МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Савицький Володимир Іванович

УДК: 616-005.6:616.151.5:612.115.3

ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІЮ ПРИ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ ТА СПОСОБИ ЇХ КОРЕКЦІЇ

22. Охорона здоров’я
222. Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____ В.І. Савицький

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор, з.д.н.т., Якименко Олена Олександрівна

Одеса – 2026

АНОТАЦІЯ

Савицький В. І. Патогенетичні механізми дисфункцію ендотелію при антифосфоліпідному синдромі та способи їх корекції. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2026.

Дисертація присвячена детальному вивченню патогенетичних ланок антифосфоліпідного синдрому, виявленню взаємозв'язку змін показників, що характеризують систему антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів, ендотеліальної дисфункції та системи гемостазу, а також підвищенню діагностичної ефективності та удосконаленню лікування хворих з даним захворюванням.

Дисертаційна робота проведена в два етапи. На першому етапі нами проведено ретроспективний аналіз лабораторних даних історій хвороб пацієнтів з можливим діагнозом антифосфоліпідний синдром. При проведенні збору анамнезу, фізикального огляду, оцінки лабораторних даних до дослідження були залучені пацієнти із антифосфоліпідним синдромом, які відповідали критеріям включення та розподілу на групи. На другому етапі проведено дослідження динаміки показників ендотеліальної дисфункції, системи антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів та гострофазових маркерів системного запального процесу за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому у щурів.

Ретроспективний аналіз медичних карт амбулаторного/стаціонарного хворого 54 пацієнтів з основним діагнозом: антифосфоліпідний синдром в період з 2016 р. до 2021 р., які знаходились на обстеженні та лікуванні у відділенні ревматології Багатопрофільного медичного центру Одеського національного медичного університету. Дослідження було проведено із

дотриманням морально-правових та біотичних норм згідно Гельсінської декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». Діагноз антифосфоліпідний синдром (МКХ-11 4А45; МКХ-10 ILDS D68.810) встановлювали за рекомендаціями EULAR (2019), Наказу Міністерства охорони здоров'я України від 08.10.2007 р. № 626 «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з «Антифосфоліпідним синдромом» та Наказу МОЗ України № 22 від 20.01.2015 р. «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з імунними захворюваннями».

Методом збору анамнестичних даних та результатів клінічного лабораторного обстеження, відповідно до чинних протоколів надання медичної допомоги та діагностичним критеріям антифосфоліпідного синдрому, ретроспективний аналіз підтверджує той факт, що у жінок антифосфоліпідний синдром зустрічається в 5 разів частіше, аніж у чоловіків. У загальній групі хворих тривалість даної патології на момент дослідження коливалась від 1 до 10 років. У всіх пацієнтів з антифосфоліпідним синдромом виявилися підвищені рівні сумарних антитіл. Фізикальні методи оцінки стану пацієнтів дозволили виявити наявність супутньої патології, зокрема, порушення з боку серцево-судинної системи, нирок, легень, а також шкірні та імунологічні прояви. Виявлено, що у пацієнтів чоловічої статі віком 20-44 років на тлі антифосфоліпідного синдрому найчастіше виявляли артралгії та поліартрит, а у чоловіків 45-59 років – шкірні прояви. У жінок вікової групи 20-44 років на тлі діагностованого антифосфоліпідного синдрому найчастіше відмічали шкірні прояви у вигляді сітчатого ліведо, артралгії та поліартрит, а також порушення серцево-судинної діяльності. У жінок вікової групи 45-59 років – артралгії та поліартрит та порушення серцево-судинної системи.

Також проведено дослідження загальноклінічних лабораторних показників (загальний аналіз крові та сечі, дослідження гемостазу, біохімічні показники крові (білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, С-реактивний білок,

ревматоїдний фактор, тимолова проба та білкові фракції).

На другому етапі дослідження проведені на 100 безпородних щурах-самцях масою 180-220 г, вирощених у розпліднику Одеського національного медичного університету, які були розподілені на 5 груп: 1-а група– інтактні тварини, які знаходились на стандартному раціоні віварію та отримували фізіологічний розчин об'ємом 1 мл (n=20); 2-а група – щури, яким моделювали антифосфоліпідний синдром (n=20); 3-я група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини дозою 0,5 г/кг ваги та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну на 0,9 % розчині натрія хлориду дозою 500 мг/кг (n=20); 4-а група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували внутрішньошлунково варфарин дозою 10 мг/кг маси тіла щура та внутрішньочеревинно імуноглобулін людини дозою 0,5 г/кг ваги (n=20); 5-а група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином (внутрішньошлунково дозою 10 мг/кг), введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини дозою 0,5 г/кг ваги та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну на 0,9 % розчину натрію хлориду дозою 500 мг/кг (n=20).

Робота з тваринами проводилася відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986 р.), Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. Всі больові маніпуляції були проведені під етамінал-натрієвим наркозом (вводили дозою 40 мг/кг внутрішньочеревинно).

У тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом спостерігалася позитивна реакція мікропреципітації з кардіоліпіновим

антигеном та розвиток гіперкоагуляції як за рахунок судинно-тромбоцитарної, так і коагуляційної ланок системи гемостазу, що свідчить про вірогідний розвиток даного захворювання. Встановлено збільшення рівня ендотеліну-1, який є маркером ендотеліальної дисфункції, що свідчить про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованої патології. Найбільш виражений позитивний ефект коригуючого впливу встановлений у групі тварин № 5: рівень ендотеліну-1 був статистично дуже високо значущо нижчим у порівнянні з результатами 2-ї, 3-ї та 4-ї груп ($p<0,05$). У порівнянні з даними інтактних тварин відмінностей не виявлено, що свідчить про нормалізацію даного маркера ендотеліальної дисфункції та вазоконстрикції.

Досліджено, що у тварин зі змодельованою патологією відмічалося вірогідне підвищення рівня оксиду азоту як в артеріальній, так і венозній крові відносно інтактних тварин відповідно. У групі № 5 спостерігалася нормалізація досліджуваного показника: рівень оксиду азоту артеріальної крові був вірогідно нижчим порівняно із групою нелікованих тварин. Аналогічні результати одержані і при вивченні оксиду азоту венозної крові – рівень вірогідно знижувався відносно щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом.

Вивчення рівнів NO-синтаз дало змогу стверджувати, що за умов експериментально змодельованої патології їх рівень змінюється: відмічається різке підвищення індуцибельної NO-синтази та зниження ендотеліальної NO-синтази, що підтверджує розвиток ендотеліальної дисфункції у даної групи щурів. Найбільш виражені за терапевтичною ефективністю позитивні результати експериментальної групи № 5 можна пояснити наступним чином. Оксид азоту, що утворюється з L-аргініну за допомогою ендотеліальної NO-синтази, забезпечує його секрецію для нормального функціонування судин. L-аргінін не тільки є донатором синтезу оксиду азоту, але й коригує ендотеіальну дисфункцію завдяки стимуляції активності ендотеліальної NO-синтази.

Вміст S-нітрозотіолів у крові свідчить про стан продукції оксиду азоту

та вазодилятаційного потенціалу. У групі № 2 встановлене вірогідне зниження рівня S-нітрозотіолів в крові тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом без подальшої корекції порівняно із інтактними тваринами. Найбільш позитивна динаміка встановлена при дослідженні вмісту S-нітрозотіолів у 5-й групі тварин, які отримували комплексну корекцію: виявлене вірогідне відновлення вмісту S-нітрозотіолів у порівнянні з даними груп № 2, 3 та 4 (на рівні значущості $p<0,05$). Одержані в даній групі результати досліджень обґрунтовані застосуванням комплексної терапії варфарину, імуноглобуліну та L-аргініну.

Доведене виражене підвищення рівню фактору Віллебранда ($p<0,05$) у крові щурів з експериментальним антифосфоліпідним синдромом. Найбільш виражений позитивний вплив корекції експериментального антифосфоліпідного синдрому спостерігався у групі № 5, в якій тварини на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином, імуноглобуліном та L-аргініном.

Виявлено, що розвиток експериментального антифосфоліпідного синдрому призводить до гіпергомоцистеїнемії у крові щурів ($p<0,05$). Відсутність статистичних відмінностей рівню гомоцистеїну у крові щурів груп № 5 і інтактної свідчить про максимально виражений позитивний ефект комплексної трьохкомпонентної корекції щодо патологічно підвищеного рівня гомоцистеїну при змодельованому антифосфоліпідному синдромі.

Застосування імуноглобуліну та варфарину в лікуванні щурів з експериментальним антифосфоліпідним синдромом, впливає на функціональний стан ендотелію, але меншою мірою. Найбільш суттєвий вплив на функцію ендотелію судин та його вазоконстрикторно-вазодилятаційний потенціал спостерігався при комплексному застосуванні варфарину, імуноглобуліну та розчину L-аргініну.

Враховуючи те, що дії системи вільнорадикального окиснення протистоїть потужна багатокомпонентна антиоксидантна система, яка виконує захисну функцію, надійно обмежуючи дію перекисного окиснення на всіх

етапах, нами було проведено вивчення показників антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів. Встановлено, що у тварин зі змодельованим антифосфоліпідних синдромом, рівень супероксиддисмутази ($p<0,05$), каталази ($p<0,05$) та відновленого глутатіону ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Зниження рівня каталази та відновленого глутатіону свідчить про залученість даних ферментів в патогенез адаптаційних порушень на клітинному рівні, які розвиваються при антифосфоліпідному синдромі.

Можна стверджувати, що активація процесів вільнорадикального окиснення, в тому числі і перекисного окиснення ліпідів, є типовим процесом дезорганізації структур і функцій органів і систем при антифосфоліпідному синдромі. Факторами ініціації вільнорадикального окиснення при антифосфоліпідному синдромі слугує пригнічення активності ферментативної ланки антиоксидантної системи, надлишкова витрата антиоксидантів внаслідок активації перекисного окиснення ліпідів, втрати антиоксидантних ферментів при порушенні цілісності клітинних мембран, що підтверджується одержаними експериментальним шляхом результатами. При застосуванні різних схем корекції найбільш ефективною виявилася комбінована терапія (група № 5), яка включала введення варфарину, імуноглобуліну людини та розчину L-аргініну. Одержані дані мають вірогідні відмінності порівняно із тваринами групи № 3 та № 4.

При дослідженні перекисного окиснення ліпідів у тварин із експериментальним антифосфоліпідним синдромом встановлено, що рівень дієнових кон’югатів, малонового диальдегіду різко підвищувалися ($p<0,05$) порівняно з інтактними тваринами. Оскільки дієнові кон’югати є первинними продуктами перекисного окиснення ліпідів, а накопичення малонового диальдегіду характеризує наявність пізніх продуктів пероксидації, одержані результати свідчать про розвиток вираженого перекисного окиснення ліпідів на тлі змодельованої патології.

Вичерпання буферної потужності, захисних систем при тяжких тривалих навантаженнях, у разі коли витрата антиоксидантів вище, аніж їх

біосинтез, відбувається окиснювальна деструкція біомембран клітин, що веде до розвитку каскаду патологічних реакцій, характерних для антифосфоліпідного синдрому.

У групі тварин № 5 спостерігалося врівноваження рівня дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду, що підтверджувалося відсутністю відмінностей порівняно із інтактними тваринами. Встановлено вірогідне зниження рівня даних показників (достовірність на рівні значущості $p<0,05$) порівняно із тваринами зі змодельованою патологією. Також відмічалися вірогідні відмінності на рівні значущості $p<0,001$ порівняно із тваринами експериментальних груп № 3 та № 4.

Дослідження патогенетичних особливостей маркерів запального процесу в розвитку антифосфоліпідного синдрому є особливо значущими. Нами було проаналізовано рівень С-реактивного білка, інтерлейкіну-6, фактору некрозу пухлин-α та тканинного фактору росту β-1.

У тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом відмічалося вірогідне зростання рівня С-реактивного білка, інтерлейкіна-6, фактору некрозу пухлин-α та тканинного фактору росту β-1 ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин. Взаємодія С-реактивного білка та клітин ендотелію призводить до зниження ендотеліальної NO-синтази, синтезу простацикліну, підвищення продукції інгібітору активатора плазміногену 1 типу, ендотеліну-1, інтерлейкіну-6, деяких молекул клітинної адгезії, які провокують міграцію макрофагів в субендотеліальний шар. Гіперпродукція різного класу антифосфоліпідних антитіл асоціюється із підвищенням рівнів маркерів запального процесу та зростанням тяжкості органних уражень.

У щурів групи № 5 рівень С-реактивний білок вірогідно знижувався ($p<0,05$) порівняно із тваринами контрольної патології та практично досягав рівня фізіологічного діапазону. Також відзначали достовірні відмінності порівняно із групою контрольної патології: зниження рівня інтерлейкіну-6, концентрації фактору некрозу пухлин-α ($p<0,05$), тканинного фактору ростуβ-1 ($p<0,05$). Вірогідних відмінностей між показниками групи № 5 та інтактними

тваринами не встановлено, що вказує на високу ефективність корекції за даною схемою.

У експериментальній групі № 5 застосування комплексної корекції варфарину, імуноглобуліну людини та розчину L-аргініну було найбільш ефективним порівняно із групою № 3 та № 4.

У проведеному дисертаційному дослідженні були доповнені та уточнені наукові дані динаміки клінічного стану, динаміки показників (рівнів АФА класів IgG та IgM, антитіл до двохспіральної ДНК та АФА IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro, загального аналізу крові та сечі, дослідження гемостазу, білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспартатамінотрансфераза (АсАТ), СРБ, ревматоїдний фактор).

Вперше удосконалену методику експериментального моделювання АФС шляхом підшкірного введення кардіоліпінового антигену сумарною дозою 0,2-0,4 мг через день протягом трьох тижнів, яка дозволила детально вивчити патогенетичні ланки даного захворювання.

Вперше проведено фундаментальне дослідження, присвячене вивченню ЕД за комплексною оцінкою ендотеліальних маркерів: рівнів NO в системному кровотоці, NO-синтаз, S-нітрозотіолів, ендотеліну-1, фактору Віллебранда (фВ), гомоцистеїну (ГЦ). Встановлено збільшення рівня ендотеліну-1, фВ та ГЦ, що свідчить про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованої патології, в той час як вазодилятаційна активність була зниженою (що підтверджувалося змінами рівнів NO та його синтаз).

Вперше встановлена провідна патогенетична роль АОЗ (рівня супероксиддисмутази (СОД), каталази та відновленого глутатіону (ВГ) та ПОЛ (рівень дієнових кон’югатів (ДК), малонового диальдегіду (МДА) в розвитку АФС та його можливих ускладнень.

Вперше доповнено наукові дані щодо впливу комплексної терапії, яка включає впровадження антикоагулянти, імуноглобуліни та ендотелій-

протекторні амінокислоти, на протікання та перебіг АФС.

Отримані результати застосовані у навчальному процесі на кафедрах фізіології, патологічної\ фізіології, медичної фізики та інформатики, біології та медичної хімії, внутрішньої медицини №1 ОНМедУ, на кафедрах патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського та Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіілогії імені Д.О. Альперна Харкіівського національного медичного університету. Отримані дані також впроваджені в практичну діяльність ревматологічного відділення Багатопрофільного медичного центру ОНМедУ та кардіологічного відділення КНП «Міська клінічна лікарня №10» Одеської міської ради.

Ключові слова: антифосфоліпідний синдром, патогенетичні механізми, ендотеліальна дисфункція, NO-синтаза, ендотелін-1, фактор Віллебранда, гомоцистеїн, запалення, антиоксидантна система, перекисне окислення ліпідів, судинна стінка, жорсткість судинної стінки, згортання крові, патогенетична корекція, ефективність лікування.

ABSTRACT

Savytskyi V. I. Pathogenetic mechanisms of endothelial dysfunction in antiphospholipid syndrome and methods of their correction.– Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Philosophy Doctor in 22 «Health Care», specialty 222 «Medicine». – Odessa National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Odessa, 2026.

The thesis is devoted to a detailed study of the antiphospholipid syndrome pathogenetic links, to the identification of the interrelationship of changes in indicators characterizing the system of antioxidant protection, lipid peroxidation, endothelial dysfunction and the hemostasis system, as well as pathogenetic

substantiation of the effectiveness of the various schemes for the correction of this disease.

The thesis was carried out in two stages. At the first stage, we performed a retrospective analysis of laboratory data of the disease histories of patients with a possible diagnosis of antiphospholipid syndrome. During the collection of anamnesis, physical examination, evaluation of laboratory data, patients with antiphospholipid syndrome who met the inclusion and allocation criteria were included in the study. At the second stage, a study of the dynamics of indicators of endothelial dysfunction, the antioxidant defense system, lipid peroxidation and acute-phase markers of the systemic inflammatory process under the conditions of experimental antiphospholipid syndrome in rats was conducted.

Retrospective analysis of outpatient/inpatient medical records of 54 patients with the main diagnosis: antiphospholipid syndrome in the period from 2016 to 2021, who were examined and treated in the rheumatology department of the Multidisciplinary Medical Center of Odesa National Medical University. The study was conducted in compliance with moral, legal and biotic norms in accordance with the Declaration of Helsinki "Ethical principles of medical research with the participation of a person as an object of research". The diagnosis of antiphospholipid syndrome (ICD-11 4A45; ICD-10 ILDS D68.810) was established according to the recommendations of EULAR (2019), Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 08.10.2007 No. 626 "Clinical protocol for providing medical care to patients with "Antiphospholipid syndrome" and the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 22 dated January 20, 2015 "Clinical protocol for providing medical care to patients with immune diseases".

Using the method of collecting anamnestic data and the results of clinical laboratory examination, in accordance with current medical care protocols and diagnostic criteria for antiphospholipid syndrome, a retrospective analysis confirms the fact that antiphospholipid syndrome occurs 5 times more often in women than in men. In the general group of patients, the duration of this pathology at the time of the study ranged from 1 to 10 years. All patients with antiphospholipid syndrome

had elevated levels of total antibodies. Physical methods of assessing the condition of patients made it possible to detect the presence of concomitant pathology, in particular, disorders of the cardiovascular system, kidneys, lungs, as well as skin and immunological manifestations. It was found that in male patients aged 20-44 years, against the background of antiphospholipid syndrome, arthralgia and polyarthritis were most often detected, and in middle-aged men - skin manifestations. In women of the age group of 20-44 years, on the background of the diagnosed antiphospholipid syndrome, skin manifestations in the form of reticular liver, arthralgia, and polyarthritis, as well as cardiovascular disorders, were most often noted. Women of the age group of 45-59 years have arthralgias and polyarthritis and disorders of the cardiovascular system.

It was also conducted study of general clinical laboratory indicators was also (general blood and urine analysis, hemostasis study, biochemical blood indicators (bilirubin, total protein, creatinine, glucose, bilirubin, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, C-reactive protein, rheumatoid factor, thymol test and protein fractions).

On the 2nd stage the research was conducted on 100 outbred male rats weighing 180-220 g, grown in the vivarium of Odesa National Medical University, which were divided into 5 groups: 1st group – intact animals that were on a standard vivarium diet and received physiological solution in the volume of 1 ml (n=20); 2nd group – rats, which were modeled antiphospholipid syndrome (n=20); 3rd group – animals that, against the background of simulated pathology, received correction by intraperitoneal injection of human immunoglobulin at a dose of 0.5 g/kg body weight and intragastric injection of a solution of L-arginine in a 0.9% sodium chloride solution at a dose of 500 mg/kg (n=20); 4th group –- animals that, against the background of simulated pathology, received warfarin intragastrically at a dose of 10 mg/kg of rat body weight and human immunoglobulin intraperitoneally at a dose of 0.5 g/kg of body weight (n=20); 5th group – animals that, against the background of simulated pathology, received correction with warfarin (intragastrically at a dose of 10 mg/kg), intraperitoneal administration of human

immunoglobulin at a dose of 0.5 g/kg of weight, and intragastric administration of L-arginine solution at 0.9 % sodium solution chloride at a dose of 500 mg/kg (n=20).

Work with animals was carried out in accordance with the "General Ethical Principles of Animal Experiments" (Ukraine, 2001), which is consistent with the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986), Order Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine No. 249 dated 01.03.2012 "Procedure for conducting experiments and experiments on animals by scientific institutions", Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty Treatment" No. 440-IX dated 14.01.2020 All painful manipulations were carried out under ethaminal-sodium anesthesia (administered at a dose of 40 mg/kg intraperitoneally).

Were observed in animals with simulated antiphospholipid syndrome, a positive microprecipitation reaction with cardiolipin antigen and the development of hypercoagulation due to both the vascular-platelet and coagulation links of the hemostasis system, which indicates the probable development of this disease. An increase in the level of endothelin-1, which is a marker of endothelial dysfunction, was found, which indicates an increase in the vasoconstrictor potential of vascular tone against the background of simulated pathology. The most pronounced positive effect of the corrective effect was established in the group of animals No. 5: the level of endothelin-1 was statistically very high and significantly lower compared to the results of the 2nd, 3rd and 4th groups ($p<0.05$). Compared with the data of intact animals, no differences were found, which indicates the normalization of this marker of endothelial dysfunction and vasoconstriction.

It was investigated that animals with simulated pathology had probable increase in nitric oxide level in both arterial and venous blood relative to intact animals, respectively. In group No. 5, the normalization of the studied indicator was observed: the level of nitric oxide in arterial blood was probably lower compared to the group of untreated animals. Similar results were obtained when studying nitric

oxide in venous blood - the level probably decreased relative to rats with simulated antiphospholipid syndrome.

The study of the levels of NO-synthase made it possible to state that under conditions of experimentally simulated pathology, their level changes: a sharp increase in inducible NO-synthase and a decrease in endothelial NO-synthase are noted, which confirms the development of endothelial dysfunction in this group of rats. The positive results of experimental group No. 5, most pronounced in terms of therapeutic effectiveness, can be explained as follows. Nitric oxide, formed from L-arginine with the help of endothelial NO-synthase, ensures its secretion for the normal functioning of blood vessels. L-arginine is not only a donor of nitric oxide synthesis, but also corrects endothelial dysfunction by stimulating the activity of endothelial NO-synthase.

The content of S-nitrosothiols in the blood indicates the state of nitric oxide production and vasodilation potential. In group No. 2, a probable decrease in the level of S-nitrosothiols in the blood of animals with simulated antiphospholipid syndrome was established without further correction compared to intact animals. The most positive dynamics was established when studying the content of S-nitrosothiols in the 5th group of animals that received complex correction: a probable restoration of the content of S-nitrosothiols was detected in comparison with the data of groups No. 2, 3 and 4 (at the significance level of $p<0.05$). The research results obtained in this group are based on the use of complex therapy of warfarin, immunoglobulin and L-arginine.

A pronounced increase in the level of the Willebrand factor ($p<0.05$) in the blood of rats with experimental antiphospholipid syndrome was proven. The most pronounced positive effect of the correction of the experimental antiphospholipid syndrome was observed in group No. 5, in which animals against the background of the simulated pathology received correction with warfarin, immunoglobulin and L-arginine.

It was found that the development of experimental antiphospholipid syndrome leads to hyperhomocysteinemia in the blood of rats ($p<0.05$). The absence of

statistical differences in the level of homocysteine in the blood of rats of groups No. 5 and intact testifies to the maximally pronounced positive effect of the complex three-component correction in relation to the pathologically elevated level of homocysteine in simulated antiphospholipid syndrome.

The use of immunoglobulin and warfarin in the treatment of rats with experimental antiphospholipid syndrome affects the functional state of the endothelium, but to a lesser extent. The most significant effect on the function of the vascular endothelium and its vasoconstrictor-vasodilatation potential was observed with the complex use of warfarin, immunoglobulin and L-arginine solution.

Taking into account that the action of the free radical oxidation system is opposed by a powerful multicomponent antioxidant system that performs a protective function, reliably limiting the action of peroxidation at all stages, we conducted a study of the indicators of antioxidant protection and lipid peroxidation. It was established that in animals with simulated antiphospholipid syndrome, the level of superoxide dismutase ($p<0.05$), catalase ($p<0.05$) and reduced glutathione ($p<0.05$) was higher compared to intact animals. A decrease in the level of catalase and reduced glutathione indicates the involvement of these enzymes in the pathogenesis of adaptive disorders at the cellular level that develop in antiphospholipid syndrome.

