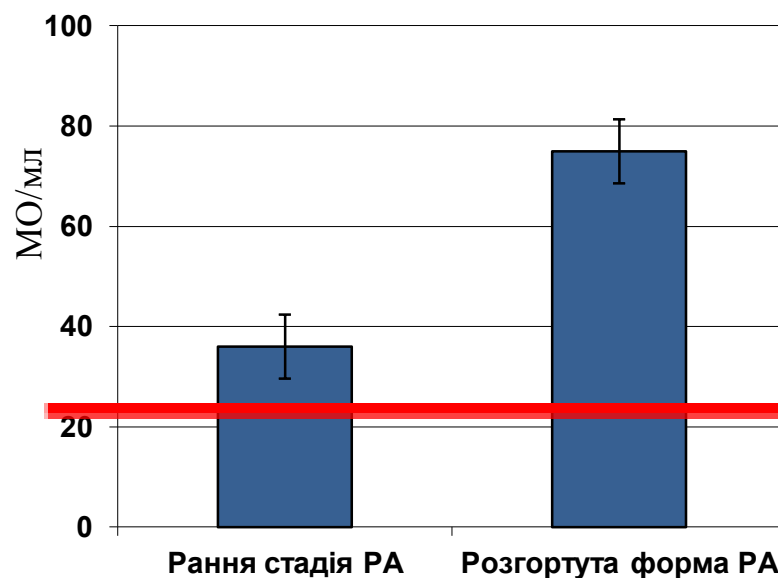


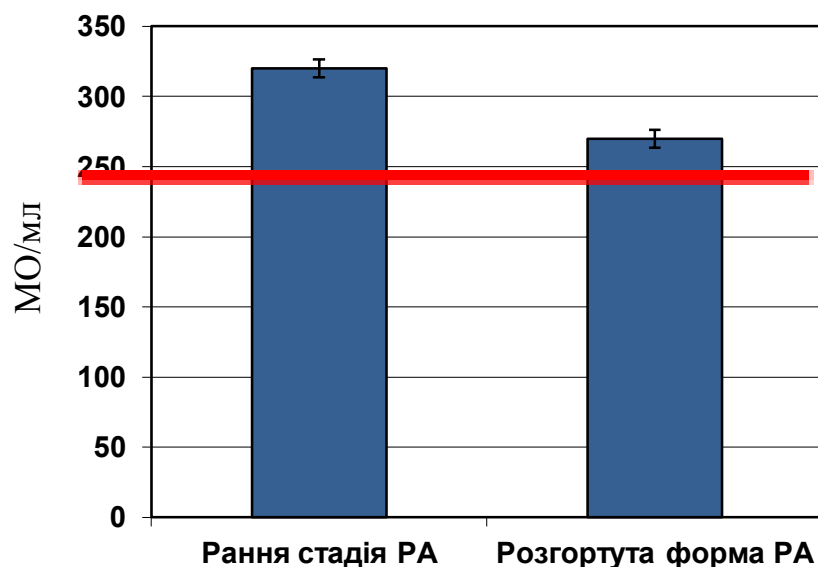
Рис. 3.3. Концентрація ревматоїдного фактора у сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

Ревматоїдний фактор (РФ) – це сімейство аутоантитіл, спрямованих проти Fc фрагмента молекули імуноглобуліну IgG. Найчастіше виявляється РФ класу IgM. До складу цієї родини входять РФ, представлені основними класами імуноглобулінів – IgG, IgM та IgA. Існуючі стандарти сироватки враховують тільки РФ класу IgM, таким чином, в міжнародних одиницях (МО/мл) може бути отримана відповідь тільки за РФ класу IgM. Рекомендована норма становить до 25 МО/мл, тоді як виявлення значних концентрацій (> 40 МО/мл) характерно для серопозитивного РА з великим ризиком деструктивного артрититу [16].

При класичному ревматоїдному артриті можна виявити РФ у 70-80% хворих, що дозволяє класифікувати РА на серопозитивну та серонегативну форми. Очевидно, що серонегативний ревматоїдний артрит протікає м'якше і рідше призводить до тяжких форм деструкції суглобів. Однак такий поділ не абсолютний, тому що нерідкі випадки сероконверсії з серонегативної у серопозитивну форму.

Проте, слід зазначити, що специфічність виявлення РФ при РА невисока й у лабораторній практиці складає 60-70%. Це означає, що кожен 3-4 позитивний тест виявляється у хворого без РА. Так, частота виявлення концентрацій РФ, що перевищують 25 МО/мл, у здорових людей середнього віку становить близько 3% і збільшується до 10–15% у людей похилого віку старше 65 років. Відзначаються діагностичні концентрації РФ при системних захворюваннях сполучної тканини, інфекційних та гематоонкологічних захворюваннях. При синдромі Шегрена ревматоїдний фактор виявляється у 90-95% хворих, що робить його важливим лабораторним маркером захворювання [20].