It can be argued that activation of free radical oxidation processes, including lipid peroxidation, is a typical process of disorganization of the structures and functions of organs and systems in antiphospholipid syndrome. Initiation factors of free radical oxidation in antiphospholipid syndrome are inhibition of the activity of the enzymatic link of the antioxidant system, excessive consumption of antioxidants due to activation of lipid peroxidation, loss of antioxidant enzymes when the integrity of cell membranes is violated, which is confirmed by experimental results. When applying different correction schemes, combined therapy (group No. 5), which included the administration of warfarin, human immunoglobulin, and L-arginine solution, proved to be the most effective. The obtained data have probable differences compared to animals of groups No. 3 and No. 4.

At the studying of lipid peroxidation in animals with experimental antiphospholipid syndrome, it was established that the level of diene conjugates and malondialdehyde increased sharply ($p<0.05$) compared to intact animals. Since diene conjugates are the primary products of lipid peroxidation, and the accumulation of malondialdehyde characterizes the presence of late peroxidation products, the obtained results indicate the development of pronounced lipid peroxidation against the background of the simulated pathology.

Depletion of the buffer capacity and protective systems during severe long-term loads, in the case when the consumption of antioxidants is higher than their biosynthesis, oxidative destruction of cell biomembranes occurs, which leads to the development of a cascade of pathological reactions characteristic of antiphospholipid syndrome.

In animal group No. 5, the level of diene conjugates and malondialdehyde was balanced, which was confirmed by the absence of differences compared to intact animals. A probable decrease in the level of these indicators was established (reliability at the level of significance $p<0.05$) compared to animals with simulated pathology. Probable differences at the significance level of $p<0.001$ were also noted compared to the animals of experimental groups No. 3 and No. 4.

The study of pathogenetic features of markers of the inflammatory process in the development of antiphospholipid syndrome is particularly significant. We analyzed the level of C-reactive protein, interleukin-6, tumor necrosis factor-α and tissue growth factor β-1.

In animals with simulated antiphospholipid syndrome, there was a significant increase in the level of C-reactive protein, interleukin-6, tumor necrosis factor-α and tissue growth factor β-1 ($p<0.05$) compared to the intact group of animals. The interaction of C-reactive protein and endothelial cells leads to a decrease in endothelial NO-synthase, prostacyclin synthesis, an increase in the production of type 1 plasminogen activator inhibitor, endothelin-1, interleukin-6, and some cell adhesion molecules that provoke the migration of macrophages into the subendothelial layer. Hyperproduction of various classes of antiphospholipid

antibodies is associated with increased levels of markers of the inflammatory process and increased severity of organ damage.

In rats of group No. 5, the level of C-reactive protein probably decreased ($p<0.05$) compared to animals with control pathology and practically reached the level of the physiological range. There were also significant differences compared to the control pathology group: a decrease in the level of interleukin-6, the concentration of tumor necrosis factor-α ($p<0.05$), and tissue growth factorβ-1 ($p<0.05$). No probable differences between the indicators of group No. 5 and intact animals were found, which indicates the high efficiency of correction according to this scheme.

In experimental group No. 5, the use of complex correction of warfarin, human immunoglobulin, and L-arginine solution was the most effective compared to groups No. 3 and No. 4.

In the thesis, the scientific data on the dynamics of the clinical condition, the dynamics of indicators (levels of AFA classes of IgG and IgM, antibodies to double-helical DNA and AFA IgG to the nuclear antigen SS-A/Ro, general blood and urine analysis, hemostasis studies, bilirubin , total protein, creatinine, glucose, bilirubin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), CRP, rheumatoid factor).

For the first time, the method of experimental modeling of APS by subcutaneous injection of cardiolipin antigen with a total dose of 0.2-0.4 mg every other day for three weeks was improved, which allowed to study in detail the pathogenetic links of this disease.

For the first time, a fundamental study devoted to the study of ED was conducted based on a comprehensive assessment of endothelial markers: levels of NO in the systemic bloodstream, NO-synthase, S-nitrosothiols, endothelin-1, Willebrand factor (fV), homocysteine (HC). An increase in the level of endothelin-1, FV and HC was found, which indicates an increase in the vasoconstrictor potential of vascular tone against the background of the simulated pathology, while the vasodilatory activity was reduced (which was confirmed by changes in the levels of

NO and its synthases).

For the first time, the leading pathogenetic role of AOZ (the level of superoxide dismutase (SOD), catalase and reduced glutathione (BG) and POL (the level of diene conjugates (DK), malondialdehyde (MDA)) in the development of APS and its possible complications was established.

For the first time, scientific data on the effect of complex therapy, which includes the introduction of anticoagulants, immunoglobulins and endothelium-protective amino acids, on the occurrence and course of APS have been supplemented.

The obtained results of the thesis were implemented in the research work of the departments and the educational process: The obtained results were applied in the educational process at the departments of physiology, pathological physiology, medical physics and informatics, biology and medical chemistry, internal medicine No. 1 of ONMedU, at the departments of pathological physiology of Ternopil National Medical University named after I.Ya. Horbachevsky, and at the Department of General and Clinical Pathological Physiology named after D.O. Alpern of Kharkiv National Medical University. The obtained data were also implemented in the practical activities of the rheumatology department of the Multidisciplinary Medical Center of ONMedU and the cardiology department of the Municipal Clinical Hospital No. 10 of the Odessa City Council.

Key words: antiphospholipid syndrome, pathogenetic mechanisms, endothelial dysfunction, NO synthase, endothelin-1, von Willebrand factor, homocysteine, inflammation, antioxidant system, lipid peroxidation, vascular wall, stiffness, blood coagulation, pathogenetic correction, treatment efficacy.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Mykhailiuk M. M., Gerasymenko T. V., Badiuk N. S. Dynamics of markers of endothelial

dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**).

2. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4**).
3. Савицький В. І., Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький І. В., Александрина Т. А. Аналіз динаміки активності каталази та суперокиддисмутази на тлі змодельованого антифосфоліпідного синдрому та при різних способах його корекції. Вісник морської медицини. 2021. N4. С. 112-116. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5837842
4. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364
5. Савицький В. І. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекці. Вісник морської медицини. 2022. N4 (97). С. 61-67. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7569983
6. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.
7. Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. №2(19). С. 97-104. doi: https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2023.13
8. М'ястківська І.В., Савицький В.І., Якимчук Н.В., Савицький І.В. Дослідження розвитку ендотеліальної дисфункції при нітритному навантаженні. Перспективи розвитку медичної науки і освіти. - Збірник

тез доповідей всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету (м. Суми, 16-17 листопада 2017 року). - С. 78-79.

9. Савицький І.В., Ленік Р.Г., Савицький В.І. Функціональний стан ендотелію судин при перитоніті. Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 61-62.
10. Yakymenko O.O., Klochko V.V., Savytskyi V.I. Pathogenetic links of antiphospholipid syndrome and possibilities of its correction. Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 81-82.
11. Yakymenko Olena, Vasylets Viktoria, Klochko Viktor, Savytskyi Vladimir, Tikhonchuk Natalya. Rituximab efficacy in caps. Lupus Science & Medicine. 2020. Vol. 7 (Suppl. 1). P. 31-32. doi: 10.1136/lupus-2020-eurolupus.55 (**SCOPUS Q1**).
12. Якименко О. О., Савицький В. І., Клочко В. В. Динаміка зміни S-нітрозотіолів при експериментальному антифосфоліпідному синдромі. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : матеріали XII Всеукр. наук.-практ. конф., присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О., м. Тернопіль, 29–30 жовт. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 116–117.
13. Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький В. І. Патогенез розвитку антифосфоліпідного синдрому та теоретичні можливості коригування. Механізми розвитку патологічних процесів та їхня фармакологічна корекція: матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнарод. участю, м. Харків, 19 листоп. 2020 р. Харків, 2020. С. 345–346.

14. Крюкова Г.В., Савицький І.В., Грицан І.І., Савицький В.І., Єрмуракі П.П., Кащенко В.Н. Атеросклероз як фактор ризику ускладнень перитоніту. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту 2021. – С. 121-123.
15. Крюкова Г.В., Савицький В.І., Мерза Я.М., Столяренко В. Н., Савицький І.В., Єрмуракі П.П., Шибовська Л.Г. Методи моделювання експериментального гестаційного антифосфоліпідного синдрому. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту 2021. – С. 124-125.
16. Савицький В. І., Якименко О. О. Порівняльна характеристика експериментальних моделей антифосфоліпідного синдрому. Youth pharmacy : матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 7-8 грудня 2021 р. Харків, 2021. С. 284–285.
17. Савицький В.І., Поліванова Н.П., Савицький І.В. Дослідження коморбідної серцево-судинної патології у пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом (ретроспективний аналіз). Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (19- 21 вересня 2024 р.). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. - С. 180-183.
18. Якименко О.О., Савицький В.І., Поліванова Н. П. Діагностичне значення маркерів дисфункції ендотелію в розвитку артеріальної гіпертензії. XXIII–і читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. - С. 155-157.

19. Савицький В. І., Поліванова Н. П., Савицький І. В. Retrospective analysis of comorbidity of cardiovascular pathology and antiphospholipid syndrome. XXIV–і читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. - С. 152-154.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ 26

ВСТУП 28

РОЗДІЛ 1 АНТИФОСФОЛІПІДНИЙ СИНДРОМ: СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ЕТІОПАТОГЕНЕЗУ, КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ ТА ПРИНЦИПІВ КОРЕКЦІЇ (Огляд літератури)…… 36

1.1. Клінічна характеристика антифосфоліпідного синдрому ……. 36

1.2. Сучасні методи діагностики…… 41

1.3. Особливості епідеміології та патогенезу……... 43

1.3.1 Механізми порушень системи гемостазу – основного клінічного критерію антифосфоліпідного синдрому…… 47

1.3.2 Антифосфоліпідні антитіла та їх роль в розвитку ендотеліальної дисфункції……. 52

1.3.3 Патогенетичні аспекти атеротромбозу за умов антифосфоліпідного синдрому: роль оксидантного стресу…….. 55

1.4. Сучасний підхід до лікування пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом ……. 60

Висновки до розділу 1…….. 63

РОЗДІЛ 2 ОБ’ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ…… 64

2.1. Матеріали дослідження пацієнтів …….. 64

2.2.1 Методи лабораторного обстеження пацієнтів….. 66

2.2.2 Методи інструментального обстеження пацієнтів 69

2.3. Матеріали та методи експериментального

дослідження…… 70
2.4. Методи статистичної обробки даних ……. 75
РОЗДІЛ 3 КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦІЄНТІВ 77
3.1. 3.1. Загальна характеристика пацієнтів…….. 77
Висновки до розділу 3…….. 87
РОЗДІЛ 4 ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ДИНАМІКИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АНТИФОСФО-ЛІПІДНОГО СИНДРОМУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ У ТВАРИН……..…… 90
4.1 Вивчення імунологічної активності та гемостазіологічних особливостей у щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом 90
4.2. Динаміка маркерів вазоконстрикторно-вазодилятаційного потенціалу крові щурів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому та його корекції……... 93
4.2.1 Дослідження рівню ендотеліну-1 у тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом 93
4.2.2 Вивчення ролі оксиду азоту в патогенезі антифосфоліпідного синдрому та при його корекції……. 95
4.2.3 Дослідження вмісту S-нітрозотіолів у тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом 95
4.3. Дослідження динаміки рівня фактору Віллебранда на тлі експериментального антифосфоліпідного синдрому та його корекції 102
4.4. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції 104

Висновки до розділу 4…… 106
РОЗДІЛ 5 ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА СИСТЕМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ПАТОГЕНЕЗІ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ…….. 110
5.1 Вивчення рівня супероксиддисмутази, каталази та відновленого глутатіону – ферментів антиоксидантного захисту на тлі антифосфоліпідного синдрому та його корекції 111
5.2 Дослідження системи перекисного окиснен5я ліпідів при антифосфоліпідному синдрому та за умов його корекції…… 115
5.3. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекції…….. 119
Висновки до розділу 5…… 124
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ…… 129
ВИСНОВКИ…….. 140
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ……... 143
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……. 144
ДОДАТКИ……. 168

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

aGAPSS	—	adjusted Global APS Score;
β2-ГП-І	—	β2-глікопротеїн-І
DIAPS	—	damage index APS;
Ig	—	імуноглобулін;
NO	—	оксид азоту;
S-NOS	—	S-нітрозіотіоли;
АКА	—	антитіла до кардіоліпоїну;
АлАТ	—	аланінімнотрансфераза;
АОЗ	—	антиоксидантний захист;
АОС	—	антиоксидантна система;
АсАТ	—	аспартатамінотрансфераза;
АСК	—	ацетилсаліцилова кислота;
АПС	—	активований протеїн С;
аПТа	—	антитромбінові антитіла;
АФА	—	антифосфоліпідні антитіла;
АФК	—	активні форми кисню;
АФС	—	антифосфоліпідний синдром;
АЧТЧ	—	активований частковий тромбопластиновий час;
ВГ	—	відновлений глутатіон;
ВРО	—	вільно-радикальне окиснення;
ВЧ	—	вовчаковий антикоагулянт;
ГДС	—	гострий дистрес-синдром;
ГЦ	—	гомоцистеїн;
ДВЗ-синдром	—	синдром дисемінованого внутрішньосудинного зсідання;
ДК	—	дієнові кон’югати;

ЕД	—	ендотеліальна дисфункція;
ІЛ	—	інтерлейкін;
ІТП	—	ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура;
ЛПВЩ	—	ліпопротеїди високої щільності;
ЛПНЩ	—	ліпопротеїди низької щільності;
МДА	—	малоновий диальдегід;
МНВ	—	міжнародне нормалізоване відношення;
ОС	—	окиснювальний стрес;
ПОЛ	—	перекисне окиснення ліпідів;
ПЧ	—	протромбіновий час;
СОД	—	супероксиддисмутаза;
СРБ	—	С-реактивний білок;
СЧВ	—	системний червоний вівчак;
ТФР-β-1	—	тканинний фактор росту β-1;
ТЧ	—	тромбіновий час;
фВ	—	фактор Віллебранда
ФНП-α	—	фактор некрозу пухлин-α

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Антифосфоліпідний синдром (АФС) відносять до числа найбільш актуальних мультидисциплінарних проблем сучасної медицини, яка привертає увагу клініцистів різноманітних областей [2, 5, 38, 46, 59]. Дана патологія характеризується тріадою клініко-лабораторних ознак: рецидивуючими венозними або артеріальними тромбозами з локалізацією у будь-якій ділянці кров'яного русла, акушерською патологією у вигляді первинного недоношення вагітності і внутрішньоутробної загибелі плоду з гематологічними порушеннями (тромбоцитопенією, гемолітичною анемією) [104, 111, 133, 139, 156, 183, 202].

АФС спочатку був описаний в рамках системного червоного вовчака (СЧВ), однак далі були встановлені тромботичні порушення, при відсутності достовірних клінічних і серологічних критеріїв цього або будь-якого іншого провідного захворювання. Для визначення нової нозологічної форми був запропонований термін – первинний АФС [38, 70, 205].

На даний час встановлено, що первинний АФС є поширеним аутоімунним процесом, в основі якого лежить утворення високого титру аутоантитіл до негативно заряджених мембранних фосфоліпідів і зв'язаними з ними глікопротеїнами. Основними мішенями антифосфоліпідних антитіл (АФА) є: кардіоліпін, фосфотидилсерін, фосфотидилетаноламин, фосфотидилова кислота, а із білкових компонентів – β2-глікопротеїн-I (β2-ГП-I), і протромбін. Ці АФА блокують фосфоліпід-білкові комплекси плазми, мембран клітин крові і ендотелію, що проявляється зниженням їх тромборезистентності, активацією тромбоцитарного гемостазу і дисбалансом в системі коагуляційного гемостазу [37, 41, 48, 76, 84, 94, 105, 121, 154].

Різноманітність клінічних проявів АФС від рецидивуючих венозних і артеріальних тромбозів, ранніх інфарктів й інсультів, до недоношення вагітності, тромбоцитопенії, синдрома Рейно, призводить до мозаїчності

клінічних проявів, ускладнень і лабораторних зрушень. Клінічні і морфологічні дослідження свідчать про те, що основу АФС становить своєрідна васкулопатія, пов'язана з тромботичним або оклюзивним пошкодженням судин. Спектр клінічних проявів антифосфоліпідної васкулопатії не менш різноманітний, ніж при іншій універсальній формі судинної патології – системних васкулітах. При цьому, на відміну від васкулітів або атеросклерозу, не відмічається виражених запальних або дегенеративних змін судинної стінки, що підкреслюють нозологічну самостійність АФС [8, 40, 41, 74, 106, 134, 144, 186, 217, 219].

В цілому аналіз всієї сукупності наявних на даний час факторів дозволяє розглядати АФС як унікальну модель аутоімунної тромбоцитарної васкулопатії, вивчення якої має суттєве значення для розшифрування взаємозв'язку між такими фундаментальними патологічними процесами, як атеросклероз, васкуліт, порушення зсідання крові, оксидативний стрес (ОС) і системи імунітету. У той самий час діагностика і лікування АФС базується на серологічних тестах, і мало уваги приділяється гемостатичним маркерам і ендотеліальній дисфункції (ЕД) при цій патології [33, 39, 45, 51, 52, 53, 108].

Недостатньо чітко визначена роль етіологічних факторів, пускові механізми (у тому числі на початкових етапах формування АФС), мало вивчені біохімічні маркери захворювання, несформовані ефективні схеми лікування АФС. До кінця не розв'язана проблема лікування хворих з АФС, що обумовлено неоднорідністю патогенетичних механізмів, клінічних проявів і відсутністю достовірних клініко-лабораторних показників, які дозволяють прогнозувати рецидивування тромботичних ускладнень.

Таким чином, виникає необхідність у вирішенні вищезазначених завдань, що важливо для комплексного дослідження хворих з метою уточнення патогенезу, більш повної і ранньої діагностики АФС і визначення оптимальних тестів для моніторингу проведеної терапії і створення схем корекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційне дослідження аспіранта Савицького Володимира Івановича на тему: «Патогенетичні механізми дисфункції ендотелію при антифосфоліпідному синдромі та способи їх корекції» виконано відповідно до основного плану науково-дослідних робіт Одеського національного медичного університету МОЗ України, а саме НДР кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб на тему «Клінічні та патогенетичні особливості остеопорозу, його діагностика, профілактика та лікування при коморбідній патології», (номер державної реєстрації 0121U113936, термін виконання 2021-2026 р.р.).

Фрагмент цієї роботи, присвячений більш детальному вивченню патогенетичних ланок АФС, виявленню взаємозв’язку змін показників, що характеризують систему антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів, ендотеліальної дисфункції та системи гемостазу, а також патогенетичному обґрунтуванню ефективності застосування різних схем корекції даного захворювання.

Дисертант був співвиконавцем зазначеної теми. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради медичного факультету №1 ОНМедУ від 19.05.2019 року (протокол № 10)..

Мета дослідження – підвищення ефективності комплексної медикаментозної корекції хворих з антифосфоліпідним синдромом на підставі розширення сучасних уявлень стосовно патогенезу даного захворювання.

Завдання дослідження.

1. Провести ретроспективний аналіз історій хвороб пацієнтів зі встановленим антифосфоліпідним синдромом, на основні анамнезу анамнестичних даних, опитування, даних клінічних станів, результатів лабораторних та інструментальних досліджень виявити та доповнити особливості клінічного стану та перебігу антифосфоліпідного синдрому.

2. Експериментально відтворити модель антифосфоліпідного синдрому

у лабораторних щурів та провести дослідження показників (імунологічної активності та гемостазіологічних маркерів), що підтверджують розвиток даної патології, а також оцінити вплив комплексної корекції даного захворювання.

3. Вивчити роль ендотеліальної дисфункції як ключової патогенетичної ланки антифосфоліпідного синдрому за змінами концентрації в крові ендотеліну-1, фактору Віллебранда та гомоцистеїну за умов змодельованої патології.

4. Дослідити динаміку NO, NO-синтаз та S-нітрозотіолів у тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом.

5. Проаналізувати активність про- та антиоксидантної системи при експериментальному антифосфоліпідному синдромі.

6. Дослідити зміни гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі змодельованої патології.

7. Проаналізувати ефективність розробленої терапії антифосфоліпідного синдрому шляхом введення варфарину, імуноглобуліну та L-аргініну на основі дослідження порушень функціонального стану ендотелію, антиоксидантного захисту, перекисного окислення ліпідів та системного запалення.

Об'єкт дослідження: АФС.

Предмет дослідження: динаміка клінічної картини, лабораторних, інструментальних показників перебігу АФС, показники, що характеризують ЕД, систему АОЗ та ПОЛ, гострофазові маркери запального процесу; ретроспективний аналіз історій хвороб.

Методи дослідження: загальноклінічні (аналіз анамнезу, скарг, фізикальне обстеження, лабораторні (загальний аналіз крові та сечі, дослідження гемостазу, загальновживані біохімічні показники крові: білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспартатамінотрансфераза (АсАТ), С-реактивний білок (СРБ), ревматоїдний фактор, тимолова проба, білкові

фракції), інструментальні дослідження (визначення артеріального тиску; електрокардіографія в 12 стандартних відведеннях), патофізіологічні (моделювання патологічного процесу), біохімічні, фармакологічні, методи статистичного аналізу (параметричні, перевірка досліджуваних рядів кількісних даних на нормальність за допомогою критерія Шапіро-Уілка).

Наукова новизна отриманих результатів. У проведеному дисертаційному дослідженні були доповнені та уточнені наукові дані динаміки клінічного стану, динаміки показників (рівнів АФА класів IgG та IgM, антитіл до двохспіральної ДНК та АФА IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro, загального аналізу крові та сечі, дослідження гемостазу, білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, АлАТ, АсАТ, СРБ, ревматоїдний фактор).

Вперше удосконалену методику експериментального моделювання АФС шляхом підшкірного введення кардіоліпінового антигену сумарною дозою 0,2-0,4 мг через день протягом трьох тижнів, яка дозволила детально вивчити патогенетичні ланки даного захворювання.

Вперше проведено фундаментальне дослідження, присвячене вивченню ЕД за комплексною оцінкою ендотеліальних маркерів: рівнів NO в системному кровотоці, NO-синтаз, S-нітрозотіолів, ендотеліну-1, фактору Віллебранда (фВ), гомоцистеїну (ГЦ). Встановлено збільшення рівня ендотеліну-1, фВ та ГЦ, що свідчить про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованої патології, в той час як вазодилятаційна активність була зниженою (що підтверджувалося змінами рівнів NO та його синтаз).

Вперше встановлена провідна патогенетична роль АОЗ (рівня супероксиддисмутази (СОД), каталази та відновленого глутатіону (ВГ) та ПОЛ (рівень дієнових кон’югатів (ДК), малонового диальдегіду (МДА) в розвитку АФС та його можливих ускладнень.

Вперше доповнено наукові дані щодо впливу комплексної терапії, яка включає впровадження антикоагулянти, імуноглобуліни та ендотелій-

протекторні амінокислоти, на протікання та перебіг АФС.

Практичне значення отриманих результатів.

При ретроспективному аналізі карт історій хвороб пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом вперше встановлено суттєве зростання випадків супутньої або обтяжуючої патології в обстеженому контингенті хворих Одеського регіону. При цьому найчастіше реєстрували випадки судинної патології в тиках хворих у вигляді ендотеліальної дисфункції.

Отримані дані були запропоновані лікарям міської ланки первинної медичної дпомоги, сімейним лікарям, терапевтам, кардіологам та лікарям суміжних спеціальностей в якості алгоритму дій при виявленні коморбідної патології у хворих з антифосфоліпідним синдромом.

За експериметальних умов обгрунтовано в патофізіологічному аспекті діагностичну цінність ферментів антиоксиздатного захисту за умов ймовірного розвитку антифосфоліпідного синдрому.

Вперше за експериментальних умов виявлено ефективність маркерів розвитку ендотеліальної дисфункції при антифосфоліпідному синдромі. З числа перевірених за умов тествіоаної моделі антифосфоліпідного синдрому маркерів ендотеліальної дисфункції найбільш вагомим з патофізіологоінчоїх толчки зору виявилося встановлення активності NO-синтази, що висвітлює вагому патогнетеичну значущість нітратергічних патогенетичних механізмів за умов досліджуваної патології.

Отримані результати застосовані у навчальному процесі на кафедрах фізіології, патологічної\ фізіології, медичної фізики та інформатики, біології та медичної хімії, внутрішньої медицини №1 ОНМедУ, на кафедрах патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського та Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіілогії імені Д.О. Альперна Харкіівського національного медичного університету. Отримані дані також впроваджені в практичну діяльність ревматологічного відділення Багатопрофільного медичного центру ОНМедУ та кардіологічного відділення КНП «Міська клінічна лікарня №10» Одеської міської ради.

Особистий внесок здобувача. Дисертант особисто провів патентно-інформаційний пошук, проаналізував наукову літературу, разом із науковим керівником визначив мету й завдання, обрав методи дослідження, самостійно розробив дизайн та етапи дослідження, сформував групи пацієнтів, експериментальних лабораторних тварин; здійснив дослідження розділів роботи, обробку отриманих даних та статистичний аналіз. Автор провів аналіз в динаміці отриманих даних та написав всі розділи дослідження, підготував та оформив всі отримані результати до друку. Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Клочко В.В., Савицьким І.В., Герасименко Т.В., Бадюк Н.С., Александрина Т.А., М'ястківською І.В., Якимчук Н.В. Співавтором всіх наукових робіт є науковий керівник, доктор медичних наук, професор Якименко О.О. В опублікованих наукових працях у співавторстві дисертанту належить зібраний матеріал. Постановка мети роботи, завдань, обговорення отриманих результатів були проведено разом із науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації опубліковані в наукових журналах, в матеріалах наукових форумів. Матеріали дисертації були представлені на: Всеукраїнській науково-практичній конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету «Перспективи розвитку медичної науки і освіти» (Суми, 2017 р.), II Всеукраїнській науково-практитчній конференції з міжнародною участю “Youth pharmacy” (Харків, 2017 р.), науково-практичній конференції з «міжнародною участю «Галицькі Читання» «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, 2019 р)., 9-й щорічній (віртуальній) зустрічі міжнародної Академії Lupus (2020 р.), XII Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2020 р.), III науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку

патологічних процесів та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2020 р.), VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (м. Одеса, 2021 р.), IX Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (Івано-Франківськ:, 2024 р.), наукових конференціях XXIII–і читання В.В. Підвисоцького і XXIV–і читання В.В. Підвисоцького (Одеса, 2024 і 2025 р.р.).

Публікації. Матеріали дисертації опубліковано в 19 наукових працях, зокрема, у 7 статях, з яких 2 статті – у наковому видужанні, яке індексується наукометричною базою даних SCOPUS, 4 статті - у наукових фахових виданнях України, що входять до переліку ДАК України, та 1 стаття у закордонному науковому періодичному виданні (Польща), а також 12 тез доповідей на науково-практичних конференціях та конгресі за фахом дисертаційної роботи, одна з яких нардукована в міжнародному виданні, яке індексується наукометричною базою даних SCOPUS (Q1).

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 180 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків і списку використаних джерел і додатків. Перелік використаних літературних джерел містить 201 джерел, з яких 17 – вітчизняних та 184 – іноземних авторів. Дисертаційна робота ілюстрована 13 таблицями та 14 рисунками.

РОЗДІЛ 1
АНТИФОСФОЛІПІДНИЙ СИНДРОМ: СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ЕТІОПАТОГЕНЕЗУ, КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ ТА ПРИНЦИПІВ КОРЕКЦІЇ (Огляд літератури)

1.1. Клінічна характеристика антифосфоліпідного синдрому

АФС представляє собою патологічний симптомокомплекс, до якого відносяться рецидивуючі тромбози (артеріальний чи венозний) та акушерська патологія [95]. На сьогодні розрізняють наступні форми АФС (рис. 1.1). В 2007 р. до класифікації додано наступні форми: мікроангіопатичний АФС, рецидивуючий АФС та перехресний синдром.

Форми АФС

Рис. 1.1. Форми АФС

АФС поділяється на первинний та вторинний, який розвивається на тлі системного червоного вовчаку (СЧВ) або інших аутоімунних захворювань, вовчаковоподібного синдрому, а також на тлі інфекції, пухлини, застосування лікарських препаратів та васкулітів. Однак оскільки первинний

АФС може бути варіантом дебюту СЧВ, достовірний діагноз може бути верифікований у процесі тривалого спостереження за пацієнтами (≥5 років від початку захворювання). Схожість клініко-лабораторних ознак первинного та вторинного АФС слугує приводом для рішення не розділяти ці два варіанти. Водночас у діагнозі слід вказувати наявність коморбідного захворювання. До форми первинного АФС відноситься синдром Снеддона – поєднання цереброваскулярних порушень з ліведо при виявленні в крові АФА [29, 98, 111, 195, 207].

Для АФС характерна незапальна тромботична васкулопатія, що завершується артеріальною чи венозною оклюзією. Клінічні прояви АФС виявляються при патологічних змінах з боку серцево-судинної та нервової систем, дисфункціями ендокринних органів, нирок, печінки та шлунково-кишкового тракту [100, 194, 195].

У 2013 році була запропонована шкала оцінки активності АФС, в якій об’єднали традиційні серцево-судинні фактори ризику (артеріальна гіпертензія та гіперглікемія) із профілем АФА (АКЛ, аβ2-ГП1, ВА). Нова класифікація дозволяє оцінити ступінь клінічних симптомів у хворих з АФС з урахуванням екстракритеріальних проявів захворювання [83, 94, 109].

Нова шкала одержала назву aGAPSS (adjusted Global APS Score). Необхідно враховувати наявність клінічних симптомів, які не відносяться до критеріальних з використанням aGAPSS. Ефективність нової шкали в подальшому була підтверджена при обстеженнях хворих із СЧВ та при первинному АФС. В подальшому була доведена необхідність застосування GAPSS у хворих із АФС для оцінки ризику рецидивів клінічних ускладнень та проявів АФС. До критеріїв, які ввійшли у GAPSS, належать замісна гормональна терапія, паління, цукровий діабет, антитіла до Sm-антигену, до білкових компонентів малого ядерного нуклеотиду U-1 РНК, протромбіну, терапія низькими дозами аспірину та антикоагулянтами. Показники GAPSS розраховуються індивідуально для кожного пацієнта шляхом суми балів за факторами ризику. За цією шкалою кількість балів понад 10 вважається

високим ризиком тромбоутворення [103, 116, 200, 203].

У 2015 році була запропонована спрощена версія GAPSS – розрахунок індексу пошкодження при АФС. Його достовірність ототожнюється із тестами EuroQol, які складаються із 5-ти запитань про суб'єктивні відчуття психічного та фізичного здоров'я. Анкета EuroQol, застосовується для визначення стану хворих та ефективності лікування. Шкала DIAPS (damage index APS) на сьогоднішній день є оптимальною для визначення тяжкості протікання АФС і включає в себе 38 параметрів, які відображають стан усіх органів та систем. Отже, GAPSS і DIAPS є безумовно необхідними в сенсі оцінки стану та рецидиву клінічних проявів у пацієнтів з АФС [116, 200, 203].

Клінічна картина первинного чи вторинного АФС ідентична, але за вторинного АФС її можуть доповнювати прояви супутнього захворювання. Судинний тромбоз та патологія вагітності є двома характерними ознаками АФС. Крім того, клінічна маніфестація захворювання включає додаткові прояви, які не можна пояснити виключно протромботичним станом [226].

До «не критеріальних» симптомів відносяться тромбоцитопенія, артрит,

livedo reticularis, мігрень, ураження клапанів серця, аутоімунна гемолітична анемія, епілепсія, міокардіопатія, патологія ниркова, легенева гіпертензія, хорея, фіброзуючий альвеоліт та мієлопатія [231, 232].

Судинний тромбоз. Найчастіше у пацієнтів із АФС спостерігається венозний тромбоз. Найбільш поширеною його локалізацією є глибокі вени нижніх кінцівок, що часто супроводжується тромбоемболією легеневої артерії

та легеневою гіпертензією. На відміну від тромбозу при вродженій тромбофілії, при АФС всі сегменти судинного русла (як вени, так і артерії) можуть бути залучені до патологічного процесу. Хоча артеріальний тромбоз поширений менше, його наслідки більш важкі і небезпечні для життя, оскільки при цьому часто порушується мозковий кровообіг, наслідком якого

є транзиторна ішемічна атака та інсульт. Додатковим клінічним проявом може бути гострий коронарний синдром, тромбоз печінкових артерій або вен печінки, ішемія, пов'язана із залученням судин брижі або селезінки, а також ураження підшлункової залози та надниркова недостатність. Для АФС характерні рецидиви тромбозів, частота яких у нелікованих пацієнтів становить від 19 до 29 % на рік, незважаючи на проведення тромбопрофілактики [29, 35, 37, 50, 52, 56, 58, 59, 69].

Акушерські ускладнення. Патологія вагітності є другою важливою особливістю АФС. Найбільш поширеним її проявом є рецидивні викидні, які визначаються як три або більше мимовільних абортів, які виникають до 10 тижня вагітності. Інші прояви акушерської патології, пов'язані з АФС – це затримка внутрішньоутробного розвитку плода (вага нижче 10-го відсотка для його гестаційного віку), передчасні пологи до 34 тижня вагітності внаслідок плацентарної недостатності, незрозуміла смерть плода після 10 тижня вагітності. Крім того, ускладнити вагітність у жінок з АФС може розвиток у неї тромбозу, еклампсії чи прееклампсії [1, 15, 132].

Гематологічні прояви, асоційовані з АФА часто визначаються у пацієнтів з вперше діагностованою ідіопатичною тромбоцитопенічною пурпурою (ІТП), яка може бути першим проявом захворювання в понад 20 % пацієнтів з АФС. Механізми, за допомогою яких АФА індукують тромбоцитопенію у пацієнтів з АФС, остаточно не з'ясовані. Тромбоцитопенія зустрічається приблизно у 30-40 % пацієнтів з АФС, тому обґрунтовано визначення АФА у пацієнтів із ІТП. Ступінь тромбоцитопенії, як правило, помірна і не супроводжується клінічними симптомами, які потребують лікування. Якщо кількість тромбоцитів знижена помітно та (або) з'являється клінічна симптоматика, використовуються методи лікування, які зазвичай застосовують при ІТП [111].

Аутоімунна гемолітична анемія у пацієнтів з АФС спостерігається рідше, ніж тромбоцитопенія, і її поширеність становить близько 6-10 %. Ймовірно, АФА можуть безпосередньо брати участь у руйнуванні

еритроцитів. Інші гематологічні ускладнення, такі як тромботична мікроангіопатія, яка також спостерігається при АФС, зустрічаються значно рідше [60, 210].

Шкірні прояви. Livedo reticularis є найбільш характерним шкірним проявом АФС і є приблизно у 25% пацієнтів. Слід зазначити, що *livedo reticularis* є незалежним фактором артеріального ризику тромбозу. Іншими шкірними проявами, які можуть бути пов'язані з АФА, є псевдоваскулітні ураження, акроціаноз, анетодермія (плямиста атрофія шкіри), поверхневий флебіт, некротичні виразки шкіри та гангрена пальців [41, 42, 43, 82, 111].

Ураження легень та серця. Ураження клапанів є приблизно у третини пацієнтів з АФС. Може виникати потовщення клапанів або утворення на них вегетацій (ендокардит Лібмана-Сакса), що пов'язано з тим самим патологічним процесом. Насамперед залучається мітральний клапан, рідше – аортальний. Ураження клапанів зазвичай протікає безсимптомно, але можливий розвиток їхньої дисфункції. Характерною є поява регургітації, рідше формується стеноз [23, 25, 61, 100, 170, 177, 190, 199, 203].

Ускладнення з боку легень, які спостерігаються у пацієнтів з АФС, виявляються внутрішньоальвеолярними крововиливами, гострим респіраторним дистрес-синдромом (ГРДС) та фіброзуючим альвеолітом [17, 26].

Неврологічні прояви відносять до числа найбільш поширених проявів, пов'язаних із АФС. Перший опис захворювання, зроблений G. R. Hughes, включав патологію нервової системи. Передбачається ймовірність АФА безпосередньо зв'язуватися з нервовими тканинами, тим самим порушуючи їх функцію. На додаток до тромбооклюзійних порушень мозкового кровообігу, інші неврологічні прояви також можуть бути асоційовані з АФС. До них належить хронічний головний біль або мігрень, епілепсія, хорея, порушення зору, мієлопатія та когнітивна дисфункція [31, 41, 42, 46, 137].

Патологія нирок. При АФС основні ураження нирок обумовлені стенозом ниркових артерій чи вен, а також оклюзією дрібних судин нирок

(нефропатія, асоційована з АФС). Нефропатія може бути гострою (тромботична мікроангіопатія, пов'язана із залученням капілярів клубочків) або хронічна (фіброзна гіперплазія інтими, трубчаста атрофія, оклюзії артеріол та фокальна кортикальна атрофія). У пацієнтів з АФС у поєднанні з СЧВ необхідно виконати біопсію нирки для того, щоб відрізнити запальну ураження від тромботичного та обрати відповідний спосіб лікування (антикоагулянтну чи імуносупресивну терапію) [18, 140, 141]. Найчастіші клінічні прояви уражень нирок при АФС – артеріальна гіпертензія (часто з важким перебігом), протеїнурія різного ступеня вираженості, гематурія та ниркова недостатність [31, 41, 42].

1.2. Сучасні методи діагностики

Для встановлення діагнозу АФС рекомендується визначення профілю антитіл із підрозділом пацієнтів на категорії відповідно до кількості та типу позитивних тестів. Категорії включають пацієнтів з більш ніж одним лабораторним критерієм у будь-якій комбінації – тільки вовчаковий антикоагулянт (ВА), тільки антитіла до карділіпоїну (АКА), або тільки антитіла до глікопротеїну-I (β-2 ГП-1). Вважається також, що збіг ізотипу (переважно IgG) АКА та антитіла до β-2 ГП-1 ідентифікує пацієнтів з високим ризиком розвитку АФС [13, 38, 43, 48].

Пацієнти, у яких позитивний лише ВА, найчастіше не мають клінічних проявів і можуть бути навіть хибно-позитивними; особливо це характерно для осіб старшого віку [57].

У нових рекомендаціях подовжено період між початковим тестом на антитіла і підтверджуючим тестом — з 6 до 12 тижнів, таким чином підвищується ймовірність виключення тимчасових, асоційованих з інфекцією антитіл. Постійна позитивність лабораторних тестів є важливою, оскільки транзиторна присутність АФА як епіфеномен може призвести до помилок у діагностиці. В даний час рекомендується не діагностувати АФС, коли різниця

у часі між клінічним симптомом та позитивним лабораторним аналізом >5 років; тимчасовий інтервал >12 тижнів між симптомом та аналізом вимагає уважної оцінки можливого зв'язку між клінічними проявами та АФА [57, 65].

Ідея про те, що АКА-тест було б краще замінити визначенням антитіла до β-2 ГП-1, ґрунтувалася на результатах мета-аналізу, який показав, що ВА є сильнішим фактором ризику розвитку тромбозу, ніж АФА, що визначаються в АКА-тесті. Хоча це дослідження викликало певну критику, інші дослідники також виявили недостатню кореляцію між підвищеними АКА, з одного боку, та тромбозом чи перериванням вагітності – з іншого. Хоча дискусія про роль АКА триває, тест на АКА займає своє місце у діагностиці АФС у зв'язку з його високою діагностичною чутливістю, хоч і низькою специфічністю. Зважаючи на низьку специфічність аналізу на АКА, його визначення має розглядатися як додатковий інструмент діагностики, і інтерпретацію такого аналізу необхідно проводити за наявності супутніх клінічних проявів [66, 71, 74, 79, 82, 83, 92, 94].

Численні дослідження показали зв'язок між тромбозом та наявністю антитіл до β-2 ГП-1. Є дані, що ці антитіла пов'язані з прееклампсією та еклампсією, і, крім того, зі спонтанним абортом. Циркулюючий протеїн β-2 ГП-1 не може взаємодіяти з клітинними рецепторами до його димеризації аутоантитілами. Комплекс β-2 ГП-1/АФА, що зв'язується з рецептором, приєднавшись до клітини-мішені, індукує внутрішньоклітинний сигнал і прокоагулянтний і прозапальний фенотип, що зумовлює клінічну симптоматику. Таким чином, порушення в регуляції процесів активації ендотеліальних клітин, тромбоцитів і моноцитів, що виникають внаслідок впливу на них комплексів анти β-2 ГП-1/ β-2 ГП-1, можуть бути поясненням тромботичної схильності при АФС [92, 94, 104, 106, 111].

Різні рецептори, що активують тромбоцити, задіяні при такій активації. Встановлено, що тромбоцитарний фактор 4 є важливим білком для β2GPI, що призводить до стабілізації димерної структури β2GPI та посилює зв'язування антитіл з прокоагулянтним потенціалом. В активації ендотелію та моноцитів

велику роль відіграють анексин А2 та Toll-like рецептори. Інші зв'язуючі анти-β2GPI/β2GPI-комплекси ділянки – це білки, пов'язані з рецептором для ліпопротеїнів низької щільності, зокрема – мегалін, ліпопротеїни дуже низької щільності та глікопротеїновий ліганд 1 Р-селектину [106, 111].

Антипротромбінові антитіла (аПТа) – це гетерогенна група, що включає антитіла проти протромбіну та антитіла проти фосфатидилсерин-протромбінового комплексу. Є дані, що антитіла проти фосфатидилсерин-протромбінового комплексу більш тісно пов'язані з АФС та наявністю ВА, ніж антитіла проти одного протромбіну. Виходячи з наведеного вище, дані антитіла не були включені до Сіднейських критеріїв [113, 117, 127, 128].

На сьогодні антитіла до β-2 ГП-1 класу IgA не включені до поточного списку діагностичних критеріїв, оскільки їхній зв'язок з клінічними проявами АФС недостатньо вивчений. Антитіла до β-2 ГП-1 класу IgA часто виявляються у певних етнічних груп. Також опубліковані випадки захворювання з винятковою IgA-серопозитивністю та супутніми клінічними проявами [127, 132, 133, 139, 140, 141].

ВА визначають на основі його функціональної активності, що полягає в інтерференції з фосфоліпідзалежними етапами в каскаді зсідання. У такий спосіб виявляють різні АФА. Визначення ВА – важлива процедура для діагностики АФС. Позитивний тест на ВА знаходиться у чіткому зв'язку з тромботичними явищами та спонтанним абортом. З іншого боку, визначення ВА має певні недоліки, оскільки методологія складна і трудомістка. До цього часу немає чітких вказівок, як проводити та інтерпретувати аналіз ВА [132, 133, 140, 151, 152, 153, 154].

Незважаючи на оновлення діагностичних критеріїв, встановити діагноз АФС залишається складним завданням.

1.3. Особливості епідеміології та патогенезу

АФС пов'язаний із синтезом антифосфоліпідних антитіл (АФА), до яких

належать антитіла до кардіоліпіну (АКА), імуноглобулін (Ig) G або Ig M, ВА та антитіла до β-2 ГП-1. АФС відноситься до набутих тромбофілій і є моделлю аутоімунного тромбозу [38, 60, 63, 92, 98, 109, 148, 156].

Дослідження АФА розпочалися набагато раніше відкриття АФС. На початку XX століття за допомогою антигенів тканинних екстрактів у сироватці хворих на сифіліс виявляли антитіла, які назвали реагінами. Починаючи з 1938 р. в США проводились масові медичні огляди на сифіліс і було зафіксовано, що близько 50 % досліджуваних із позитивними тестами реакції Вассермана не мали ознак цього венеричного захворювання. Реакція іммобілізації блідих трепонем, тобто специфічний тест на сифіліс у них був негативним, що призвело до застосування нового терміну «біологічна псевдопозитивна реакція Вассермана». Надалі з'ясувалось, що у людей із такою псевдопозитивною реакцією, яка зберігалась понад шести місяців, з часом розвивався системний червоний вовчак (СЧВ), тиреоїдит Хашимото та інші аутоімунні захворювання [14, 28, 31, 100, 142, 165].

Зацікавленість АФС, як клінічною проблемою, сформувалась у 60-х роках минулого століття. На той час були описані випадки тромбозу у хворих із пролонгованим часом зсідання крові у фосфоліпід-залежних тестах. Подальші дослідження гематологів, ревматологів та інших спеціалістів дозволили виокремити синдром асоційований із АФА [152, 175, 189].

Hugyes G. R. V. встановив, що гостра менінгомієлопатія при так званій «карибсько-ямайській нейропатії» часто супроводжується псевдопозитивною реакцією Вассермана. Це дозволило висунути теорію імунологічного походження захворювання. У 1977 р. вперше був виявлений «периферичний судинний синдром», який перехрещувався із СЧВ. Для нього був характерний рецидивуючий венозний тромбоз, псевдопозитивна реакція Вассермана, геморагічна капіляропатія з циркулюючим антикоагулянтом. У 1985 р. виявили антикардіоліпіновий синдром, або синдром АФ-антитіл. Через деякий час симптомокомплекс отримав назву – «антифосфоліпідний синдром». Відкриття кофактору АКА з подальшим виявленням антитіл при цьому

симптомокомплексі до плазмових білків чи факторів зсідання крові стало приводом до застосування ще однієї назви – «антифосфоліпід/кофакторний синдром». В американській науковій літературі зустрічається ще одна назва АФС – «синдром чорного лебедя», тим не менш, більшість вчених використовують термін «АФС» [200, 202].

З 2003 р., враховуючи поліоргане ураження, запропоновано АФС вважати важливим системним захворюванням, аналогічно СЧВ. Наступним кроком в дослідженні АФС було встановлення етіологічних факторів розвитку даної патології. Група авторів у 1905 р. була відмічена премією Європейської антиревматичної ліги за внесок у вивчення цієї проблеми. Вони встановили, що утворення патогенних АФА тісно пов'язане з молекулярною мімікрією патогенів та β-2 ГП-1 [29, 35, 37, 57, 66].

Справжня поширеність АФС у популяції не відома. Частота виявлення різних АФА: АКА та ВА у крові здорових людей варіює від 0 до 14 % (у середньому 1–5 %; у високій концентрації — менш ніж у 0,2 %) і підвищується в осіб похилого віку, особливо з розвитком хронічних захворювань. Результати аналізу 1000 хворих на АФС, включених у багатоцентрове дослідження «Єврофосфоліпідпроєкт», показали, що у молодих захворювання розвивається частіше, ніж у осіб похилого віку, зустрічається також у дітей та навіть у новонароджених. Як і інші аутоімунні ревматичні хвороби, згідно з даними європейського дослідження EUROAPS, серед хворих на АФС 82 % становлять жінки, зазвичай захворювання маніфестує в середньому віці (близько 35 років). При вторинному АФС співвідношення жінок та чоловіків становить 7,5:1, а за первинного – 3,5:1. Первинний та вторинний АФС виявляють майже з однаковою частотою [95, 96, 113, 133].

Частота захворюваності АФС знаходиться приблизно на рівні 5 нових випадків на 100 000 осіб у рік, а розповсюдженість складає ~40-50 випадків на 100 000 осіб. АФС може спричинити ускладення вагітності у 6 % випадків, тромбоз глибоких вен – у 10 %, інфаркт міокарда – у 11 %, інсульти залежно від віку хворих – у 14–17 % [96, 149].

Причини АФС не встановлено. Відомо, що підвищення (як правило, транзиторне) рівня АФА у крові спостерігається при [2, 28, 43, 66, 70]:

- бактеріальних інфекцій: лепра, туберкульоз та захворювань, викликаних іншими мікобактеріями, сальмонельози, стафілококові, стрептококові інфекції, Ку-лихоманка тощо;
- вірусних інфекцій: гепатит С, інфекції, спричинені вірусом Епштейна-Барра, вірусом імунодефіциту людини, цитомегаловірусом, парвовірусом В19, аденовірусом, вірусами *Herpes zoster*, кору, краснухи, Т-клітинного лейкозу людини типу І;
- інфекціях, викликаних спірохематами – сифіліс, лептоспіроз, хвороба Лайма;
- паразитарних інфекціях: малярії, лейшманіозі, токсоплазмозі.