Водночас в сироватці крові хворих проводили тест на визначення антистрептолізину-О – це антитіла до стрептокока, які утворюються в організмі після контакту зі збудником. Домінуюче значення в патології людини мають гемолітичні стрептококи групи А, що викликають численні клінічні прояви інфекції.



3.4. Концентрація антистрептолізину-О в сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

Найбільш важливим захворюванням, яке розвивається в результаті стрептококової інфекції, є ревматизм та його ускладнення.

Антистрептолізин-О (АСЛ-О) – антитіла проти стрептококового гемолізину-О. АСЛ-О є маркером гострої стрептококової інфекції. Рівень АСЛ-О підвищується у гострий період інфекції та знижується в період реконвалесценції та одужання. У клінічній практиці визначення АСЛ-О використовують для первинної та диференціальної діагностики. Також АСЛ-О має велике значення для спостереження за динамікою перебігу як самого ревматичного процесу, так і за ефективністю терапії, що проводиться при цьому. До 6-8 тижня захворювання на ревматизм титр значно підвищується, досягаючи максимуму до 2-3 місяців.

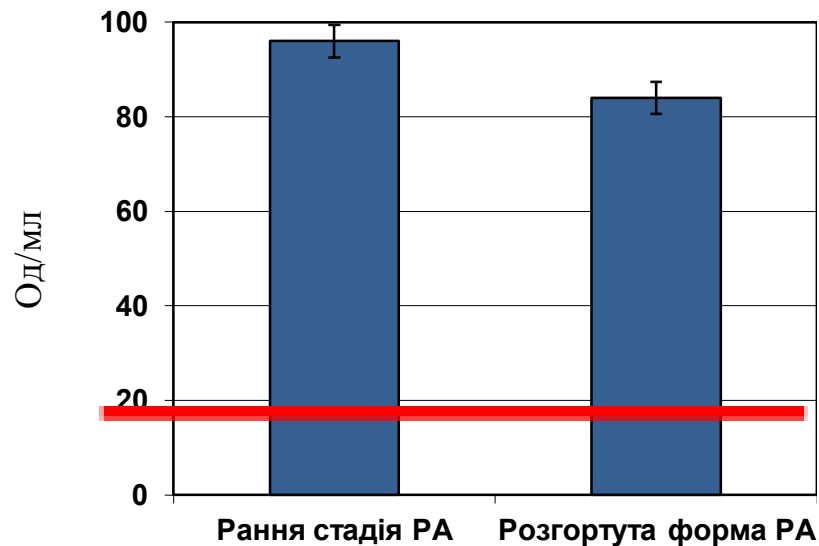
Саме стрептококова інфекція здатна запускати аутоімунні реакції в організмі пацієнта, що може призводити до появи ревматоїдного фактора (РФ), антиімуноглобулінів та інших аутоантитіл. Це може викликати труднощі при диференційній діагностиці, тому не можна бути впевненим, що за наявності позитивного АСЛ-О та аутоантитіл, ці аутоантитіла не є наслідком ревматичного процесу.

Однак, нині важливим параметром, який допомагає встановити ранній діагноз РА та почати лікування, є антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду (anti-CCP). Оскільки запалення відіграє центральну роль у патогенезі РА, запропоновано та продемонстровано, що anti-CCP може активувати імунні клітини та посилювати продукцію прозапальних цитокінів [20].

З рис. 3.5 видно, що на ранній стадії розвитку РА рівень антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (anti-CCP) в сироватці крові хворих зростає до 96 Од/л, що практично в 5 разів перевищує значення референтних значень норми та залишається в діапазоні значень 84 Од/л під час розгорнутої стадії захворювання (рис. 3.5).

Виявлення антитіл до циклічного цитрулінового пептиду – це аналіз, який дозволяє виявити ревматоїдний артрит на ранніх стадіях захворювання. Виявлені антитіла належать до класу IgG. Вони розпізнають білки, що містять

амінокислоту цитрулін. За фізіологічних умов цитрулін – непротеїногенна амінокислота. Цитрулін утворюється в результаті дезамінування аргініну під дією ферменту пептидиларгініндезамінази (у вигляді ізоформ PAD2 та PAD4). При запаленні значна кількість даного ензиму виявляється у синовіальній рідині.