В результаті дії різних факторів зовнішнього та внутрішнього середовища відмічається взаємодія АФА з кофакторами, що призводить до серйозних порушень в системі зсідання крові. При цьому, перш за все, змінюються процеси мікроциркуляції та стан судинної стінки [50, 52].

Одним із факторів розвитку АФС є генетична схильність до даної патології. Відомо, що у пацієнтів з АФС частота СЧВ та інших аутоімунних захворювань, включаючи тромбоцитопенічну пурпуру та аутоімунний тиреоїдит, вище, аніж в інших популяціях. Генетичні фактори, ймовірно, мають значення в схильності до АФС. 33 % родичів пацієнтів з АФС були АФА-позитивними. Слабка кореляція відзначена між АФС та поліморфізмом рецепторів імуноглобуліну. Алелі головного комплексу гістосумісності роблять тільки частковий внесок у генетичну схильність в розвитку АФС. Генетичні зміни білків системи зсідання крові можуть призводити до вираженого збільшення ризику тромбозів [96, 105, 120, 153].

Найчастіше в європейській та американській популяціях виявляються три точкові генетичні мутації: лейденівська мутація фактору V зсідання крові (заміна аргініну на гліцин в поліпептидному ланцюгу нуклеотиду 1691 у положенні 506), мутація G20210A гена протромбіну та дефект C677T гена 5,10-

метилентетрагідрофолатредуктази (МТГФР). Частота основних успадкованих тромбофілій суттєво варіює як всередині здорової популяції, так і серед пацієнтів з тромбозами. Проведені дослідження не виявили зв'язків між клінічними проявами АФС та перерахованими мутаціями, хоча рецидив тромбозу, а також число тромботичних епізодів достовірно частіше зустрічалося у хворих на АФС з генетичними мутаціями [96, 105, 120, 153].

Передбачається, що патогенез АФС є багатофакторним, оскільки відомі численні механізми, що пояснюють причину гіперкоагуляції та тромботичних ускладнень при АФС. Незважаючи на різноманіття механізмів, очевидним є те, що АФА порушують баланс між факторами зсідання, фібринолізом, тромбоцитами та ендотелію судин, знижуючи антиагрегантний та антикоагулянтний потенціали організму. Це створює умови для розвитку тромбозів різної локалізації. Крім тромботичного ефекту величезну роль патогенезі АФС відіграють нетромботичні ефекти АФА [39, 48, 108, 129, 130, 144, 161] (рис. 1.2).

Передбачається, що циркуляція АФА є універсальною відповіддю організму на різні стани, зумовлені інфекцією, аутоімунними, злоякісними захворюваннями, застосуванням лікарських препаратів, а також впливом екологічних факторів (алергенні, радіаційні та ін.). Однак у більшості людей наявність АФА носить транзиторний характер та практично не маніфестує.

1.3.1. Механізми порушень системи гемостазу – основного клінічного критерію антифосфоліпідного синдрому

Відомо, що мембрани клітин складаються з фосфоліпідів двох типів: фосфогліцеридів (основний складовий компонент клітинних мембран), в організмі частіше зустрічаються фосфатидилхолін і фосфатидилетаноламін; сфінгофосфоліпідів (представлені переважно у нервовій тканині) [162, 185].

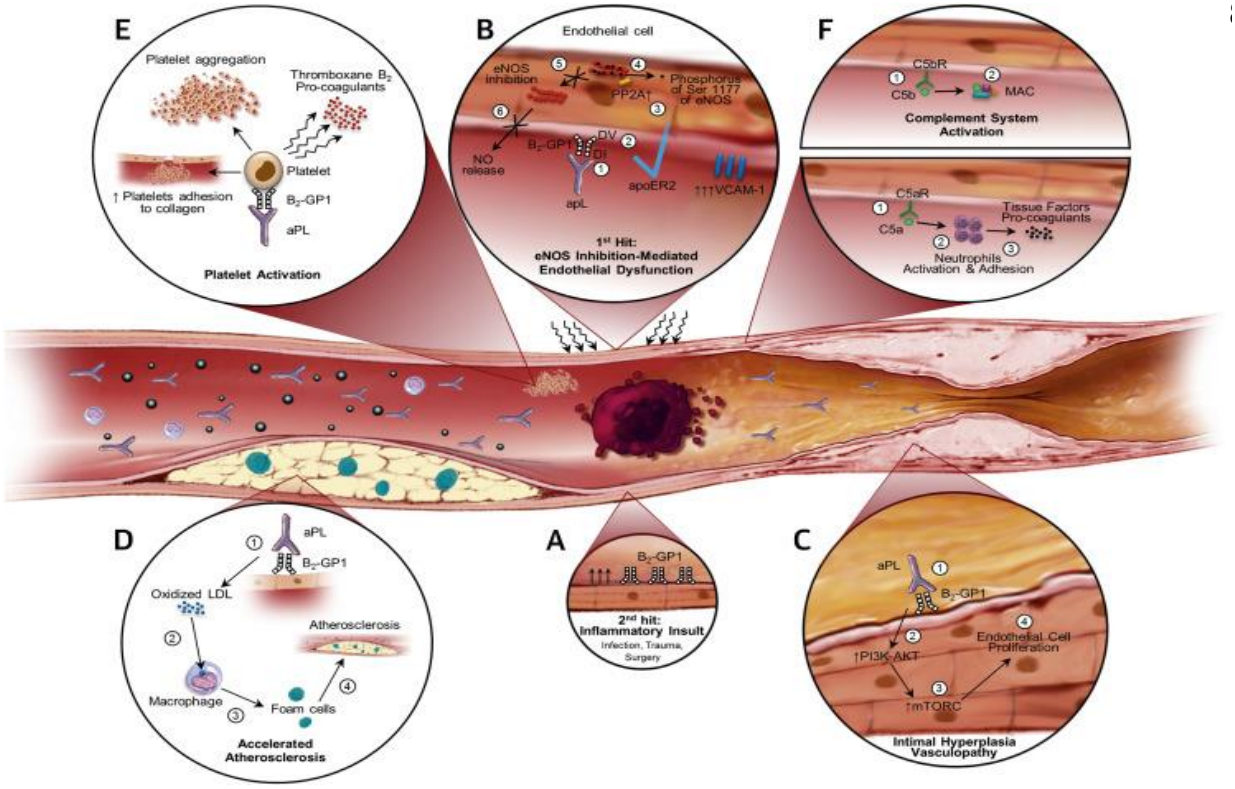

Рис. 1.2. A) Посилення рецепторів β2-ГП-1 на ендотеліальних клітинах після «другого удару» запального ураження. B) Інгібування eNOS, опосередковане АФА, порушення продукції та вивільнення NO, а також ендотеліальна дисфункція – «перший удар». C) АФА-опосередкована проліферація ендотеліальних клітин, гіперплазія інтими та неатеросклеротичний стеноз судин. D) АФС–прискорений атеросклероз. E) АФА-опосередкована активація, агрегація та тромбоз тромбоцитарних клітин. F) Активація системи комплементу та тромбоз.

Завдяки численним дослідженням в області АФС було показано, що причиною тромбозів є непряма взаємодія АФА з фосфоліпідами, як вважалося раніше, а білок-опосередкована. Таким білком-кофактором виступає білок плазми крові β-2 ГП-1, який, зв'язуючись з фосфоліпідами, утворює істинний антиген для АФА, а також протромбін. Крім β-2 ГП-I та протромбіну, відомі й інші білки-кофактори, які є мішенню для АФА (протеїн С, протеїн S, тканинний активатор плазміногену, анексини, тромбомодулін, окиснені ліпопротеїди низької щільності, фактори зсідання XII, X, XI, VII/VIIa, прекалікреїн, високо- та низькомолекулярний кініноген, H та C4b компоненти комплементу, ендотеіальний рецептор протеїну С [146, 150, 155, 171, 187].

У зв'язку з цим АФА визначені як антитіла проти протромбіну або β-2 ГП-1. АФА часто описуються як ВА або АКА з урахуванням методу дослідження. У ряді випадків, наприклад при інфекційному процесі, можлива пряма взаємодія АФА з фосфоліпідами, при цьому АФА представлені IgM.

Вовчаковий антикоагулянт. В основі даного феному лежить циркуляція антитіл до β-2 ГП-1чи IgM та антитіл до протромбіну. Антитіла, зв'язуючись з антифосфоліпідними поверхнями, перешкоджають взаємодії фосфоліпідів з факторами коагуляції, що призводить до порушення формування протромбіназного комплексу та утворення тромбіну. Ймовірно, що АФА є причиною розвитку резистентності до активованого протеїну С (АПС) за рахунок пригнічення протеїну С та S, а також зв’язування тромбомодуліну, що призводить до зміщення рівноваги у системі гемостазу у бік гіперкоагуляції [192, 194, 195, 201, 217].

β-2 ГП-1 та антитіла до нього. Встановлена здатність β-2 ГП-1 зв'язуватися з негативно зарядженими макромолекулами, які здатні запускати внутрішній шлях зсідання крові. АКА зв’язуються з фосфатидил-серином або кардіоліпіном тільки в присутності кофактору β-2 ГП-1. Клінічна маніфестація у вигляді тромбозів вен або артерій, обумовлена анти-β-2 ГП-1-антитілами, залежить від специфічності даних антитіл [36, 37, 57, 113].

Антипротромбінові антитіла виявляються у 50-90 % АФА-негативних пацієнтів. Антипротромбінові антитіла складають частину антитіл, що об'єднуються загальною назвою ВА у хворих з АФС. У більшості пацієнтів феномен ВА обумовлений наявністю антитіл до β-2-ГП-1 та кардіоліпіну, а у 15 % пацієнтів феномен ВА пов'язаний з циркуляцією антититромбінових антитіл. В останніх дослідженнях доведено, що кількість антитіл до β-2-ГП-1 та протромбіну не завжди корелює з ймовірністю тромботичних ускладнень. У зв'язку з цим було припущено, що існує фракція так званих активних антитіл, які і визначають ризик тромбозів [84, 85, 113].

Анексин V (антикоагулянтний плацентарний протеїн-I, судинний антикоагулянт-α) володіє потужними антикоагулянтними здібностями *in*

vitro. Існує припущення, згідно з яким анексин V формує грону на «незахищених» фосфоліпідах. Таке «гроноутворення», ймовірно, функціонально важливе, оскільки воно формує протективний щит анексину V на фосфоліпідній поверхні, який блокує здатність фосфоліпідів до реакцій коагуляції. АФА впливають на здатність анексину V закривати поверхню, і, отже, посилюють здатність фосфоліпідів до коагуляційних реакцій [114, 117].

Система протеїну С. Важливу роль у виникненні гіперкоагуляції при АФС відіграють пошкодження в системі протеїну С. АФА інгібують систему протеїну С за декількома механізмами: 1) «тромбіновий парадокс», при якому відбувається пригнічення формування тромбіну, який є активатором протеїну С; 2) інгібування активації протеїну С через утворення антитіл до тромбомодуліну; 3) розвиток набутої резистентності до АПС через пригнічення його утворення на аніонних поверхнях фосфоліпідних матрицях, зберігаючи свою прокоагулянтну активність, виникає резистентність до АПС; 4) розвиток набутого дефіциту протеїну С та/або протеїну S, АФА також можуть інгібувати активацію протеїну С за участі чи відсутності протеїну S [69, 99, 115, 118, 119, 126, 130].

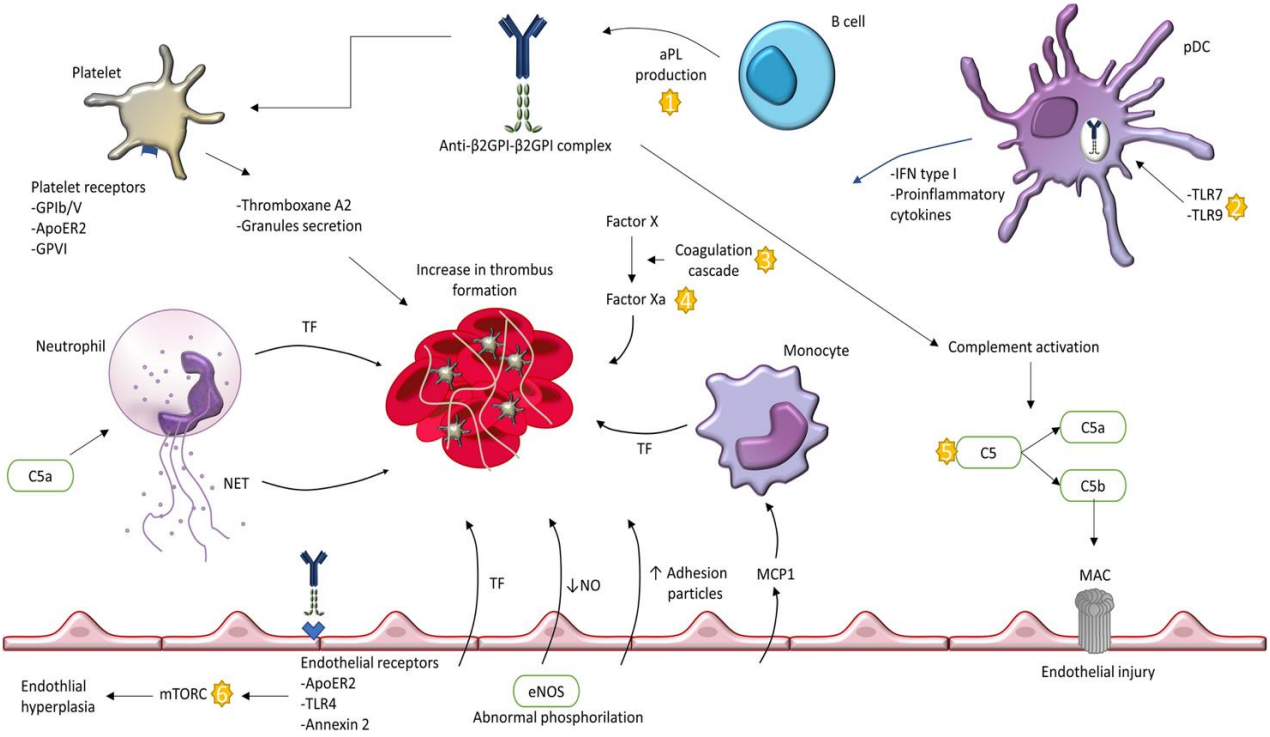

Рис. 1.3. Модель розвитку тромбоцитопенії при АФС

Антифосфоліпідні антитіла та тромбоцити. Тромбоцити беруть участь в якості мішеней для циркулюючих АФА за умов АФС. Тромбоцитопенія, яка супроводжується агрегацією тромбоцитів, є одним із ключових механізмів АФС. Кров'яні пластинки за рахунок участі в процесах адгезії та агрегації, зазнають численних змін, включаючи зміну форми, виділення гранул та трансформацією внутрішніх мембранних фосфоліпідів та протеїнів у високоефективну прокоагулянтну поверхню. Тобто тромбоцитопенія при АФС розвивається за тромботичним та іммунним механізмами. Найбільш ймовірна модель розвитку тромбоцитопенії при АФС може бути представлена наступним чином (рис. 1.3) [47, 131, 167, 168, 169].

Після слабкої активації тромбоцитів негативно заряджені фосфоліпіди експонуються на поверхні тромбоцитів >>> фосфоліпід-зв'язуючі протеїни з'єднуються із негативно зарядженими фосфоліпадами, утворюючи антигенну мішень >>> АФА стабілізують цей зв'язок шляхом утворення комплексу з антигенною мішенню та додатковим зв'язком між FcγRII-рецептором та Fc-часткою >>> залученість FcγRII-рецептора призводить до трансдукції сигналу та активації тромбоцитів в результаті сигнал-обумовленої мобілізації кальцію із тубулярної системи в цитоплазму та активації фосфоліпази А2, що веде до запуску «арахідонового каскаду» з утворення значної кількості тромбоксану А2. Як наслідок, відмічається інтенсивна необоротна внутрішньосудинна агрегація тромбоцитів, вазоконстрикція та порушення мікроциркуляції [168].

Залишається не з'ясованим, чому в деяких випадках розвивається типова клінічна картина АФС (тромбози крупних судин), тоді як в інших – відмічається розвиток прогресуючих мікротромбозів («тромботичний шторм») та поліорганної недостатності. Існує гіпотеза генетично обумовлених протромботичних факторів ризику, які є тригером надлишкового тромбозу. Таке масивне тромбоутворення призводить до прогресування тромбозу. В основі цього явища полягає прогресуюча

активація утворення тромбіну, пригнічення фібринолізу за рахунок надмірного використання антикоагулянтних факторів: протеїну С та S, антитромбіну ІІІ, розвиток масивного тканинного пошкодження, викиду цитокінів, розвиток дисемінованого внутрішньосудинного зсідання (ДВЗ-синдром) та системної відповіді на запальний процес [168, 169, 188, 191, 196, 202, 208].

Декомпенсований ДВЗ-синдром виявляється приблизно в 20 % випадках, що, ймовірно, є відображенням процесів системного запалення. Крім того, АФС часто виявляють у пацієнтів із ДВЗ-синдромом. Згідно літературним даним ДВЗ-синдром розвивається у всіх випадках АФС, що обумовлено загальними патогенетичними механізмами даних станів. В основі АФС та ДВЗ-синдрому полягає універсальний патологічний процес – синдром системної запальної відповіді. Як при АФС, так і при ДВЗ-синдромі спостерігається розвиток ЕД, викид прозапальних цитокінів та активація коагуляції, порушення функції антикоагулянтного шляху протеїну С та стан гіпофібринолізу. Тобто, причиною розвитку ДВЗ-синдрому є масивне пошкодження судин мікроциркуляторного русла, характерне для синдрому системної запальної відповіді [37, 212, 213, 215].

1.3.2. Антифосфоліпідні антитіла та їх роль в розвитку ендотеліальної дисфункції

Ендотелій – це внутрішня оболонка судин, яка виконує функцію підтримки нормальної структури та функції судин, в тому числі і внутрішньосудинного зсідання крові. Ендотеліальні клітини, які одержують сигнали із кров’яного русла, модулюють у відповідь на них посилений синтез медіаторів, факторів росту та цитокінів [45, 46, 48, 135, 158].

За звичайних умов антикоагулянтна та антитромботична активність ендотелію переважає над його прокоагулянтними властивостями. Але за умов дії пошкоджуючих факторів ендотеліального шару змінюється і

проявляється його прокоагулянтна активність. Ендотелій пошкоджується в результаті механічної травми судини, дії ендотоксинів та інших компонентів клітинної стінки бактерій, прозапальних цитокінів, імунних комплексів, атерогенних стимулів, гомоцистеїну тощо. Відповідаючи на пошкодження чи активацію, ендотеіальні клітини експресують глікопротеїни екстрацелюлярного матриксу із прокоагулянтною активністю. За умов надмірної дії ушкоджуючих факторів або тромбофілічної схильності ця відповідь набуває патологічного характеру і формує ЕД, створюючи прокоагулянтний потенціал на поверхні ендотелію [158, 168, 198, 199].

Ключовим медіатором, який регулює базальний тонус, дію вазоконстрикторів та реактивність судинної стінки є оксид азоту. Він утворюється з амінокислоти L-аргініну під дією NO-синтази. На сьогодні відомі три ізоформи цього ферменту: NOS-1 та NOS-3 відносяться до конститутивних ферментів, а NOS-2 – є індуцибельною [198].

NOS-3 – eNO-синтаза відіграє ключову роль у регуляції гемостазу та судинного тонусу як відповідь на атерогенні та прозапальні подразники [45].

NOS-2 є макрофагальною і відноситься до індуцибельних ферментів, тому що її експресія спостерігається тільки при активації імунної системи [45].

Термін «ендотеліальна дисфункція» визначається як втрата спроможності до вазодилятації у відповідь на стимуляцію синтезу NO. В більш широкому сенсі під цим терміном розуміється дефект комплексу механізмів, які підтримують цілісність судинного ендотелію у поєднанні із дисбалансом між судиннорозширюючими та судиннозвужуючими медіаторами [45, 158].

Значущими показниками дисфункції судинної вистилки є високі рівні в крові ендотеліну-1, фВ та тромбомодуліну, які синтезуються лише в ендотелії. Одночасно порушення цілісності глікокаліксу ендотеліоцитів призводить до пригнічення синтезу NO, що бере участь у підтримці судинного тонусу і має виражені антиагрегантні властивості, зростання

запальних реакцій і адгезії тромбоцитів, дизрегуляції градієнта осмотичного тиску та транспорту ліпідів. ЕД супроводжується розладом регуляції судинного тонусу та проникності судин, зниженням синтезу антикоагулянтів, антиагрегантів, активаторів фібринолізу та подальшим підвищенням продукції ендотеліальним шаром тромбогенних факторів [45, 46, 48, 135, 158].

Одним із найважливіших факторів, що провокує розвиток ЕД, є запалення. Ендотеліоцити беруть участь в процесі запалення за рахунок молекули міжклітинної адгезії, молекули судинної адгезії, молекули ендотеліальної лейкоцитарної адгезії-1 та субстанцій, які виділяються в просвіт судин: модифікованих ліпопротеїнів, Р- та Е-селектинів, запальних цитокінів, вазоактивних пептидів, нейропептидів. Активатори молекул адгезії лейкоцитів, такі як Е-селектин, Р-селектин, молекули міжклітинної адгезії та молекули судинної адгезії сприяють лейкоцитарному роллінгу та переміщенню в тканини, тим самим підвищуючи місцеву запальну відповідь.

Окрім запалення ендотеліоцити можуть активуватися під впливом гіпоксії, гемодинамічних факторів (зміна швидкості кровотоку), циркулюючих нейрогормонів: катехоламінів, гістаміну, ацетилхоліну, брадикініну та ін., тромбоцитарних медіаторів (серотоніну, тромбіну, тромбоксану), холестеринемії, гіпергомоцистеїнемії, підвищеного рівня цитокінів [53, 121, 142, 143, 144, 199].

Ендотелій відіграє важливу роль у регуляції системи гемостазу. У зв'язку з цим виникла гіпотеза, що ендотелій може бути мішенню для АФА. Перетворення нормального антитромботичного статусу ендотелію на протромботичний статус може стати первинним патофізіологічним механізмом у набутому гіперкоагуляційному стані при АФС. Основними патологічними змінами є ангіоматоз, мікротромбози, дистрофія ендотеліальних клітин, некроз та десквамація ендотеліальних клітин, проліферація клітин інтими, набряк та плазмове просочування речовини базальної мембрани [45, 46, 48, 135, 158].

Основні механізми патогенезу тромбофілії при АФС пов’язані із пошкодженням функції ендотелію, насамперед це: пригнічення ендотеліальними клітинами синтезу простацикліну – найпотужнішого природного інгібітору агрегації тромбоцитів та вазодилятатора, що, в свою чергу, призводить до гіперагрегації та спазму судин. Тим не менш, слід відмітити, що не у всіх хворих з ВА виявляється знижене утворення простацикліну >>> зниження активності антитромбіну ІІІ – важливого природного антикоагулянту. Синтезуючись в печінці, він експонується на ендотелії, де відбувається його глікозаміноглікан-залежна активація >>> пошкодження мембран ендотеліальних клітин із експозицією аніонних фосфоліпідів та індукція синтезу тканинного фактору. Далі β-2-ГП-1 може зв'язуватися з експонованими аніонними фосфоліпідами, що, в свою чергу, індукує подальше пошкодження >>> утворення антиендотеліальних антитіл >>> формування прозапального фенотипу ендотелію: взаємодія АФА із ендотелієм призводить до активації ендотеліальних клітин, що проявляється підвищенням експресії молекул адгезії, продукції прозапальних цитокінів, які активують адгезію лейкоцитів та сприяє подальшому прогресуванню процесів запалення та коагуляції [200, 202, 206, 208, 212, 213, 216].

1.3.3. Патогенетичні аспекти атеротромбозу за умов антифосфоліпідного синдрому: роль оксидативного стресу

Атеросклероз відіграє важливу роль у розвитку перебігу та тяжкості АФС. Відомо, що патогенез атеросклерозу складається із послідовних етапів, в яких активну участь беруть медіатори запалення: перший – ЕД, другий – формування ліпідних накопичень в судинній стінці, третій – формування атеросклеротичної бляшки, четвертий – нестабільність атеросклеротичної бляшки, п’ятий – тромботична оклюзія судин [52, 53, 152, 153, 159, 160].