3.5. Рівень антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (anti-CCP) в сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

Аргінінові залишки поширені у білках синовіальної рідини. Цитрулінування білка часто зустрічається при диференціюванні клітин, запальних реакціях, апоптозі клітин у процесі старіння. Цитрулінування впливає на структуру білка, який розпізнається імунною системою як «чужорідний»

Ізоферменти PAD2 і PAD4 цитрулінують багато синовіальних білків, включаючи віментин. ЦЦП активують Т-лімфоцити і зв'язуються з HLA-DR4 на поверхні антиген-представляючих клітин. anti-CCP виявляються у 76% хворих на РА. Діагностична чутливість цих антитіл для РА становить 78%, специфічність – 96%. Дослідження даних антитіл необхідно використовувати для ранньої діагностики, оскільки частота їх виявлення вище у пацієнтів із нетривалим анамнезом захворювання порівняно з іншими антитілами. Наявність anti-CCP може бути прогностичним показником розвитку ерозивного ревматоїдного артриту [13].

Підвищений рівень даних антитіл також засвідчує високий ступінь пошкодження хряща суглоба, а також дозволяє прогнозувати швидкість руйнування суглобів на ранньому етапі хвороби. Тому наявність anti-CCP в крові – несприятливий прогноз розвитку РА. Якщо РФ і антитіла до циклічного цитрулінового пептиду діагностовані в сукупності, це дозволяє виявити ревматоїдний артрит на ранній стадії і провести своєчасну ефективну терапію.

Отже, визначення антитіл до циклічного цитрулінового пептиду є чутливим та високоспецифічним серологічним тестом для діагностики ревматоїдного артриту на ранніх стадіях захворювання (від 6 місяців до 1 року). Підвищений рівень anti-CCP у пацієнтів із недиференційованим артритом свідчить про трансформацію у РА. У пацієнтів з високими титрами anti-CCP та ревматоїдного фактора відзначається більш виражене пошкодження хрящової тканини суглобів. Визначення anti-CCP використовують для прогнозу ризику розвитку ерозивного артриту та необхідності ведення більш агресивної тактики лікування на початку захворювання, щоб запобігти подальшому руйнуванню суглобів на ранній стадії хвороби.

РА прискорює процес втрати кісткової маси, і тому є визнаним чинником ризику остеопорозу. Внаслідок цього, порівняно із загальною популяцією, у людей з цим захворюванням ризик отримати низькоенергетичний перелом у 1,5 рази вищий. Чим важче РА, тим більше страждають кістки.

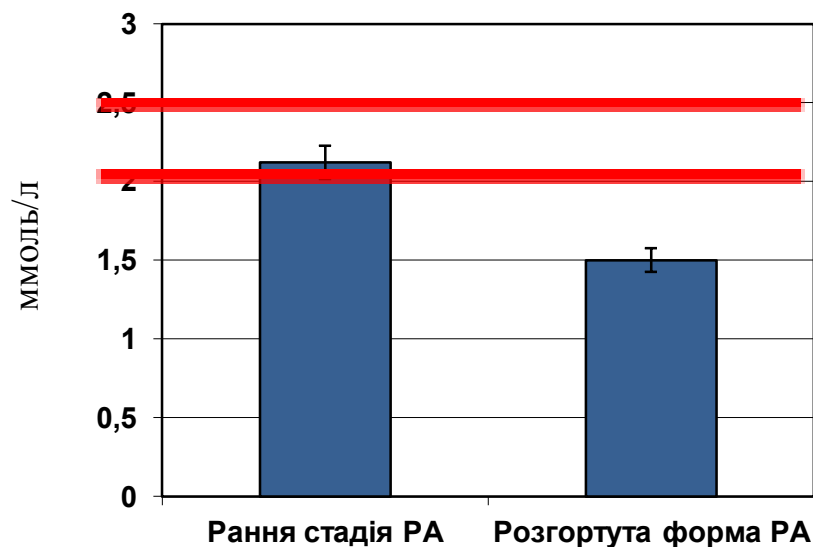
Захворюваність на ОП спричинена кількома факторами серед пацієнтів з РА. По-перше, ревматоїдний артрит є хронічним запальним захворюванням, що призводить до інвалідизації, пов'язане зі зниженням рухливості та фізичної активності, а також зниженням м'язової маси та саркопенією, всі фактори, які, як відомо, мають шкідливий вплив на кісткову масу. По-друге, протягом кількох років відомий безпосередній вплив запалення на щільність кісткової тканини, особливо у діагностованих пацієнтів з РА [29].