Під час хронічної активації імунітету розвивається дисбаланс в бік

переваги прозапальних факторів над протизапальними. В результаті цього патологічного явища відбувається розвиток судинних порушень, які лежать в основі атеросклерозу: вазоконстрикція, гіперкоагуляція, ЕД, ПОЛ. Активну участь у процесах накопичення лейкоцитів в зоні запалення та їх регуляції приймають цитокіни. У фізіологічній нормі, тобто при відсутності запалення адгезія лейкоцитів до ендотелію та їх міграція крізь ендотеліальний бар'єр суттєво обмежені, проте значно посилюється під дією прозапальних цитокінів.

Лейкоцити для міграції з кров'яного русла до тканин мають спочатку прилипнути до ендотелію судин. Прилипання або адгезія та трансендотеліальна міграція відбуваються у посткапілярних венулах нелімфоїдної тканини або високоендотеліальних венулах лімфатичних вузлів. Взаємодію лейкоцитів та ендотеліоцитів умовно поділяють на декілька етапів: I етап – обмеження, який характеризується уповільненням швидкості руху лейкоцитів у кров'яному руслі. II пусковий етап, для якого характерна активація клітинних молекул адгезії лейкоцитів цитокінами, що синтезуються безпосередньо ендотелієм [198, 199, 233].

III етап потужної адгезії клітин, який зумовлений інтегрин залежним зв'язком лейкоцитів із клітинними молекулами адгезії, які знаходяться на ендотеліоцитах. Під час цього процесу рух лейкоцитів спочатку сповільнюється, а потім вони зупиняються .

IV етап – період міграції лейкоцитів до тканин відбувається під впливом хемокінів. Ендотелій швидко реагує на такі біологічно-активні речовини як гістамін та тромбін. Проте тільки дія прозапальних цитокінів призводить до суттєвих морфо-функціональних змін в ендотелії (збільшення синтезу білків та гіперекспресія генів) в напрямку до прозапального та протромботичного ефекту. Цей стан визначають як активацію ендотелію [232, 233].

Загальновідомо, що ОС відіграє важливу роль в атерогенезі. ОС визначається дисбалансом між продукцією АФК і порушенням детоксикації антиоксидантними ферментативними та неферментативними системами. Цей дисбаланс характерний для серцево-судинних захворювань, при яких АФК є

важливими медіаторами пошкодження ендотелію, що призводить до запалення судин і прогресування атеросклеротичної бляшки. Причинна роль АФК в атеросклерозі та інших серцево-судинних захворюваннях підтверджується кількома моделями ОС на лабораторних тваринах [51, 52, 73].

Декілька механізмів були запропоновані як стимулятори ОС у пацієнтів з АФС (рис. 1.4 а).

Встановлено, що у пацієнтів із СЧВ мітохондріальний трансмембранний потенціал і продукція реактивних кисневих проміжних продуктів опосередковують дисбаланс апоптозу, який може значно сприяти розвитку запалення. У цих пацієнтів виявлено, що дані показники були значно вищими порівняно із здоровими добровольцями. Крім того, внутрішньоклітинний вміст глутатіону був знижений, а перекис водню (попередник реактивних кисневих проміжних продуктів) призвів до підвищення мітохондріального трансмембранного потенціалу та призвів до апоптозу [114, 118, 131].

Інший механізм ОС може бути пов’язаний із взаємодією між антитілами АКА та антиоксидантними ферментами в плазмі, такими як параоксоназа-1, який є антиоксидантним ферментом, що зв’язується із ліпопротеїдами високої щільності (ЛПВЩ) та запобігає окисненню ліпопротехдів низької щільності (ЛПНЩ). ЛПВЩ і ОС є причиною розвитку атеросклерозу у пацієнтів з АФС. Крім того, у цих пацієнтів ЛПВЩ має «проатерогенний» фенотип, знижуючи біодоступність NO та погіршуючи протизапальні та антиоксидантні властивості [131, 158, 159, 160].

Нарешті, АКА, ймовірно, відіграють важливу роль у сприянні ОС, індукуючи утворення NO і супероксиду. Ця реакція сприяє посиленому виробленню в плазмі пероксинітриту, який є потужним прооксидантом. Дійсно, у мишей, яким вводили антитіла АКА, спостерігалося підвищення рівня нітротирозину в сироватці крові, що свідчить постійне прооксидантне середовище, яке індукує активацію iNOS і призводить до тривалого зниження експресії iNOS і подальшої ЕД [114, 163].

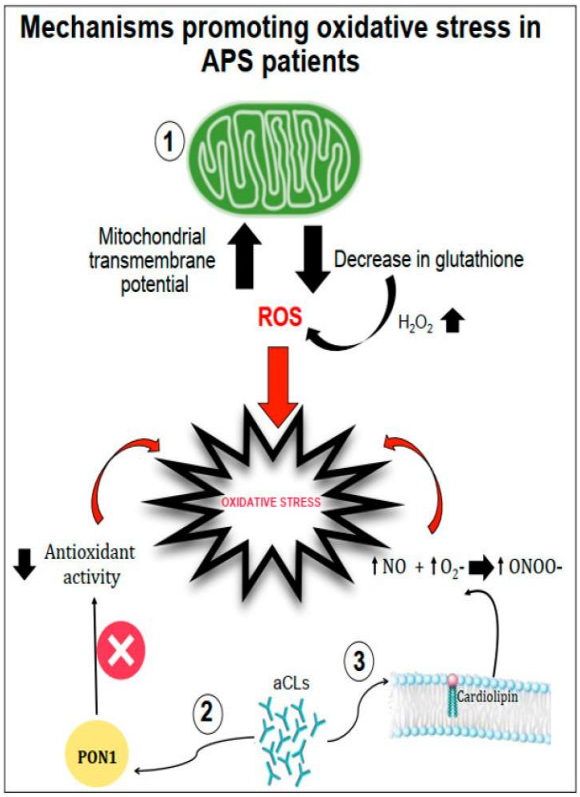

Рис. 1.4а. Механізми, що сприяють ОС у пацієнтів з АФС. (1) збільшення мітохондріального трансмембранного потенціалу та зниження вмісту внутрішньоклітинного глутатіону; (2) взаємодія між АКА (aCL) і параоксоназою-1 (PON1), що обмежує її антиоксидантні властивості; (3) aCL індукує утворення NO і супероксиду (O_2^-) з підвищенням рівня пероксинітриту ($ONOO^-$), молекули прооксиданта.

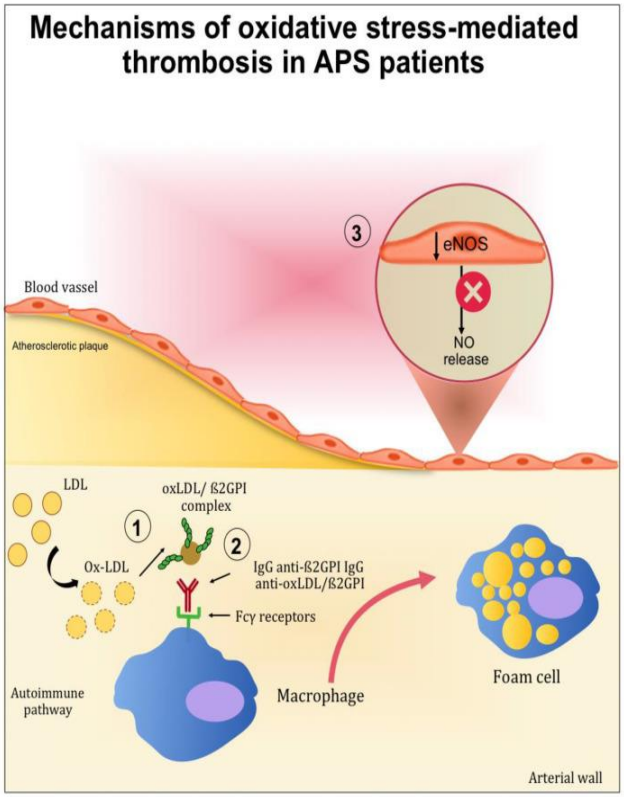

Рис. 1.4 б. Механізми, опосередковані ОС, що сприяють тромботичним ускладненням у пацієнтів з АФС. (1) Після окисної модифікації ЛПНЩ зв'язують β2-ГП-I в артеріальній стінці та додатково посилюють запалення, окиснення та активацію клітин. (2) Продукуються аутоантитіла до цього комплексу, що призводить до утворення циркулюючих комплексів ЛПНЩ/β2-ГП-I/антитіло), у присутності яких поглинання макрофагами збільшується, що ще більшою мірою прискорює розвиток атеросклерозу. (3) eNOS в ендотеліальних клітинах інактивується, знижуючи біодоступність NO.

ОС впливає на механізм розвитку АФС шляхом індукування структурної модифікації білка та перешкоджання метаболізму NO (рис.1.4 б).

Окиснення та нітрозилювання окисно-відновних чутливих залишків

цистеїну є характерними посттрансляційними модифікаціями β2-ГП-І, що відбуваються за умов підвищеного окисного або нітрозативного стресу. Зокрема, модифікації сульфгідрильної групи (SH) змінюють функцію білків, що містять цистеїни в їхньому каталітичному домені або як залишки взаємодіючих білків. АФК легко реагують із залишками цистеїну, особливо з окисно-відновними цистеїнами, з утворенням оборотних або необоротних окиснених форм [51, 52, 73].

S-нітрозилювання відноситься до хімічної реакції, яка відбувається спонтанно або ферментативно в присутності високих концентрацій NO. Як ковалентна посттрансляційна модифікація залишку тіолуцистеїну, S-нітрозилювання є важливим механізмом функціональної регуляції більшості основних класів білка та внутрішньоклітинних процесів. Ці посттрансляційні модифікації безпосередньо впливають на функцію β2-ГП-І, а також забезпечують підвищення імуногенності β2-ГП-І. Зокрема, окиснення β2-ГП-І може підвищити імуногенність молекули шляхом збільшення спорідненості антитіл проти β2-ГП-І до окисненого β2-ГП-І; викликає активацію незрілих дендритних клітин, отриманих з моноцитів, для дозрівання інтерлейкіну-12, -1,-6,-8,-10 та фактору некрозу пухлини-α; порушення імунної толерантності.

Пацієнти з системними аутоімунними захворюваннями демонстрували підвищене ПОЛ і продукцію ЛПНЩ. Після окисної модифікації електростатичні сили спочатку опосередковують зв’язок між ЛПНЩ і β2-ГП-І. Після цієї первинної взаємодії утворюються нерозривні комплекси, які стабілізуються ковалентними взаємодіями. Ці комплекси є як проатерогенними, так і імуногенними. Дійсно, зв’язування β2-ГП-І з ЛПНЩ може відбуватися в інтимі артеріальної стінки та додатково посилювати запалення, окиснення, активацію клітин і поглинання макрофагами комплексів ЛПНЩ/β2-ГП-І. Крім того, у пацієнтів з СЧВ та АФС продукуються аутоантитіла до цього комплексу, і отримані в результаті циркулюючі імунні комплекси можуть ще сильніше прискорювати розвиток атеросклерозу [122, 123, 124, 138, 151].

Серед механізмів, потенційно залучених до опосередкованих ОС атеротромботичних ускладнень при АФС, інактивація eNOS є одним важливою. Гіпотетичний зв'язок між АФСта змінами біодоступності NO був оцінений у кількох дослідженнях, проведених як на мишах, так і на людях. Докази, отримані в результаті цих досліджень, показали прямий зв'язок між зміненою продукцією NO та патогенезом АФС [146, 166, 168, 186].

У пацієнтів з АФА була виявлена негативна кореляція між метаболітами NO в сечі і АКА-IgG, що свідчить про те, що АФА можуть негативно впливати на фізіологічну активність NO [175].

У мишей ін'єкції поліклональних АФА і моноклональних антитіл β2-ГП-I, виділених від пацієнтів-людей, знижували концентрацію метаболітів NO в плазмі. Крім того, ін'єкція АФА пригнічувала опосередковану eNOS релаксацію судин ацетилхоліном. Нарешті, у мишей без eNOS не спостерігалося підвищення адгезії лейкоцитів до ендотелію судин і утворення тромбу, індукованого АФА [176, 183, 191, 197, 209].

Дослідження *in vitro* показали вплив АФА на ендотеліальні клітини. У мишей АФА викликав підвищення адгезії моноцитів до ендотеліальних клітин, що є механізмом, безпосередньо пов'язаним з атеросклерозом. Ті ж автори досліджували роль β2-ГП-I в антагонізмі АФА до eNOS за допомогою експериментів, які по черзі включали та виключали β2-ГП-I з поверхні ендотеліальних клітин. Коли ці клітини втрачали β2-ГП-I, АФА не викликали інгібування eNOS, що вказує на те, що β2-ГП-I необхідний для повноцінного функціонування АФА [185, 187, 188, 193, 210, 225, 226].

1.4. Сучасний підхід до лікування пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом

Терапія хворих із АФС є досить складною проблемою. При первинному АФС необхідно проводити не лише лікувальні заходи, а й профілактику повторних порушень мозкового кровообігу. Враховуючи, що

АФС – це імунологічно опосередкована коагулопатія, використовують два принципові підходи: вплив на реологічні властивості крові за допомогою антикоагулянтів та антиагрегантів; зниження рівня АФА за допомогою імуносупресорів, кортикостероїдних гормонів, плазмаферезу (рис. 1.5).

У пацієнтів з високими титрами Ig G-АФА, але без клінічних ознак хвороби препаратом вибору є ацетилсаліцилова кислота (АСК) в малих дозах (75-100 мг/добу) на тлі плаквінілу (200 мг/добу), який пригнічує адгезію та агрегацію тромбоцитів. В разі його непереносимості – клопідогрель чи тиклопідин [12, 13, 209, 224, 227, 228, 229, 234].

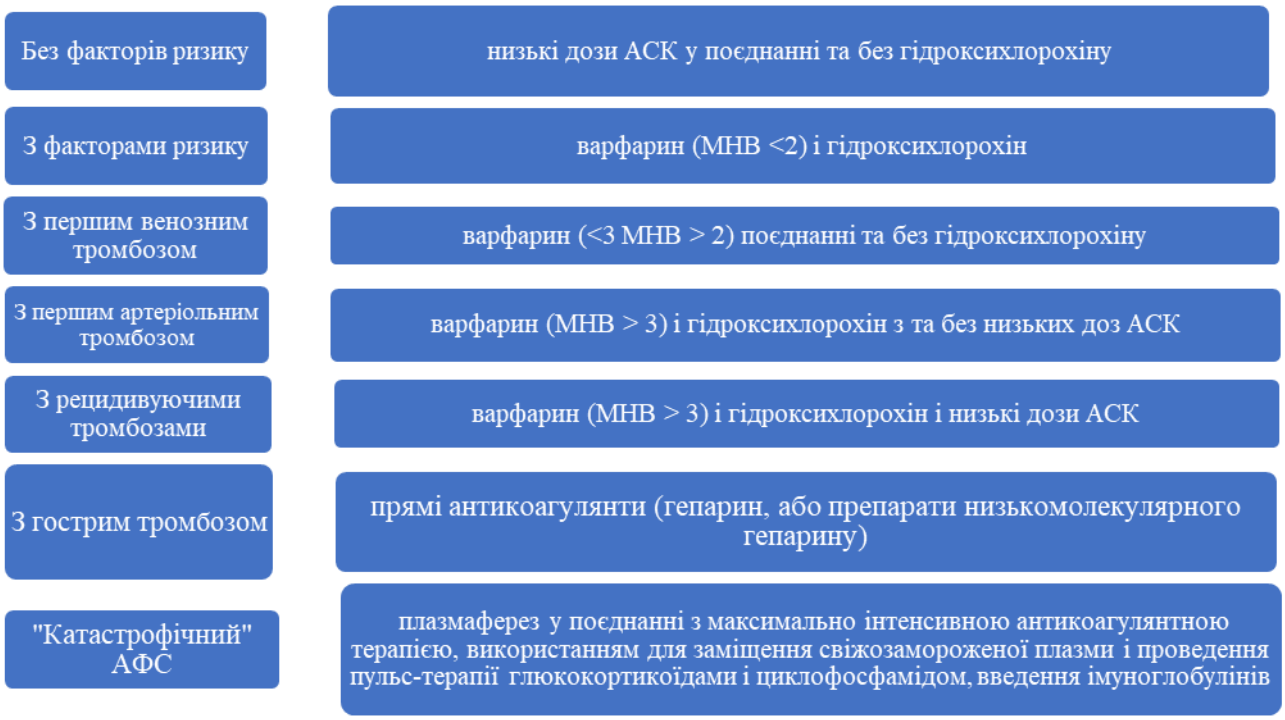

Рис. 1.5. Тактика лікування хворих на АФС

Для корекції реологічних властивостей крові хворим із вторинним та первинним АФС призначають тривало антикоагулянти непрямої дії (варфарин, синкумар) в дозах, які дозволяють підтримувати стан гіпокоагуляції на рівні міжнародного нормалізованого відношення (МНВ) понад 3 [49, 54, 75, 77, 180]. Застосування варфарину доцільно у початковій дозі 5 мг/добу, оскільки в таких випадках рідко виникає надлишкова

гіпокоагуляція з подальшою транзиторною гіперкоагуляцією. У цьому випадку відзначається достовірне зниження частоти рецидивування тромботичних ускладнень [202, 211, 214, 220, 221, 222, 223].

Застосування гепарину доцільно лише перед оперативними втручаннями, перериванням вагітності чи пологами, а також у разі довготривалої іммобілізації кінцівок. Підвищення титрів АФА під час вагітності потребує застосування у невеликих концентраціях глюкокортикоїдних гормонів (15-20 мг/добу преднізолону чи його аналогів).

У випадку вторинного АФС хворим із системними захворюваннями сполучної тканини слід призначати антиагреганти в комплексі з імунодепресантами цитотоксичної дії (циклофосфанід) та глюкокортикоїдами. Важливим механізмом утворення тромбозів при АФС є пригнічення фібринолізу, тому до комплексної терапії долучається ферментний препарат анкрод, заморожена плазма та засоби, які інгібують протеолізантипротеаз (гордокс, контрікал, трасілол) [50, 68, 89, 90, 91, 93, 124].

Дані щодо використання глюкокортикоїдів, імуноглобуліну, плазмаферезу нечисленні та суперечливі. Немає чітких вказівок про те, що глюкокортикоїди та імуноглобуліни запобігають повторним цереброваскулярним порушенням. Однак є відомості, що гормони можуть сприяти гіперкоагуляції. Застосування цих методів, безперечно, виправдано при вторинному та при «катастрофічному» АФС. Плазмаферез допомагає знизити активність аутоімунного процесу, провести детоксикацію та корекцію реологічних властивостей крові [125, 129, 151, 164, 173, 178, 181, 182, 184, 204].

Висновки до Розділу 1:

1. АФС відносять до числа найактуальніших мультидисциплінарних проблем сучасної медицини та розглядається як унікальна модель аутоімунної тромботичної васкулопатії.

АФС – дифузне захворювання сполучної тканини, що характеризується пошкодженням інтими судин мікроциркуляторного русла внаслідок формування аутоімунних антитіл до фосфоліпідів мембран клітин.

2. В патогенезі АФС провідну роль відіграють не тільки органо-специфічні аутоантитіла, але й порушення гемокоагуляції, АОЗ та ПОЛ, а також системний запальний процес, однак аналіз літературних джерел вказує на недостатність підтверджуючих механізмів даної патології. Більш детальне вивчення АОЗ, ПОЛ, ЕД та цитокінового профілю відіграє суттєве значення для розшифровки взаємозв'язку між такими фундаментальними патологічними процесами, як атеросклероз, васкуліт, порушення зсідання крові та системи імунного захисту.

3. Недостатнє вивчення патогенезу АФС обмежує повну та ранню діагностику різних варіантів АФС, а також альтернативні ефективні схеми корекції даного захворювання.

РОЗДІЛ 2
ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Графічне зображення етапів проведених клінічних та експериментальних досліджень наведено на рисунку 2.1.

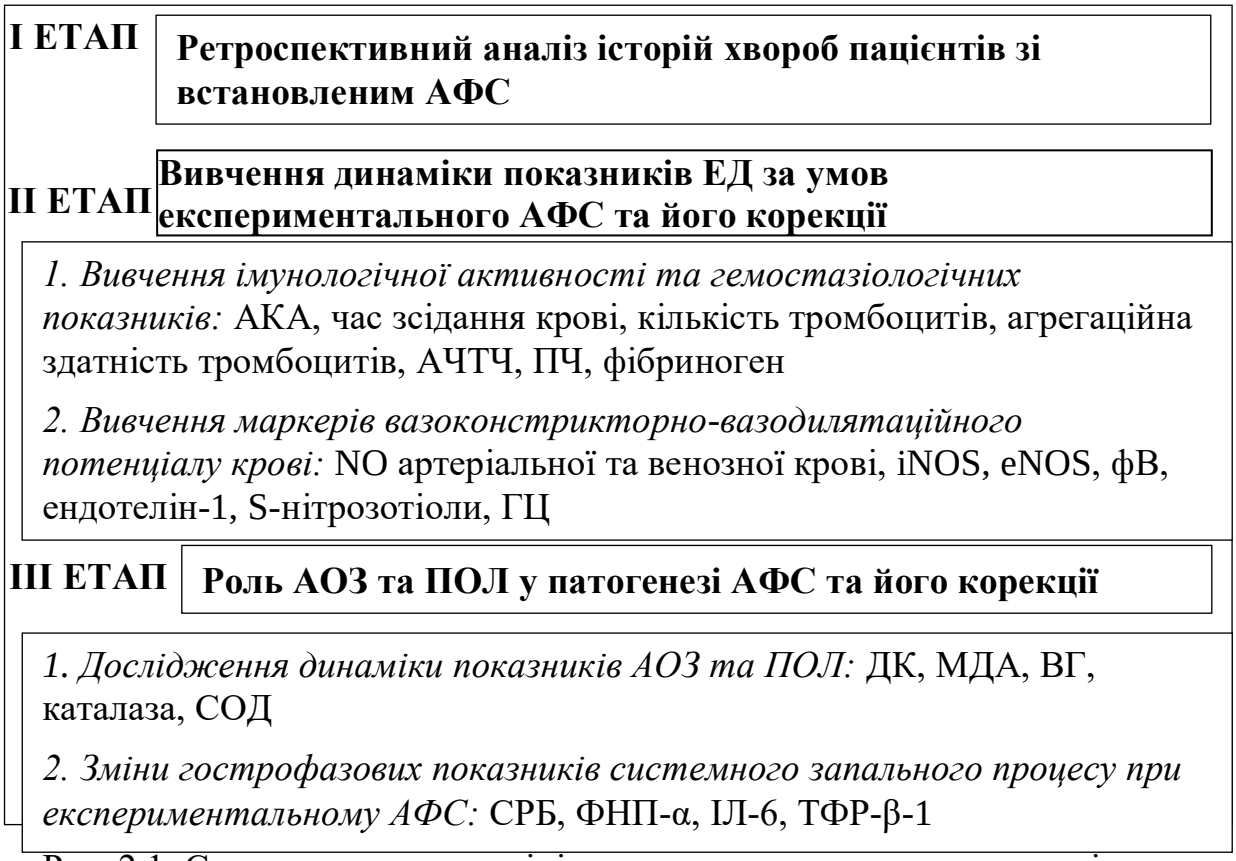

Рис. 2.1. Схема проведених клінічних та експериментальних досліджень

2.1. Матеріали дослідження пацієнтів

Нами проведено ретроспективний аналіз медичних карт амбулаторного/стаціонарного хворого 54 пацієнтів з основним діагнозом: АФС в період з 2016 р. до 2021 р., які знаходились на обстеженні та лікуванні у відділенні ревматології Багатопрофільного медичного центру Одеського національного медичного університету.

В залежності від віку та статі пацієнти були розподілені на 4 групи:

- I група – чоловіки віком 20-44 років (n=5);
- II група – чоловіки віком 45-59 років (n=3);
- III група – жінки віком 20-44 років (n=28);
- IV група – жінки віком 45-59 років (n=18).