У кістковій тканині постійно протікає два протилежні процеси – резорбція старої кістки та синтез нової. Кісткова маса в кожний період часу залежить

від збалансованості цих процесів, тому захворювання скелета, що супроводжуються патологічним зниженням кісткової щільності, протікають або з прискоренням кісткової резорбції, або уповільненням синтезу кісткової тканини.

У лабораторно-діагностичній практиці відомо про необхідність дослідження рівня загального кальцію в сироватці крові в пацієнтів з ревматоїдним артритом, щоб виключити ризик розвитку системного остеопорозу. Що стосується визначення рівнів основних кальцій-регулюючих гормонів (ПТГ, вітамін D), їх рівні рекомендовано визначати тільки для диференційної діагностики між первинним та вторинним остеопорозом. Ця ситуація не викликає складнощів, коли є клінічні та (або) анамнестичні дані, що дозволяють думати про розвиток вторинного остеопорозу.

Нами відмічено, що в хворих із розгорнутою формою ревматоїдного артриту спостерігається гіпокальціємія за рахунок зниження вмісту загального кальцію в сироватці крові (рис. 3.6), тоді як на ранній стадії захворювання зміни щодо даного показника не зареєстровані.



3.6. Вміст загального кальцію в сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

Значні запаси кальцію в організмі людини (близько 1000-1300 г у дорослої людини) дозволяють вважати його макроелементом, а безпосередня уч-

асть цього іона у внутрішньо- та позаклітинних фізіологічних процесах дає підставу відносити його до мікроелементів. Практично весь кальцій в організмі людини (99% від загальної кількості) зосереджений у скелеті (у вигляді гідроксиапатиту) і тільки 1% знаходиться поза кістковою тканиною. У сироватці крові 40% кальцію пов'язано з білком, 10% утворює комплекси з цитратом, лактатом, бікарбонатом, а 50% циркулює у вільному стані [43].

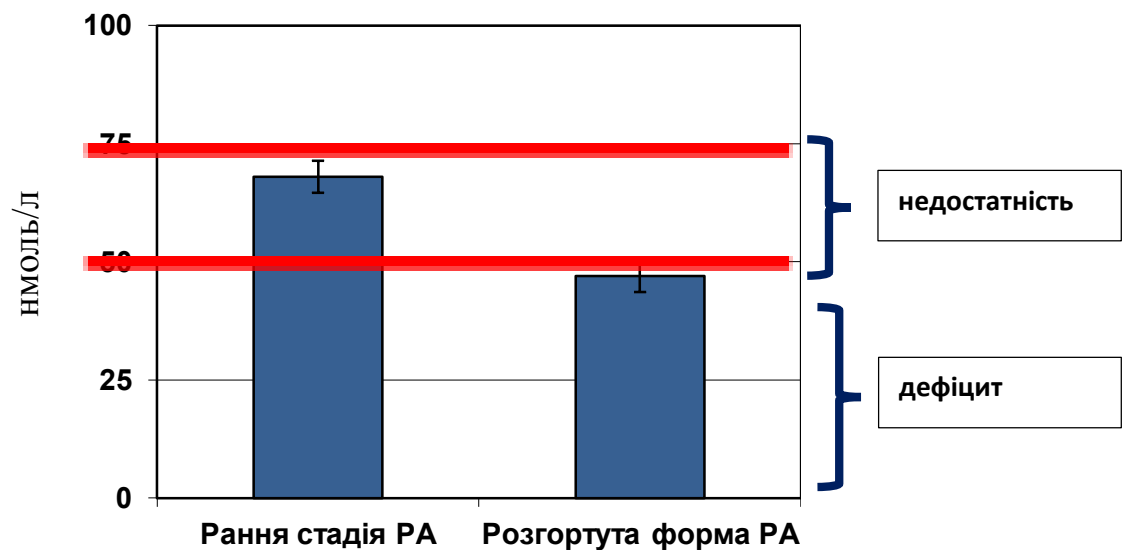
Рівень кальцію в крові залежить від надходження кальцію з їжею та всмоктування його в кишечнику, резорбції кісткової тканини, виведення кальцію з організму через нирки та ШКТ [44].

Той факт, що концентрація кальцію повинна утримуватися в строго певному вузькому діапазоні, диктує необхідність високої організації та складної взаємодії регуляторних механізмів. Концентрація кальцію регулюється відразу трьома гормонами: ПТГ, вітаміном D (D-гормоном), кальцитоніном. Секреція кожного з гормонів вкрай чутлива до концентрації іонізованого кальцію та впливає на всмоктування, екскрецію та реабсорбцію кальцію [40].

Більше 95% випадків остеопорозу в жінок і близько 80% у чоловіків є первинною формою, і, отже, не мають певної основної причини. Більшість випадків спостерігаються у жінок у постменопаузному періоді та у літніх чоловіків. Однак, певні умови можуть прискорити подальшу втрату кісткової тканини у хворих на первинний остеопороз. Гонадна недостатність є важливим чинником як чоловіків, так жінок; інші фактори включають зниження споживання кальцію, низький рівень вітаміну D, деякі ліки, зокрема глюкокортикостероїди, рекомендовані при лікуванні РА та гіперпаратиреоїдит. Деякі пацієнти мають недостатній рівень споживання кальцію в період юності, коли відбувається інтенсивне зростання кісток і таким чином ніколи не досягають необхідного піку кісткової маси [46].

Основний механізм втрати кісткової тканини – підвищена резорбція кістки, що призводить до зниження маси кісткової тканини та зношування на мікроархітектурному рівні, але іноді порушується і сам процес остеогенезу. Механізми розвитку остеопорозу полягають у локальних змінах у виробленні

цитокінів, які збільшують резорбцію кістки, сприяючи диференціюванню та дозріванню остеокластів. Порушення формування кістки, можливо, обумовлене віковим зниженням кількості та активності остеобластів, частково пов'язане з цитокін-опосередкованим збільшенням рівня білка склеростину. Інші фактори також впливають на резорбцію кісткової тканини, такі як паратиреоїдний гормон (ПТГ) та вітамін D, що підтверджується за результатами аналізів (рис. 3.7)



3.7. Вміст вітаміну D (25-гідроксикальциферолу) в сироватці крові хворих ревматоїдним артритом

Загальний ефект дії вітаміну D на організм спрямований на стимуляцію всмоктування кальцію в кишечнику, а також участь у регуляції кісткового ремоделювання та мінералізації кісткової тканини. Іншого такого стимулятора всмоктування кальцію в організмі немає. Крім того, вітамін D впливає на реабсорбцію кальцію та фосфору в ниркових канальцях.

Всмоктування кальцію та фосфору в кишечнику – найбільш вагомий внесок вітаміну в підтримку нормокальціємії. Ефект вітаміну D реалізується у кілька етапів. Отриманий із їжею або вітамін D, що утворився в шкірі, надходить в печінку, де відбувається його гідроксилювання по 25 атому вуглецю з утворенням кальцидіолу ($25(\text{OH})\text{D}_3$). Надалі кровотоком кальцидіол надхо-

дить у нирки, де відбувається друге гідроксилювання з утворенням метаболічно активної форми вітаміну D – кальцитріолу ($1,25(\text{OH})\text{D}_3$). Від функціонального стану печінки та нирок залежить значною мірою активація вітаміну D і, стан кальцієвого обміну [58].

Водночас трансформація вітаміну D залежить кількості вітаміну D в організмі, тобто здійснюється саморегуляція кількості активного гормону. При недостатній забезпеченості вітаміном D посилюється утворення його гормонально-активної форми і збільшується всмоктування вітаміну D в кишечнику і, навпаки, при надлишку вітаміну D, пригнічується синтез активної його форми. Це вказує, що синтез вітаміну D та його активація зазнають чіткої фізіологічної регуляції, існує надійна система захисту від гіперпродукції вітаміну D та інтоксикації організму в умовах підвищеної інсоляції [45].

Отже, в умовах перебігу ревматоїдного артриту, зокрема його розгорнутої форми, виникнення гіпокальціємії погіршується вітамін D-дефіцитним станом, що може виступати додатковим фактором ризику остеопорозу.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на ревматоїдний артрит підвищення показника ШОЕ до 55 мм/год та зростання рівня С-реактивного протеїну > 50 мг/л в сироватці крові під час перебігу розгорнутої форми захворювання можна розглядати як діагностичний критерій загострення системної запальної відповіді організму.
2. Максимальне зростання рівня ревмофактора при розгорнутій стадії РА до 75 МО/мл засвідчує розвиток ревматоїдного поліартриту (ураження суглобів і сполучної тканини) на тлі підвищення титр антистрептолізину-О ще в період ранньої стадії патології.
3. Визначення антитіл до циклічного цитрулінового пептиду є чутливим та високоспецифічним серологічним тестом для діагностики ревматоїдного артрити на ранніх стадіях захворювання у зв'язку з можливістю на його основі прогнозувати функціональну недостатність суглобів у пацієнтів із дебютом захворювання.
4. В умовах перебігу ревматоїдного артрити, зокрема його розгорнутої форми, виникнення гіпокальціємії погіршується вітамін D-дефіцитним станом, що може виступати додатковим фактором ризику остеопорозу.