Дослідження було проведено із дотриманням морально-правових та біотичних норм згідно Гельсінської декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження», затвердженою 18-ою Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (Гельсінкі, 1964) із подальшими переглядами, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародному кодексу медичної етики (1983) та законам України, що засвідчено комітетом з біоетики Одеського національного медичного університету.

Діагноз АФС (МКХ-11 4A45; МКХ-10 ILDS D68.810) встановлювали за рекомендаціями EULAR (2019), Наказу Міністерства охорони здоров'я України від 08.10.2007 р. № 626 «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з «Антифосфоліпідним синдромом» [12] та Наказу МОЗ України № 22 від 20.01.2015 р. «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з імунними захворюваннями» [13].

Верифікацію АФС проводили на підставі вивчення відповідної медичної документації, результатів інструментальних досліджень згідно нормативних положень міжнародних класифікаційних критеріїв 2020 р. [28] та Наказу МОЗ України від 08.10.2007 р. № 626 [12].

Діагностика коморбідної соматичної патології проводилась лікарями-спеціалістами відповідного фаху, доповнювалась в разі необхідності результатами додаткових інструментальних та лабораторних досліджень і підтверджувалась записами в медичній документації.

Перед початком дослідження потенційні учасники були ознайомлені з протоколом, метою та завданнями, алгоритмом проведення клініко-діагностичних процедур, можливими наслідками і підтвердили згоду взяти

участь у дослідженні особистим підписом.

Були окреслені наступні критерії включення хворих у дослідження:

- згода пацієнта взяти участь у дослідженні;
- жіноча та чоловіча стать;
- вік >20 років;
- верифікований діагноз первинного АФС;
- лабораторні критерії включали ВА, АКА до IgG/IgM, до β2-ГП-І в різних титрах не менше двох позитивних результатів із інтервалом понад 12 тижнів.

Критеріями виключення були:

- відмова пацієнта взяти учать у дослідженні;
- серонегативні форми АФС;
- наявність іншої аутоімунної патології;
- наявність інфекційного захворювання, що підтверджено позитивний аналізом на антитіла до ВІЛ, маркери вірусних гепатитів, сифілісу;
- важкі та декомпенсовані стани;
- онкологічні та/або гематологічні захворювання;
- алкогольна та наркотична залежність;
- офтальмологічні захворювання: патологія сітківки, катаракта, монофтальмія;
- хронічні захворювання печінки.

2.2.1. Методи лабораторного обстеження пацієнтів

Вивчення загальноклінічних лабораторних показників включало проведення дослідження загального аналізу крові та сечі, дослідження гемостазу, біохімічних показників крові (білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, АлАТ, АсАТ, СРБ, ревматоїдний фактор, тимолова проба, білкові фракції).

Загальний аналіз крові та сечі проводили згідно загальноприйнятих методик [11, 13].

Концентрацію гемоглобіну вивчали за методом, принцип якого базується на утворенні у водному середовищі із гемоглобіну ціанметгемоглобіну в присутності окиснювача та ціанід-аніонів, забарвлення якого пропорційне концентрації гемоглобіну в крові [11].

Підрахунок кількості тромбоцитів проводили за методом Фоніо в мазках крові, який ґрунтується на підрахунку числа тромбоцитів в пофарбованих мазках крові на 1000 еритроцитів, враховуючи вміст в цьому об'ємі кількості еритроцитів [15].

Концентрацію глюкози сироватки крові визначали колориметричним, ензиматичним методом із оксидазою глюкози на ФЕЦ'і при довжині хвилі 500 нм з товщиною кювети 1 см [11].

АсАТ, АлАТ визначали за колориметричним методом за Райтманом-Френкелем, принцип якого базується на тому, що дані ферменти каталізують транспорт аміногруп глютамінової кислоти до оксоглютарату в результаті чого утворюються піруват та глютамат. Дане перетворення супроводжується зміною в спектрі поглинання на довжині хвилі 340 нм, при цьому зменшення оптичної щільності розчину прямо пропорційне активності АсАТ та АлАТ в досліджуваних зразках [11].

Загальний білок вивчали за методом, який заснований на біуретовій реакції. Білки в лужному середовищі утворюють з іонами міді забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації загального білка. Визначення проводили при довжині хвилі 546 нм з товщиною кювети 1 см [11].

Концентрацію С-реактивного білка (СРБ) визначали в сироватці крові за допомогою напівкількісного методу латексної аглютинації з чутливістю 0,8-1,0 мг/л СРБ [11].

Ревматоїдний фактор визначали ІФА-аналізом для окремого кількісного та якісного визначення ревматоїдних факторів у сироватці

людини (IBL International, Німеччина) [11].

Рівень фібриногену визначали гравіметричним методом за Р. А. Рутберг. Утворений після зсідання плазми фібрин висушували та за масою згустку визначали вміст фібриногену в плазмі [11, 15]. Розрахунок маси фібринового згустку проводили за формулою 2.1:

$$\text{Фібриноген (г/л)} = 0{,}222 \times \text{М згустку} \qquad (2.1).$$

Протромбіновий час (ПЧ) досліджували за методом Quick A. J., принцип якого базується на визначенні часу зсідання рекальцифікованої плазми при додаванні до неї тканинного тромбопластину певної активності та чутливості до дефіциту факторів протромбінового комплексу [15].

Час рекальцифікації плазми вивчали за методом Howell, який базується на встановленні часу зсідання рекальцифікованої цитратної плазми при 37°С. Для цього в пробірку із відцентрифугованою цитратною плазмою додавали 0,2 мл розчину кальцію хлориду та відмічали час появи в плазмі ниток фібрину [15].

Тимолова проба полягає у визначенні сироваткових β-глобулінів, γ-глобулінів та ліпопротеїдів, які осаджуються при pH 7.55 тимоловим реактивом. Залежно від кількості та взаємного співвідношення окремих білкових фракцій при реакції виникає помутніння, інтенсивність якого вимірюють турбідиметрично. Вимірювання проводили на ФЕЦ'і при довжині хвилі 630 нм з товщиною кювети 1 см [11].

Концентрацію β-глобулінів, γ-глобулінів та α_2-глобуліни досліджували з використанням набору реагентів для визначення білкових фракцій в сироватці крові, метод якого базується на тому, що фосфатні розчини певної концентрації осаджують з утворенням дуже дрібної суспензії різні білкові фракції крові. За ступенем каламутності розчинів свідчили про концентрацію різних фракцій білків в досліджуваному матеріалі. Дослідження білкових фракцій проводили на ФЕЦ'і при довжині хвилі 640 нм з товщиною кювети 1 см [11].

Також проведено додаткові біохімічні (імуноферментні) дослідження:

визначення рівнів АФА класів IgG та IgM, антитіл до двохспіральної ДНК та АФА IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro.

Дослідження імунологічних та біохімічних показників пацієнтів проведено в лабораторії «СІНЕВО». Визначення *АФА класів IgG та IgM* та , *антитіл до двохспіральної ДНК та АФА IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro* проводили за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА, ELISA) із реагентами Euroimmun (Німеччина) на аналізаторі Euroimmun Analyzer, позитивний титр для АФА класів IgG та IgM розглядався понад 1,2 ОД/мл; антитіла до двохспіральної (нативної) ДНК понад – понад 15 МО/мл; антинуклеарні антитіла IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro – понад 1,0 ум.од.

2.2.2. Методи інструментального обстеження пацієнтів

Інструментальні дослідження включали визначення артеріального тиску та електрокардіографія в 12 стандартних відведеннях.

Визначення *артеріального тиску* проводили традиційним аускультативним методом вимірювання, при якому використовували надувну манжету, що охоплює кінцівку, у поєднанні зі стетоскопом для виявлення звуків, що видаються потоком крові, коли вона потрапляє під манжету. Манжета надувається до точки, коли тиск, який вона чинить на нижню руку, є достатньо високим, щоб зупинити потоки крові під ним, щоб не було чутно жодних звуків кровотоку. При зниженні тиску в манжеті, тиск, що передається від манжети до стінок підлеглих артерій, зменшується до точки, коли кровотік відновлюється, і починають чути звуки. Ці звуки різняться за інтенсивністю і зазвичай припиняються в точці найнижчого тиску в артеріях до наступного пульсу. Початковий звук наближається до пікового (систолічного), а кінцевий – до розслаблення (діастолічного) тиску в артерії [13, 14].

Реєстрацію *електрокардіограми* починали і закінчували записом

калібрувального сигналу 1mV. З цією метою шкіру під електродом зволожували або застосовували одноразові електроди, що мають шар струмопровідного гелю. Для реєстрації ЕКГ електрод з червоним кінцівником накладали на праву руку, з жовтим – на ліву руку, із зеленим – на ліву ногу, з чорним – на праву ногу. Грудні відведення знімали при встановлені електродів на поверхні грудної клітини відповідно до методичних рекомендацій. При цьому в кожному відведенні реєстрували не менше 4 комплексів ЕКГ, при аритмії або блокадах число комплексів 8 – 10 [11].

2.3. Матеріали та методи експериментального дослідження

Дослідження проведені на 100 безпородних щурах-самцях масою 180-220 г, вирощених у розпліднику Одеського національного медичного університету, і перед початком експерименту проходили акліматизацію для проведення випробувань протягом 7 діб. Тварини знаходилися на стандартному харчуванні і водному раціоні згідно санітарно-гігієнічним нормам: при температурі 20-22 ºС, вологості не більше 60-70 %, обсязі повітрообміну (витяжка-приплив) 8/10, світловому режимі день/ніч у стандартних алюмінієвих клітках (Directive 2010/63/EU of European Parlament and Council on the protection of animals used for scientific purposes) [7, 21].

Тварини були розподілені на наступні групи (рис. 2.1):

- 1-а група– інтактні тварини, які знаходились на стандартному раціоні віварію та отримували фізіологічний розчин об’ємом 1 мл (n=20);
- 2-а група – щури, яким моделювали АФС (n=20);
- 3-я група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини (ЗАТ «Біофарма») дозою 0,5 г/кг ваги та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну («CIMECTA», Китай, стандарт якості USP32) на 0,9 % розчині натрія хлориду дозою 500 мг/кг (n=20);

•4-а група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували внутрішньошлунково варфарин дозою 10 мг/кг маси тіла щура (виробництва ФС ТОВ «Фарма-Старт» / компанія Acino Group, Швейцарія) та внутрішньочеревинно імуноглобулін людини (ЗАТ «Біофарма») дозою 0,5 г/кг ваги (n=20);

•5-а група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином (внутрішньошлунково дозою 10 мг/кг), введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини (ЗАТ «Біофарма») дозою 0,5 г/кг ваги та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну («CIMECTA», Китай, стандарт якості USP32) на 0,9 % розчині натрія хлориду дозою 500 мг/кг (n=20).

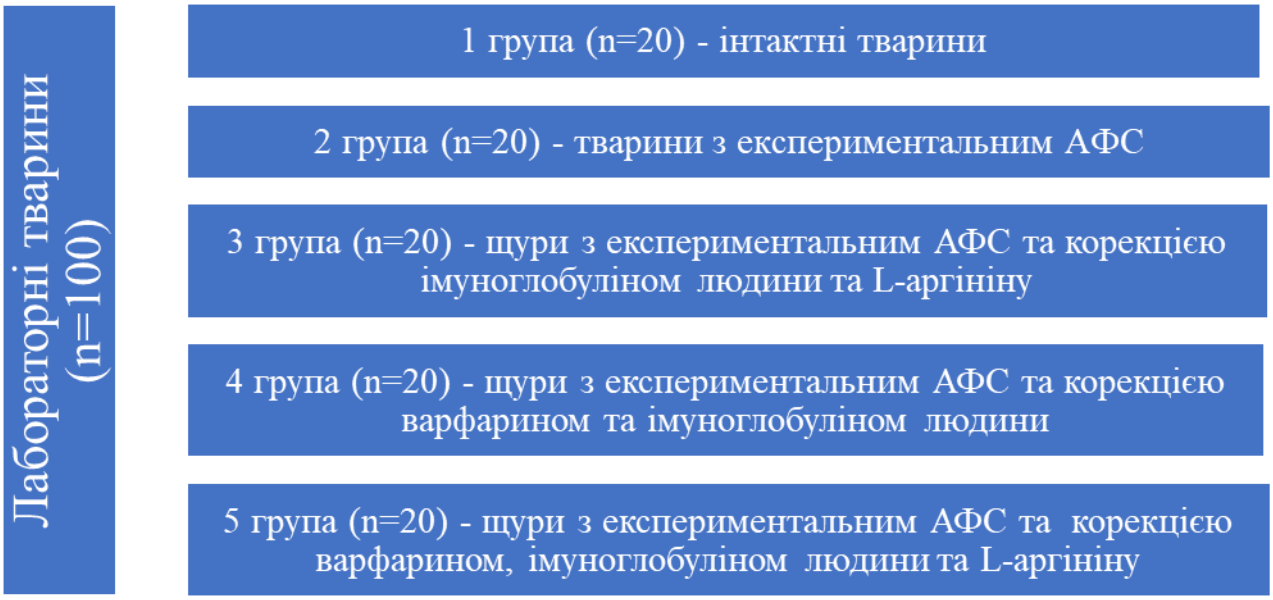

Рис. 2.2. Розподіл експериментальних тварин за групами

Перерахунок доз лікарських препаратів проводили, виходячи із середньотерапевтичної дози та беручи до уваги видову чутливість тварин за Ю. Р. Риболовлєвим [22]. Досліджувані препарати вводили щодоби протягом всього терміну експерименту, окрім варфарину, який застосовували через день.

Робота з тваринами проводилася відповідно до «Загальних етичних

принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. [7, 10, 21].

Всі больові маніпуляції були проведені під етамінал-натрієвим наркозом (вводили дозою 40 мг/кг внутрішньочеревно) [7, 21]. Евтаназію проводили шляхом передозування ефірного наркозу або шляхом цервікальної дислокації. Комісією з питань біоетики порушень морально-етичних норм при плануванні та проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 5 від 13.05.2026 р.).

Антифосфоліпідний синдром моделювали шляхом підшкірного введення кардіоліпінового антигену («Sigma», США) сумарною дозою 0,2-0,4 мг на одного щура через день протягом трьох тижнів. Дослідження тривало 8 тижнів, протягом яких тварини були під наглядом та/або лікуванням [4, 20, 24, 174].

Дослідження імунологічної активності та показників системи гемокоагуляції

Антитіла до кардіоліпоїну (АКА) визначали імуноферментним методом за набором Anti-Phospholipid Screen IgG/ IgM (ORG 529, Orgentec Diagnostika GmbH, Німеччина) у відповідності до інструкції фірми-виробника. Чутливість методу – 0,5 Од/мл, коефіцієнт варіації – <10 %. Нормальний діапазон <10 Од/мл, позитивний результат ≥10 Од/мл [8].

Час зсідання крові вивчали за допомогою метода Дьюка, принцип якого базується у визначенні тривалості кровотечі із поверхневих мікросудин після порушення їх цілісності. Для цього щурам відсікали кінчик хвоста та із

хвостової вени забирали 1 краплю крові на предметно скло, включали секундомір. Через кожні 15 – 20 с голкою проводили по краплі крові, фіксуючи появу перших ниток фібрину [11].

Визначення *агрегації тромбоцитів* проводили за експрес-методом візуальної оцінки А. С. Шитікова [11]. Метод полягає в додаванні агрегуючих агентів до плазми та перемішуванні, після чого розвивається агрегація тромбоцитів. Утворені агрегати досягають великих розмірів та їх можна побачити неозброєним оком у вигляді білих крупинок – феномен «снігової бурі».

Активований частковий тромбопластиновий час (каолін-кефаліновий час плазми) (АЧТЧ) за J. Caen ґрунтується на вивченні часу зсідання рекальцифікованої бідної на тромбоцити плазми за умов стандартної контактної (каолін) та фосфоліпідної (кефалін) активації [11].

Вивчення маркерів ендотеліальної дисфункції

Ендотелін-1 в крові вивчали за допомогою імуноферментного набору «Ендотелін 1» (виробництва фірми «Biomedica gruppe», Австрія) для кількісного визначення ендотеліну-1 [6, 159].

NO артеріальної та венозної крові визначали колориметричним методом, в основі якого лежить реакція Грісса, використовуючи для цього набір реактивів «R&D» (США) [159, 160].

NO-синтазну активність визначали спектрофотометричним методом за приростом вмісту нітриту в реакційній суміші, що містить дигідрофосфату калію, хлориду магнію, НАДФН хлориду кальцію (для вимірювання активності eNOS) або ЕДТА (для зв'язування ендогенного кальцію при вимірюванні активності iNOS) протягом 15 хвилин при температурі 37°С [11].

Вміст *S-нітрозотіолів* визначали спектрофлуориметричним методом. Принцип методу базується на наступному: відбувається конверсія групи S-нітрозотіолів в нітрити (за допомогою хлориду ртуті) і подальше кислотокаталізуюче нітрозотування 2,4-діамінонафталіна. Перед цим NO2

повністю вилучається за допомогою амонію сульфату (редукує NO2 до N2 в кислих умовах) [15].

Концентрацію фактора Віллебранда (фВ) визначали за набором реагентів «Віллебранд-тест» в цитратній плазмі. Метод ґрунтується на здатності фВ викликати аглютинацію тромбоцитів за наявності антибіотика ристоцетину (ристоміцину) [15].

Рівень *гомоцистеїну* (ГЦ) визначали з використанням високоефективної рідинної хроматографії за методом C. M. Pfeiffer [80].

Дослідження показників антиоксидантного захисту та системи перекисного окиснення ліпідів

Визначення дієнових кон'югатів (ДК). Ліпідні екстракти, які містять гідроперекиси поліненасичених жирних кислот з такими угрупуваннями в своїй структурі, володіють поглинанням в УФ-ділянці спектру: для кон'югованих дієнів при довжині хвилі 232 нм. Результат виражали в одиницях оптичної щільності на 1 мл сироватки [19, 107].

Концентрацію малонового диальдегіду (МДА) визначали за ТБК-методом, принцип якого полягає в утворенні забарвленого комплексу при взаємодії МДА з тіобарбітуровою кислотою [19, 107].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за реакцією відновлення нітротетразолія синього за присутності феназину метасульфату. Принцип методу базується на відновленні нітротетразолія супероксидними радикалами. Вимірювання проводили при довжині хвилі 540 нм на ФЕЦ'і в кюветі з товщиною шару 0,5 см [19, 107].

Активність каталази досліджували за методом Гіріна С. В., принцип якого оснований на зниженні вмісту перекису водню в інкубаційному середовищі, так як каталаза розщеплює перекис водню. Активність каталази в дослідній пробі вимірювали в порівнянні з контролем кожні 30 с протягом 3 хв при кімнатній температурі при довжині хвилі 230 нм [19, 107].

Вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали за методом, принцип якого базується на реакції сульфгідрильних груп з реактивом Елмана [19].

Вивчення гострофазових показників

Тканинний фактор росту-1β (ТФР-1β2) визначали за набором реагентів «TGF-β1 ELISA» (DRG, Німеччина) для імуноферментного визначення концентрації ТФР-1β в біологічних рідинах і культуральних середовищах.

Інтерлейкін-6 (IL-6) вивчали за набором реагентів «Інтерлейкін-6-ІФА-БЕСТ» для кількісного визначення в культурах та біологічних рідинах.

Концентрацію С-реактивного білка (СРБ) визначали в сироватці крові за допомогою напівкількісного методу латексної аглютинації з чутливістю 0,8-1,0 мг/л СРБ [11].

Фактор некрозу пухлини-α (ФНП-α) характеризували за набором «альфа-ФНП-ІФА-БЕСТ», який призначений для кількісного визначення ФНП-α в біологічних рідинах і культуральних середовищах та базується на твердофазному «сандвіч»-варіанті імуноферментного аналізу із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ФНП-α [11].

2.4. Методи статистичної обробки даних

Перед тим, як використовувати параметричні, базовані на нормальності статистичного розподілу, методи, були використані методи перевірки досліджуваних рядів кількісних даних на нормальність за допомогою критерія Шапіро-Уілка (Shapiro-Wilk's W test).

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10.0». Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп визначали за критеріями Стьюдента та Фішера. Рівень достовірності приймали при $p<0,05$ [16].

Отримані результати ретроспективного аналізу медичних карт (карта амбулаторного/стаціонарного хворого або електронна або медичні інформаційно-довідкові системи) представлено в таблицях як: $\bar{x}$ – середнє арифметичне, $S_{\bar{x}}$ – статистична похибка середнього арифметичного. Визначені абсолютні та відносні частоти досліджуваних ознак. Порівняння

двох груп із нормальним розподілом дат проведено за t-критерієм Стьюдента, відмінності показників вважали статистично значущими при $p<0,05$ [16].

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

1. Крюкова Г.В., Савицький В.І., Мерза Я.М., Столяренко В. Н., Савицький І.В., Єрмуракі П.П., Шибовська Л.Г. Методи моделювання експериментального гестаційного антифосфоліпідного синдрому. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту 2021. – С. 124-125
2. Савицький В. І., Якименко О. О. Порівняльна характеристика експериментальних моделей антифосфоліпідного синдрому. Youth pharmacy : матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 7-8 грудня 2021 р. Харків, 2021. С. 284–285.

РОЗДІЛ 3
КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦІЄНТІВ

3.1. Загальна характеристика пацієнтів

Проведено ретроспективний аналіз медичних карт амбулаторного/стаціонарного хворого 54 пацієнтів з основним діагнозом: АФС з 2016 р. до 2021 р., які знаходились на обстеженні та лікуванні у відділенні ревматології Багатопрофільного медичного центру Одеського національного медичного університету.

Протокол дослідження включав наступні етапи: 1) комплексне вивчення анамнезу, з'ясування та деталізацію скарг хворого, вивчення показників якості життя пацієнтів; 2) фізикальне обстеження з оцінкою антропометричних параметрів; 3) загальноклінічні лабораторні дослідження (загальний аналіз крові та сечі, дослідження гемостазу, загальновживані біохімічні показники крові (білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, АлАТ, АсАТ, СРБ, ревматоїдний фактор); 4) інструментальні дослідження (визначення артеріального тиску; електрокардіографія в 12 стандартних відведеннях); 5) додаткові біохімічні (імуноферментні) дослідження: визначення рівнів АФА класів IgG та IgM, антитіл до двохспіральної ДНК та АФА IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro [12, 13].

Діагноз АФС встановлювали на основі Міжнародних класифікаційних критеріїв 2006 р. Серед пацієнтів чоловічого статі з АФС було виявлено 5 пацієнтів (9,26 %) віком 20-44 років та 3 пацієнти (5,56 %) віком 45-59 років (табл. 3.1). Серед обстежених хворих з АФС жіночої статі обстежено 28 пацієнтів (51,85 %) віком 20-44 років та 18 (33,33 %) віком 45-59 років.

В залежності від віку та статі пацієнти були розподілені на 4 групи:

I група – чоловіки віком 20-44 років (n=5);

II група – чоловіки віком 45-59 років (n=3);

III група – жінки віком 20-44 років (n=28);

IV група – жінки віком 45-59 років (n=18).

Таблиця 3.1

Розподіл пацієнтів з антифосфоліпідним синдромом, залежно від статі та віку

Показник, n = 54	Стать				Всього	
	чоловіча		жіноча			
	абсолютна частота, n	відносна, частота, %	абсолютна частота, n	відносна, частота, %	n	%
20-44 років	5	9,26	28	51,85	33	61,11
45-59 років	3	5,56	18	33,33	21	38,89
					54	**100**

Примітка: n – загальна кількість хворих. Пацієнтів з АФС похилого та старечого віку впродовж пошуку не спостерігалося.

Згідно літературним даним частота виявлення АФС підвищується із віком та асоціюється із хронічними захворюваннями, а середній вік розвитку клінічної маніфестації складає 31 рік. У жінок АФС зустрічається в 5 разів частіше, аніж у чоловіків, що корелює із нашими даними. Графічне представлення одержаних результатів щодо розподілу пацієнтів з АФС залежно від статі та віку представлено на рисунку 5.1.

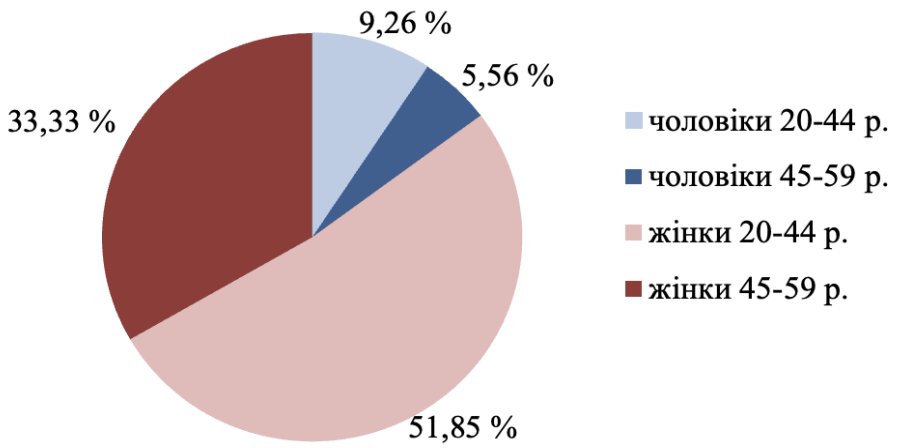

Рис. 3.1. Розподіл пацієнтів з АФС, залежно від статі та віку

Лабораторна оцінка АФС у даних пацієнтів включала визначення імунологічних показників: АФА класу IgG, IgM, антитіла до двохспіральної ДНК, антинуклеарні антитіла до IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro методом ELISA і, згідно з інструкцією до набору (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Аутоімунологічні показники у пацієнтів з антифосфоліпідним синдромом (n=54)

Показник, n=54	Кількість осіб з позитивним результатом		Інтерпретація результатів
	абсолютна частота, n	відносна частота, %	
АФА класу IgG	36	66,67	негативний, < 0,8 Од/мл; сумнівний – при 0,8-1,2 Од/мл; позитивний – > 1,2 Од/мл
АФА класу IgM	36	66,67	негативний, < 0,8 Од/мл; сумнівний – при 0,8-1,2 Од/мл; і позитивний – > 1,2 Од/мл
Антитіла до двохспіральної (нативної) ДНК	36	66,67	негативний, < 10 МО/мл; сумнівний – 10-15 МО/мл; позитивний – >15 МО/мл
Антинуклеарні антитіла IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro	36	66,67	негативний, < 0,7 ум. од.; сумнівний – 0,7-1,0 ум. од.; позитивний – > 1.0 ум. од.

Встановлено, що рівні сумарних АФА класу IgG у діапазоні > 1,2 Од/мл відмічали у 36 пацієнтів (66,67 %) та свідчили про позитивний результат. Аналогічні результати отримані при вивченні АФА класу IgM – кількість пацієнтів із позитивним результатом складала 36 (66,67 %).

Антитіла до двохспіральної ДНК, антинуклеарні антитіла до IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro також виявлено у 36 пацієнтів (66,67 %). Отже, одержані імунологічні результати вказують на наявність одного чи декількох позитивних результатів у пацієнтів з АФС.

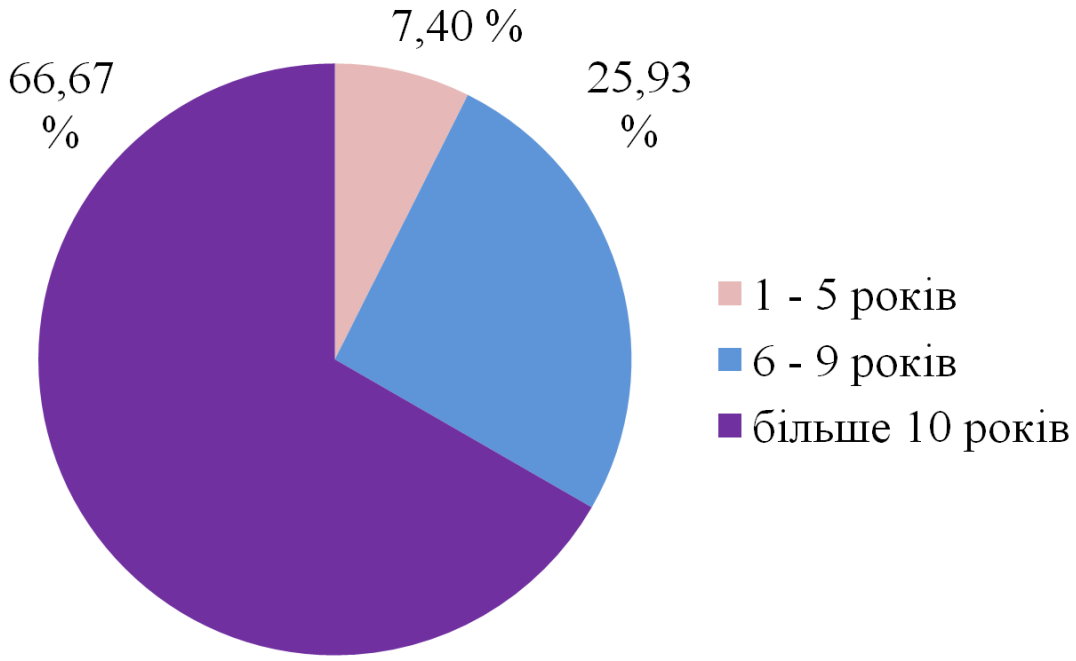

Рисунок 3.2. Розподіл пацієнтів залежно від тривалості антифосфоліпідного синдрому

У загальній групі хворих тривалість АФС на момент дослідження коливалась від 1 до 10 років та більше (рис. 3.2). При цьому, частка пацієнтів із тривалістю АФС понад 10 років була основною і становила 66, 67 %, у тому числі було виявлено 25,95 % осіб з тривалістю захворювання 6-9 років та 7,40 % пацієнтів – 1-5 років.

Встановлено, що кількість звернень у зв'язку із загостренням АФС залежала від віку та мала вірогідні відмінності (табл. 3.3.). Зокрема, пацієнти I групи зверталися в середньому 3,40±0,60 (n=5), а II групи – 4,67±0,33 (n=3). Пацієнти III групи зверталися із частотою в середньому 2,29±0,31 (n=28), а IV групи – 2,67±0,58 (n=18).

Загальна кількість супутніх патологій корелювала із кількістю звернень стосовно загострення АФС. Зокрема, у пацієнтів I групи даний показник в

середньому складав 2,80±0,80 (n=5), а II групи – 5,67±0,33 (n=3). В даних групах встановлено вірогідні відмінності між віковими групами – достовірність була на рівні p<0,05.

Таблиця 3.3

Загальна характеристика хворих на антифосфоліпідний синдром

Показник, n_1=54	**Стат. показники**	**I група**	**II група**	**III група**	**IV група**
Загальна кількість супутніх патологій	n_2 $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	5 2,80±0,80	3 5,67±0,33*	28 2,21±0,18	18 1,94±0,06
Кількість звернень у зв'язку із загостренням	n_2 $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	5 3,40±0,60	3 4,67±0,33*	28 2,29±0,31	18 2,67±0,58
Вік маніфестації захворювання	n_2 $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	8 26,00±6,45		46 25,61±1,37	

Примітка: n_1 – загальна кількість хворих; n_2 – кількість пацієнтів у групі, $\bar{x}$ – середнє арифметичне, $S_{\bar{x}}$ – статистична похибка середнього арифметичного, * – статистично значущі відмінності між віковими групами в межах однієї статі за t-критерієм Стьюдента.

У III групі пацієнтів загальна кількість коморбідних патологій в середньому складала 2,21±0,18 (n=28), а в IV групі – 1,94±0,06 (n=18). Одержані дані вказують на відсутність впливу коморбідних станів на розвиток АФС: як у чоловіків, так і жінок віком 20-44 років загальна кількість супутніх патологій та кількість звернень у зв'язку із загостренням перевищувала кількість пацієнтів середньої вікової групи. Підтвердженням даних результатів є вік маніфестації АФС – у пацієнтів чоловічої статі даний показник складав в середньому 26,00±6,45 років, а жіночої статі – 25,61±1,37 років.

У хворих на АФС також ми оцінювали частоту і спектр супутньої патології (синдроми та симптоми) залежно від віку та статі (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Симптоми та синдроми у пацієнтів досліджуваних груп

Симптоми та синдроми, n = 54		**I група**	**II група**	**III група**	**IV група**
Артралгії, поліартрит	абсолютна частота, n	4	0	14	14
	відносна, частота, %	7,41	0,00	25,93	25,93
Порушення серцево-судинної системи	абсолютна частота, n	0	1	12	13
	відносна, частота, %	0,00	1,85	22,22	24,07
Люпус-нефрит	абсолютна частота, n	2	3	10	3
	відносна, частота, %	3,70	5,56	18,52	5,56
Хронічна ниркова недостатність	абсолютна частота, n	0	0	2	0
	відносна, частота, %	0,00	0,00	3,70	0,00
Ураження легень	абсолютна частота, n	1	0	3	0
	відносна, частота, %	1,85	0,00	5,56	0,00
Шкірні прояви: симптом метелика	абсолютна частота, n	2	5	17	3
	відносна, частота, %	3,70	9,26	31,48	5,56
Імунологічні прояви	абсолютна частота, n	0	0	2	0
	відносна, частота, %	0,00	0,00	3,70	0,00
Астенічний синдром	абсолютна частота, n	0	0	0	2
	відносна, частота, %	0,00	0,00	0,00	3,70
Ураження нервової системи	абсолютна частота, n	0	0	0	4
	відносна, частота, %	0,00	0,00	0,00	7,41
Ураження щитоподібної залози	абсолютна частота, n	0	0	0	2
	відносна, частота, %	0,00	0,00	0,00	3,70

Примітка: n – загальна кількість хворих.

Встановлено, що у пацієнтів I групи найчастіше виявляли артралгії та поліартрит (4 пацієнта – 7,41 %), шкірні прояви (2 пацієнта – 3,70 %), люпус-нефрит (2 пацієнта – 3,70 %) та ураження легень (1 пацієнт – 1,85 %). В II групі найчастіше відмічалися шкірні прояви (5 пацієнтів – 9,26 %), люпус-нефрит (3 пацієнта – 5,56 %) та лише у одного пацієнта (1,85 %) було діагностовано порушення серцево-судинної системи, що проявлялося у вигляді стенокардії.

У III групі найчастіше відмічали шкірні прояви у вигляді сітчатого ліведо (17 пацієнтів – 31,48 %), артралгії та поліартрит (14 пацієнтів – 25,93 %), порушення серцево-судинної діяльності (12 пацієнтів – 22,22 %) у вигляді артеріальної гіпертонії, порушенням клапанного апарату, облітеруючими захворюваннями судин, люпус-нефрит (10 пацієнтів –

18,52 %), ураження легень (3 пацієнта – 5,56 %), хронічна ниркова недостатність (2 пацієнта – 3,70 %) та імунологічні прояви (2 пацієнта – 3,70 %).

Нами виявлено, що у жінок з діагностованим АФС IV групи, вірогідно частіше діагностують артралгії та поліартрит (14 пацієнтів – 25,93 %), порушення серцево-судинної системи (13 пацієнтів – 24,07 %), ураження нервової системи, зокрема цереброваскулярні розлади та ішемічні атаки (4 пацієнта – 7,41 %), люпус-нефрит (3 пацієнта – 5,56 %), шкірні прояви (3 пацієнта – 5,56 %), ураження щитоподібної залози у вигляді гіпотиреозу, аутоімунного тиреоїдиту (2 пацієнта – 3,70 %).

Отримана інформація не залишає сумнівів щодо більшої частоти патології серцево-судинної системи та кістково-м'язового апарату і більш тяжкого їх перебігу у хворих на АФС. Виявилося, що АФС спричиняє більш раннє ураження судин у хворих на АФС. Так, частка осіб з артеріальною гіпертензією у хворих на АФС в молодій віковій категорії відмічалася частіше у жінок, аніж у чоловіків. Аналогічна тенденція встановлена і у групи пацієнтів середньої вікової групи. Артеріальна гіпертензія при АФС виникає як наслідок ниркової патології та пов'язаної з нею активації ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. Тромбоз ниркових судин, інфаркт нирок, тромбоз черевного відділу аорти та клубочків нирки – поширені причини розвитку злоякісної артеріальної гіпертензії у молодих людей.

За даними S. R. Sangle та співавторів поширення артеріальної гіпертензії виявляють у 27 % хворих із АФС, тобто обстежена нами популяція хворих на АФС в Україні суттєво не відрізняється від такої у вищенаведених дослідженнях за частотою основних клінічних маніфестацій АФС [172]. Літературні дані також свідчать про наявність тісного зв'язку між ураженнями серцево-судинної системи та рівнем АФА у хворих на АФС. Доведено, що наявність АФА значно підвищує ризик ішемічного інсульту і тромбоемболії легеневої артерії [34].

Неврологічні прояви АФС є найбільш ранніми, частими та різноманітними. Іноді АФС проявляється неврологічною симптоматикою. Патологія характеризується судинними розладами внаслідок тромбозів і безпосереднім ураженням тканини мозку. Розлади мозкового кровообігу є першим і чи не єдиним проявом ішемічної патології при первинному АФС і можуть виникати у різних судинних басейнах. Перший епізод церебральної ішемії виникає у молодому віці. Вогнищева неврологічна симптоматика при ішемічному інсульті розвивається дуже швидко, однак швидко зникає. Можуть виникати поперечна мієлопатія, хорея, синдроми, схожі на розсіяний склероз, периферичні нейропатії. Ряд неврологічних порушень при АФС не пов'язаний з ішемією, а є наслідком первинного імуноопосередкованого пошкодження мозку та периферичної нервової системи [39].

На шкірі при АФС часто спостерігають сітчасте ліведо (livedo reticularis) – стази, артеріоловенозні шунти судин шкіри з ділянками ціанозу. У хворих виникають застійні виразки шкіри, псевдоваскулітні та васкулітні ураження (некротизуюча пурпура, долонна та підошовна еритема, вузлики, пустули), множинні крововиливи в нігтьове ложе, гангрена пальців рук і ніг тощо [44].

Ураження нирок у формі нефропатії при АФС обумовлене розвитком тромботичної мікроангіопатії внаслідок тромбозів капілярів клубочків і позагломерулярних судин. Однак можливі і такі грізні ускладнення АФС, як тромбоз ниркової артерії та вени, капілярів клубочків, ниркова тромботична мікроангіопатія, що призводять до формування ниркової недостатності [97].

Також нами проведено аналіз біохімічних показників у пацієнтів з АФС (табл. 3.5). У всіх пацієнтів (n=54) встановлено виражену тромбоцитопенію із середнім рівнем кров'яних пластинок 112,44±3,94 х10^9/л. Зазвичай зниження кількості тромбоцитів відбувається поступово, без видимих клінічних ознак. Літературні дані вказують, що у пацієнтів з тромбоцитопенією частіше реєструються кардіоваскулярні прояви

захворювання. Проведений аналіз показав, що зниження рівня кров'яних пластинок, ймовірно, тісно асоціюється з рівнем АФА.

Таблиця 3.5

Біохімічні показники сироватки крові пацієнтів з антифосфоліпідним синдромом

Показник, n = 54		Значення показників, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	Референсні значення	Кількість осіб з відхиленнями від референтних значень	
				абсолютна частота, n	відносна, частота, %
Гемоглобін, г/л	чоловіки, $n_1 = 8$	141,50±6,06	130,00-160,00	4	50,00
	жінки, $n_2 = 46$	123,00±2,82	120,00-140,00	36	78,26
Тромбоцити, $x10^9$/л		112,44±3,94	180,00-320,00	54	100,00
Глюкоза сироватки крові, ммоль/л		5,70±0,19	3,60-5,50	27	50,00
АсАТ, мккат/л або мкмоль/(с•л)		0,51±0,02	0,18-0,78	2	3,70
АлАТ, мккат/л або мкмоль/(с•л)		0,56±0,05	0,12-0,88	16	29,63
Білірубін прямий, мкмоль/л		6,23±0,36	0-5,10	30	55,56
Загальний білок, г/л		80,70±0,88	66,00-83,00	20	37,04
С-реактивний білок, мг/л		1,67±0,13	< 10,00	–	–
Ревматоїдний фактор, Од/мл		1,19±0,14	< 14,00	–	–
Фібриноген, г/л		4,69±0,30	2,00-4,00	31	57,41
Протромбіновий час, с		6,76±0,31	9,60-11,80	54	100
Час рекальцифікації плазми, с		125,69±2,60	60,00-120,00	37	68,52
Тимолова проба, Од		6,10±0,52	< 4,00	36	66,67
β-глобуліни, %		12,14±0,44	7,30-12,50	29	53,70
α_2-глобуліни, %		10,23±0,30	6,90-10,50	27	50,00
γ-глобулін, %		17,04±0,72	12,50-19,00	23	35,19

Примітка: n – загальна кількість хворих, n_1 – кількість чоловіків, n_2 – кількість жінок, $\bar{x}$ – середнє арифметичне, $S_{\bar{x}}$ – статистична похибка середнього арифметичного.

У 27 пацієнтів (50 %) відмічалося підвищення рівня глюкози сироватки крові, що може свідчити про зміни вуглеводного та/або ліпідного обміну у хворих на АФС та початок розвиток цукрового діабету. Одна дані результати, ймовірно, корелюють саме із віком пацієнтів та не мають прямої залежності від розвитку АФС.

У 31 пацієнта (57,41 %) спостерігалося підвищення рівня фібриногену, що в середньому дорівнює 4,69±0,30 г/л. У всіх пацієнтів (100 %) відмічали значне зниження рівня ПЧ (в середньому 76,76±1,19 с). Також у 37 пацієнтів (68,52 %) спостерігалося подовження часу рекальцифікації плазми (середнє значення 125,69±2,60 с). Відомо, що при АФС відбувається активація системи зсідання крові, що призводить до розвитку тромботичних ускладнень. Встановлено, що підвищений вміст фібриногену (гіперфібриногенемія), прискорення ПЧ та часу рекальцифікації плазми є маркерами активації системи зсідання крові та можуть виступати прогностичними показниками розвитку тромботичних ускладнень при АФС.

Серед причин підвищеної тенденції до розвитку порушень в системі гемостазу у хворих на АФС обговорюється ціла низка чинників і, в першу чергу, кардинальна особливість патогенезу АФС, яка полягає в продукції великої кількості аутоантитіл зі значним ступенем їх поліморфізму. В результаті, у хворих можуть однозначно існувати антитіла до багатьох антигенів, що обумовлює значні варіації в клінічній картині захворювання та різноманітність органних уражень. Отже, висока частота порушень в системі гемостазу та їх тісний зв’язок з АФС вказує на необхідність постійного моніторингу агрегаційної здатності тромбоцитів, дослідження порушень системи зсідання крові та фібринолізу у хворих при АФС.

У 36 пацієнтів (66,67 %) встановлено вірогідний ріст тимолової проби та складала 6,10±0,52 Од. Тимолова проба є важливим маркером змін

білково-синтетичної функції печінки, оскільки більшість білків плазми утворюється саме в гепатоцитах. Підвищення значення даного показника свідчить про вірогідне ураження печінки на тлі АФС з подальшим розвитком токсичного гепатиту чи цирозу.

Встановлено, що рівень прямого білірубіну у 30 пацієнтів (55,56 %) перевищував референтні значення та в середньому складав 6,23±0,36 мкмоль/л. Прямий білірубін – показник патології печінки, при чому його рівень значно зростає при гепатитах різного генезу, а також захворювання біліарної системи, а причиною виступає запальний процес із явищами ексудації. Тобто, можна стверджувати, що у пацієнтів з АФС можливий перебіг захворювання з клінічними проявами з боку гепатобіліарного тракту.

Аналіз білкових фракцій свідчив про те, що у 50 % пацієнтів їх рівень досягав верхньої межі референтних значень, що може свідчити про участь системного імунозапального процесу в патогенезі АФС.

Висновки до Розділу 3:

1. Методом збору анамнестичних даних та результатів клінічного лабораторного обстеження, відповідно до чинних протоколів надання медичної допомоги та діагностичним критеріям антифосфоліпідного синдрому, ретроспективний аналіз підтверджує той факт, що у жінок антифосфоліпідний синдром зустрічається в 5 разів частіше, аніж у чоловіків. У загальній групі хворих тривалість даної патології на момент дослідження коливалась від 1 до 10 років.

2. У всіх пацієнтів з АФС виявилися підвищені рівні сумарних антитіл. Зокрема, рівні сумарних АФА класу IgG у діапазоні > 1,2 Од/мл відмічали у 36 пацієнтів (66,67 %) та свідчили про позитивний результат. Аналогічні результати отримані при вивченні АФА класу IgM – кількість пацієнтів із позитивним результатом складала 36 (66,67 %). Антитіла до двохспіральної

ДНК, антинуклеарні антитіла до IgG до нуклеарного антигену SS-A/Ro також виявлено у 36 пацієнтів (66,67 %). Отже, одержані імунологічні результати вказують на наявність одного чи декількох позитивних результатів у пацієнтів з АФС.

3. Встановлено, що кількість звернень у зв'язку із загостренням АФС залежала від віку та мала вірогідні відмінності. Також відмічено, що загальна кількість супутніх патологій корелювала із кількістю звернень стосовно загострення АФС.

4. Виявлено, що у пацієнтів чоловічої статі 20-44 років на тлі АФС найчастіше виявляли артралгії та поліартрит, а у чоловіків вікової групи 45-59 років – шкірні прояви. У жінок вікової групи 20-44 років на тлі діагностованого АФС найчастіше відмічали шкірні прояви у вигляді сітчатого ліведо, артралгії та поліартрит, а також порушення серцево-судинної діяльності. У жінок вікової групи 45-59 років – артралгії та поліартрит та порушення серцево-судинної системи.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

1. Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. №2(19). С. 97-104. doi: https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2023.13
2. Yakymenko Olena, Vasylets Viktoria, Klochko Viktor, Savytskyi Vladimir, Tikhonchuk Natalya. Rituximab efficacy in caps. Lupus Science & Medicine. 2020. Vol. 7 (Suppl. 1). P. 31-32. doi: 10.1136/lupus-2020-eurolupus.55 (**SCOPUS Q1**).
3. Савицький В.І., Поліванова Н.П., Савицький І.В. Дослідження коморбідної серцево-судинної патології у пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом (ретроспективний аналіз). Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (19- 21 вересня 2024 р.). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний

університет, 2024. - С. 180-183

4. Савицький В. І., Поліванова Н. П., Савицький І. В. Retrospective analysis of comorbidity of cardiovascular pathology and antiphospholipid syndrome. XXIV–і читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. - С. 152-154

РОЗДІЛ 4
ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ДИНАМІКИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ У ТВАРИН

4.1. Вивчення імунологічної активності та гемостазіологічних особливостей у щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом

Для встановлення діагнозу «АФС» необхідним є наявність декількох позитивних результатів лабораторних тестів, тому на першому етапі нашого дослідження ми провели оцінку реакції мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном у щурів зі змодельованим АФС. Додатковим підтвердженням патології у лабораторних тварин слугували параметри системи гемостазу, а саме: час зсідання крові в фосфоліпідзалежних коагуляційних тестах, агрегаційна здатність тромбоцитів, АЧТЧ, ПЧ та рівень фібриногену [32, 34].

Як показали результати проведених досліджень при визначенні наявності АКА за допомогою реакції мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном встановлено, що у тварин інтактної групи дана реакція була негативною. У тварин зі змодельованим АФС спостерігалася преципітація, що свідчило про розвиток АФС. Однак ізольоване вимірювання АКА вважається недостатнім для верифікації діагнозу, тому нами проведено вивчення судинно-тромбоцитарної та коагуляційної ланок гемостазу.

При дослідження показників системи гемостазу у щурів із експериментальним АФС одержано наступні результати (табл. 4.1).

Встановлено, що у щурів із змодельованим АФС відмічалося скорочення часу зсідання крові 1,5 рази ($p<0,05$) відносно інтактних тварин (90,3±2,3 с проти 134,7±7,2 с). Одержані дані вказують на підвищення коагуляційного потенціалу тромбоцитів у щурів з АФС.

Нами встановлено, що у тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне зниження кількості тромбоцитів в 2,6 рази ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Одержані результати пояснюються тим, що тромбоцити відіграють ключову роль у розвитку тромбозу на тлі АФС за рахунок наявності рецепторів, які взаємодіють з антитілами до β2-ГП-І з подальшим вивільненням прокоагулянтних медіаторів – тромбоксану А2 та тромбоцитарного фактору 4.

Таблиця 4.1

Показники системи гемостазу у щурів з експериментальним антифосфоліпідним синдромом

Показник	Інтактна група, n=20	Щури зі змодельованим АФС, n=20
Час зсідання крові, с	134,7±7,2	90,3±2,3*
Тромбоцити, 10^9/л	568,4±15,1	215,1±8,4*
Агрегація тромбоцитів, с	13,1±1,3	64,2±3,1*
АЧТЧ, с	22,3±0,8	13,6±0,6*
ПЧ, с	11,6±0,5	6,9±0,3*
Фібриноген, г/л	2,8±0,3	10,4±0,6*

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. n – кількість експериментальних тварин.

Вірогідне зниження рівня тромбоцитів є результатом виснаження тромбоцитарного потенціалу, оскільки АФС-опосередкований тромбоз є результатом стану гіперкоагуляції, викликаної активацією ендотеліальних клітин та моноцитів. Крім цього тромбоцити залучені до процесу посиленої активації та генерації фібрину за допомогою аутоантитіл до β2-ГП-І комплексу. Утворення комплексів на активованих тромбоцитах сприяє їх агрегації та тромбоутворення, тому тромбоцитопенія має наслідковий характер. З іншого боку, тромбоцитопенія при АФС може бути результатом

«імуноопосередкованого очищення» тромбоцитів [167, 168, 169].

Нами відмічалося прискорення часу агрегації тромбоцитів в 4,9 разів ($p<0,05$) відносно інтактних тварин (даний показник складав 64,2±3,1 с проти 13,1±1,3 с), що пояснюється наявністю рецепторів, які знаходяться на поверхні кров'яних пластинок та посилюють їх прокоагулянтні властивості.

Дослідження коагуляційної ланки гемостазу включало вивчення АЧТЧ, ПЧ та рівня фібриногену. Встановлено, що у тварин із змодельованим АФС, АЧТЧ скорочувався до 13,6±0,6 с та вірогідно ($p<0,05$) відрізнявся від групи інтактних тварин (22,3±0,8 с). Скорочення АЧТЧ свідчить про активний вплив на внутрішній механізм активації зсідання крові та можливість дії на процеси утворення кров'яної протромбінази, прискорення I фази гемокоагуляції – генерації протромбінази [169, 179].

Також встановлено скорочення ПЧ у тварин з АФС. Зокрема, даний показник скорочувався в 1,7 разів ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами, що пов'язано із небезпекою розвитку тромбозу.

При вивченні рівня фібриногену ми спостерігали його вірогідне підвищення в 3,7 разів ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами (10,4±0,6 г/л проти 2,8±0,3 г/л).

Одержані експериментальним шляхом дані (позитивний тест мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном та зміни системи гемостазу) підтверджують розвиток АФС у щурів. Встановлені зміни показників гемокоагуляції при АФС виникають за рахунок взаємодії факторів зсідання крові з АФА. Антитіла до протромбіну також виступають в ролі мішені при АФС. Протромбін також виступає попередником тромбіну, що підтримує і модулює тромботичну відповідь. Протромбінові антитіла індукують посилене утворення тромбіну та фібрину, а також сприяють експресії тканинної протромбінази та Е-селектину ендотеліальними клітинами [179, 206].

4.2. Динаміка маркерів вазоконстрикторно-вазодилятаційного потенціалу крові щурів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому та його корекції

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення ЕД за умов АФС, як одного із ключових патогенетичних механізмів в розвитку даної нозології.

Відомо, що ендотелій відіграє роль модулятора секреції вазоконстрикторів та вазодилятаторів. В свою чергу ендотеліоцити регулюють адгезію та агрегацію тромбоцитів, про- та антикоагулянтну активність, підтримують тонус судин та фібринолітичну активність. Доведено, що за умов хронічного пошкодження ендотелію розвивається його дисфункція, що у свою чергу спричиняє міграцію гладком'язових клітин із медії до інтими з утворенням фіброзних бляшок, вивільненню факторів росту та адгезії тромбоцитів [45, 135, 168].

Оскільки в патогенезі ЕД ключову роль відіграє дисбаланс продукованих ендотелієм вазоконстрикторів (ангіотензин, ендотелін-1) та вазодилятаторів (NO, S-NO) нами було проведено вивчення змін даних маркерів у тварин як за умов змодельованої патології, так і при корекції.

4.2.1. Дослідження рівню ендотеліну-1 у тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом

Відомо, що ендотелін-1 – найбільш виражений вазоконстриктор, який у 10 разів потужніший за ангіотензин II, та у 100 разів – за норадреналін. Цей вазоконстриктор утворюється в ендотеліальних клітинах та від його концентрації залежить вазоконстрикція та вазодилятація судин. Його утворенню сприяють ангіотензин-II, адреналін, вазопресин, цитокіни, тромбін та механічний вплив. При малих концентраціях ендотелін-1 впливає на ендотеліальні клітини, активуючи фактори релаксації, у той час як

підвищення його рівня активує рецептори на гладком'язових клітинах, що спричиняє спазм судин [198, 199].

Ендотелін-1 має важливе значення, як маркер та предиктор тяжкості численних захворювань. Він відіграє важливу роль у патогенезі атеросклерозу, легеневої гіпертензії, післяпологових судинних пошкоджень, ішемічного пошкодження мозку, гломерулонефриту, цукрового діабету та його ускладнень [225, 230].

Встановлено збільшення рівня ендотеліну-1, який є маркером ЕД, що свідчить про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованої патології (рис. 4.1).

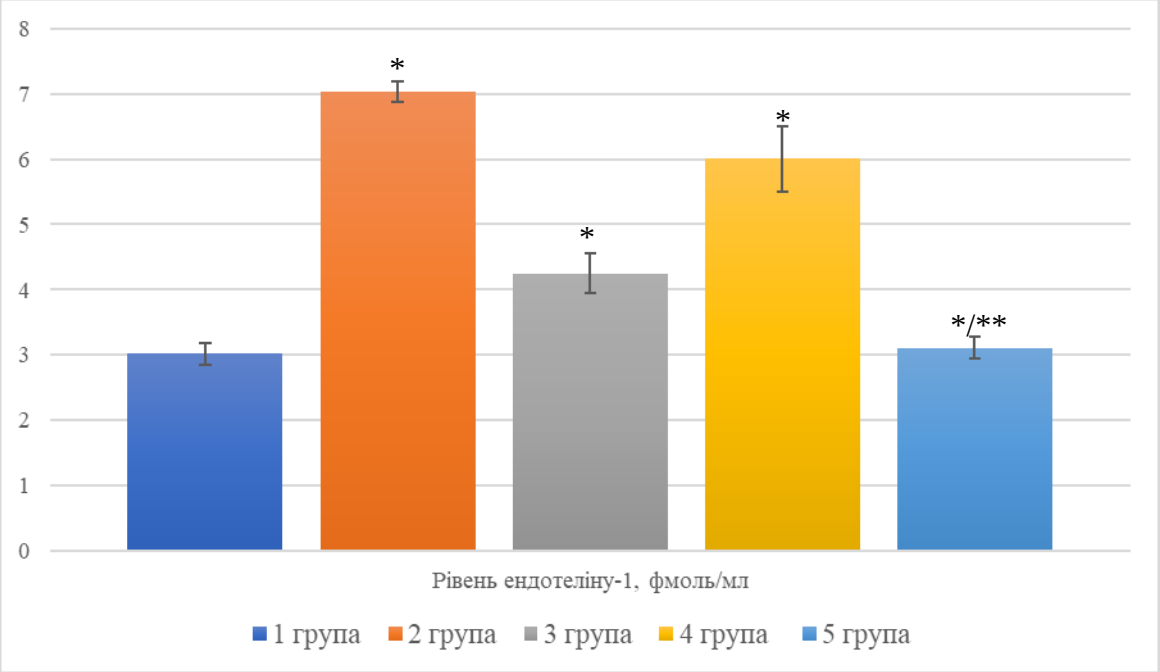

Рис. 4.1. Рівень ендотеліну-1 у крові експериментальних щурів зі змодельованим АФС та при його корекції (M±m)

Примітки:

1. * – p<0,05 порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – p<0,05 порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У другій групі за умов експериментального АФС встановлене вірогідне підвищення рівню ендотеліну-1 в 2,3 рази (p<0,05) у групі щурів із

експериментальним АФС порівняно із інтактними тваринами. У групі № 3 рівень досліджуваного маркера вазоконстрикції на момент визначення теж був вірогідно вищим в 1,4 рази відносно інтактних тварин (на рівні значущості $p<0,05$), але менш вираженим аніж у групі №2 ($p_{3-2}<0,05$). При аналізі даних тварин четвертої групи встановлено наступне: рівень ендотеліну-1 у крові щурів цієї групи вірогідно підвищувався в 2,0 рази у порівнянні з даними інтактних тварин ($p<0,05$). Але його патологічне підвищення було менш вираженим, ніж у крові щурів групи № 2.

Найбільш виражений позитивний ефект коригуючого впливу встановлений у групі тварин № 5: рівень ендотеліну-1 був статистично дуже високо значущо нижчим у порівнянні з результатами 2-ї, 3-ї та 4-ї груп ($p<0,05$). У порівнянні з даними інтактних тварин відмінностей не виявлено, що свідчить про нормалізацію даного маркера ЕД та вазоконстрикції.

4.2.2. Вивчення ролі оксиду азоту в патогенезі антифосфоліпідного синдрому та при його корекції

NO – внутрішньоклітинний месенджер, який здійснює регуляцію фізіологічних функцій, зокрема: периферичний опір, артеріальний тиск, розподіл кровотоку в судинній мережі; регулює базальний тонус судин за рахунок інгібування синтезу ендотеліального констрикторного фактору ендотеліну-1 та обмежує вивільнення норадреналіну із симпатичних нервових закінчень тощо. Також NO обумовлює протизапальні ефекти, що реалізуються шляхом зниження синтезу та експресії цитокінів і молекул адгезії, гальмує агрегацію тромбоцитів та інгібує їх адгезію [231, 232].

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення рівня NO як на генералізованому рівні – в венозній та артеріальній крові, так і на локальному – eNOS-та і NO-синтаз за умов експериментального АФС. Також нами було розраховано співвідношення NO артеріальної та венозної крові у всіх експериментальних групах тварин.

Одержані результати щодо дослідження рівня NO в системному кровотоці у щурів на тлі експериментального АФС та його корекції наведено в таблиці 4.3.

Встановлено, що у тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне підвищення рівня NO як в артеріальній, так і венозній крові в 1,6 разів ($p<0,05$) та в 2,2 рази ($p<0,05$) відносно інтактних тварин відповідно. У групі № 3 NO артеріальної крові вірогідно був вище в 1,5 разів ($p<0,05$) аніж в групі № 1 та не відмічалося вірогідної різниці з групою тварин № 2. NO венозної крові в даній групі тварин вірогідно відрізнялася від аналогічного показника в групі інтактних тварин (в 1,3 рази) та групи контрольної патології (в 1,6 рази). Встановлені відмінності на рівні значущості $p<0,05$.

Таблиця 4.3

Дослідження рівня NO в системному кровотоці у щурів на тлі експериментального антифосфоліпідного синдрому та його корекції (M±m)

Показник	*Експериментальні групи тварин*				
	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група	5-а група
$NO_{арт.крові}$, мкмоль/л	46,8±1,53	76,2±1,38*	67,9±1,56*	72,9±2,14*	51,8±2,03**
$NO_{вен.крові}$, мкмоль/л	31,9±1,87	67,8±0,93*	42,8±1,9*/**	69,2±1,21*	37,3±1,96**
$NO_{арт/вен.}$, ум.од.	1,45±0,13	1,12±0,04*	1,58±0,5**	1,05±0,6	1,38±0,17

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

В експериментальній групі № 4 встановлено вірогідне підвищення рівня як NO артеріальної крові, так і венозної крові порівняно із інтактними тваринами, однак вірогідних відмінностей не було встановлено із групою

контрольної патології.

У групі № 5 спостерігалася нормалізація досліджуваного показника: рівень NO артеріальної крові був вірогідно нижчим в 1,5 разів ($p<0,05$) порівняно із групою нелікованих тварин. Аналогічні результати одержані і при вивченні NO венозної крові – рівень вірогідно знижувався в 1,8 рази ($p<0,05$) відносно щурів зі змодельованим АФС.

Таким чином, нами встановлено, що за умов експериментального АФС відмічається різке підвищення NO в системному кровотоці, а найбільш виражений вплив на його рівень спостерігається при застосуванні комбінованої схеми лікування (група № 5).

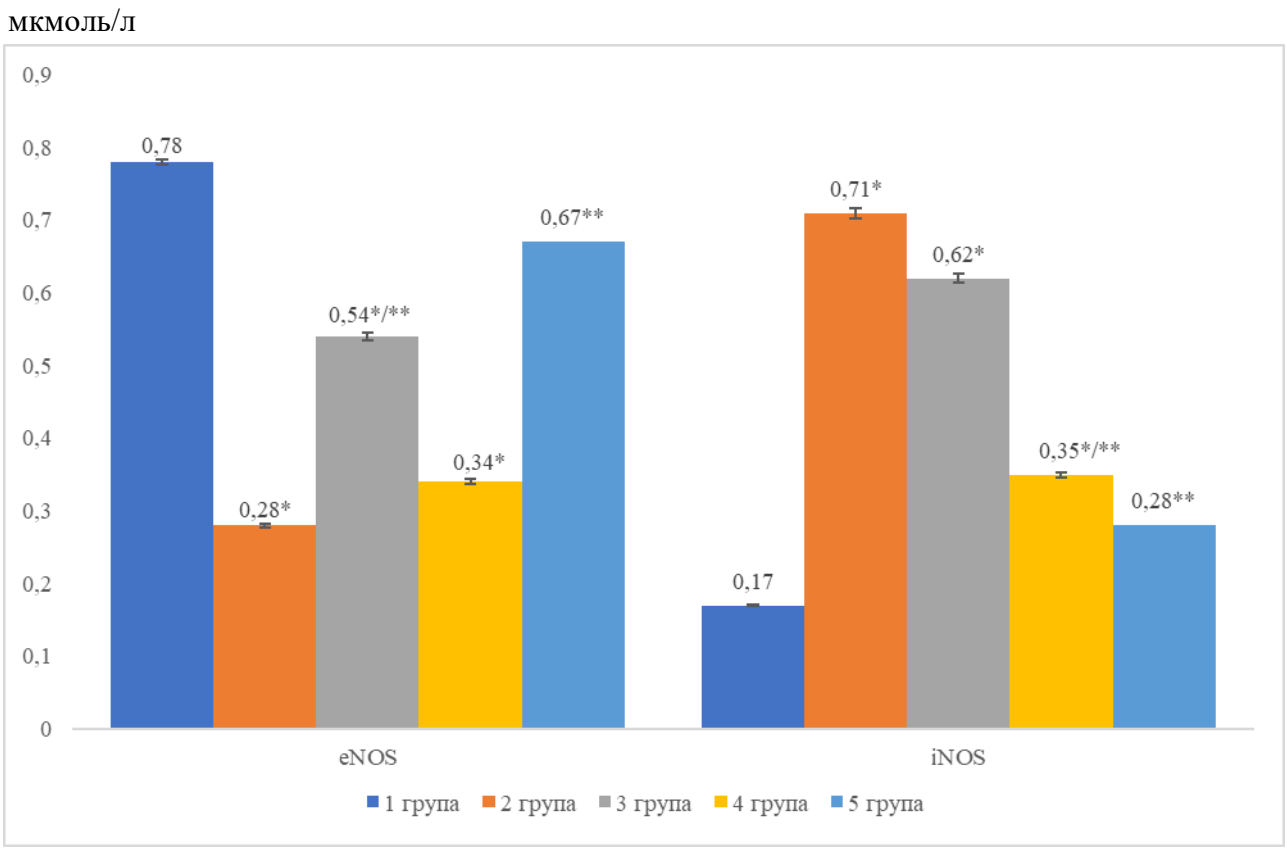

Рис. 4.2. Рівень NO-синтаз у крові щурів із експериментальним антифосфоліпідним синдромом та його корекції

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У тварин зі змодельованим АФС (група № 2) відмічалося вірогідне зниження рівня eNOS в 2,8 рази ($p<0,05$) та підвищення iNOS в 4,2 рази ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. У тварин групи № 3 встановлено вірогідну різницю між показником eNOS порівняно із групою інтактного контролю та тваринами з експериментальним АФС. Її рівень був вірогідно вищим в 1,9 разів ($p<0,05$) та вірогідно нижчим в 1,4 рази ($p<0,05$) відповідно. Рівень iNOS в даній групі тварин також вірогідно відрізнявся від групи інтактних тварин та вірогідно підвищувався в 3,6 рази ($p<0,05$).

В експериментальній групі № 4 відмічалися наступні зміни eNOS та iNOS: рівень eNOS вірогідно відрізнявся від показника інтактних тварин та знижувався в 2,3 рази ($p<0,05$), в той час як iNOS мала вірогідні відмінності як з групою нелікованих тварин, так і інтактного контролю – її рівень був нижчим в 2,0 рази ($p<0,05$) та вищим в 2,1 рази ($p<0,05$) відповідно. Можна стверджувати, що дані показники при застосуванні лікувальної схеми № 4 мали тенденцію до врівноваження, однак діапазону фізіологічних норм досягнуто не було.

У тварин групи № 5 рівень eNOS вірогідно підвищувався в 2,4 рази ($p<0,05$) порівняно із нелікованими тваринами та практично досягав рівня інтактного контролю. Показник iNOS також мав тенденцію до нормалізації та практично сягав рівня інтактних тварин та вірогідно знижувався в 2,5 рази ($p<0,05$) відносно групи з експериментальним АФС.

Отже, вивчення рівнів NO-синтаз дало змогу стверджувати, що за умов експериментально змодельованої патології їх рівень змінюється: відмічається різке підвищення iNOS та зниження eNOS, що підтверджує розвиток ЕД у даної групи щурів.

Найбільш виражені за терапевтичною ефективністю позитивні результати експериментальної групи № 5 можна пояснити наступним чином. NO, що утворюється з L-аргініну за допомогою eNO-синтази, забезпечує його секрецію для нормального функціонування судин. L-аргінін не тільки є

донатором синтезу NO, але й коригує ЕД завдяки стимуляції активності eNOS, перешкоджаючи окисненню головного кофактора NOS. Також ця амінокислота конкурує із асиметричним диметил-L-аргініном, який є інгібітором eNOS [3, 19].

4.2.3. Дослідження вмісту S-нітрозотіолів у тварин зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом

Відомо, що за умов АФС в ендотелії порушується синтез та біодоступність NO. Встановлено, що дисбаланс між рівнями NO та АФК призводить до апоптозу ендотеліальних клітин. З іншого боку показано, що надлишкове утворення NO відіграє негативну роль, викликаючи порушення стану ендоплазматичного ретикулуму та ініціацію апоптозу [147].

Зниження концентрації NO можна пояснити тим, що АФА можуть інгібувати eNO-синтазу, що супроводжується зменшенням синтезу NO та зумовлено підвищеною експресією iNOS, яка в подальшому призводить до зростання продукції прозапальних цитокінів [158].

Доведеним фактом є те, що в клітинах і тканинах регуляторною активністю володіє не лише NO, але й численні продукти його перетворень, серед яких особливе місце займають S-нітрозотіоли. S-нітрозотіоли – стабільні метаболіти NO, які утворюються шляхом зв’язування NO з тіоловими групами амінокислот, пептидів або протеїнів, здійснюють стабілізацію та транспорт NO від клітин-донорів до клітин-мішеней. Вивільняючи або депонуючи NO, S-нітрозотіоли виступають основним шляхом утилізації, що модулює потоки утворення NO в організмі та запобігає його інактивації. Вважається, що білкові нітрозотіоли виступають стабільними депо NO, низькомолекулярні форми –переносчики NO через клітинні мембрани, однак це питання потребує дода-ткового дослідження [158, 168]. З огляду на вищезазначене наступним етапом нашого дослідження було вивчення вмісту S-нітрозотіолів у мітохондріальній фракції печінки

щурів за умов змодельованого АФС.

Вміст S-NO у крові свідчить про стан продукції NO та вазодилятаційного потенціалу (табл. 4.2). У групі № 2 встановлене вірогідне зниження рівня S-NO в 2,3 рази ($p<0,05$) в крові тварин зі змодельованим АФС без подальшої корекції порівняно із інтактними тваринами. Вищезазначене свідчить про порушення фізіологічного синтезу NO та послаблення вазодилятаційного потенціалу судин, спричинене розвитком АФС.

Таблиця 4.2

Рівень S-нітрозотіолів у крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції (M±m)

Показник	*Експериментальні групи тварин*				
	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група	5-а група
S-NO, нмоль/ мг протеїну	0,38±0,02	0,16±0,02*	0,3±0,02**	0,19±0,01*/**	0,38±0,01**

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У групі тварин № 3 ефект коригуючих засобів проявляється у вигляді підвищення патологічно зниженого рівня S-нітрозотіолів (рівень S-NO складає 0,3±0,02): відмінності у порівнянні з групою без корекції виявлені на рівні $p<0,05$, а у порівнянні з даними інтактних тварин – менш виражено – на рівні значущості $p<0,01$.

У групі № 4 нормалізація досліджуваного маркера є менш вираженою, аніж в 3-ій групі тварин: рівень S-NO складав 0,19±0,01 та був вірогідно нижчим ($p<0,05$) у порівнянні з даними інтактних тварин, також встановленні виражені відмінності у порівнянні з результатами групи № 3 ($p<0,001$).

Звертає на себе увагу, що не виявлено відмінностей між результатами цієї групи та групи нелікованих тварин (№ 2) при аналізі маркера продукції NO.

Найбільш позитивна динаміка встановлена при дослідженні вмісту S-NO у 5-й експериментальній групі тварин, які отримували комплексну корекцію: виявлене вірогідне відновлення вмісту S-NO у порівнянні з даними груп № 2, 3 та 4 (на рівні значущості $p<0,05$). Також при порівнянні даного маркера у п'ятій групі та у інтактних тварин встановлена відсутність відмінностей, що свідчить про відновлення фізіологічного синтезу NO та покращенння вазодилятаційного потенціалу судин. Одержані в даній групі результати досліджень обґрунтовані застосуванням комплексної терапії варфарину, імуноглобуліну та L-аргініну.

Зокрема, L-аргінін є основним компонентом нормалізації функціонального стану ендотелію при патологічних станах. ЕД, яка виникає через порушення синтезу NO, є важливим модулятором цілого комплексу біологічних ефектів у судинах. NO регулює апоптоз та стан судин, а в ендотелії підтримує ангіопротекторні властивості – можна сказати, що він є класичним вазодилятатором. Аргінін є основним субстратом для продукції NO. Хоча ця амінокислота приймає участь у багатьох метаболічних процесах, але його основна роль – це регуляція функціонального стану ендотелію та покращення кровопостачання. Його протекторна універсальність пояснюється тим, що він є попередником великої кількості біологічно активних сполук [3, 19].

Завдяки L-аргініну декретуються поліаміни, анаболічні гормони та NO. Він регулює ендотеліальну функцію судин, спричиняючи потужну вазодилятацію шляхом активації інсуліну та секреції гормону росту. Завдяки стимуляції активності eNO-синтази L-аргінін посилює синтез NO, розриває комплекс S-NO із окисненими ЛПНЩ. Завдяки антиоксидантній активності L-аргінін посилює біоактивність NO, та з іншого боку блокує активність норадреналіну, вивільняє гістамін з базофілів, в результаті чого розвивається судинорозширювальний ефект, суттєво зменшує концентрацію S-NO-

опосередкованого супероксиду, зменшує рівень ендотеліну-1 та стимулює експресію eNOS. Комплекс L-аргінін-NO регулює функціональний стан серцево-судинної системи, нормалізуючи стан ендотелію та оптимізує його функцію під час розвитку гіперхолестеринемії. NO та його похідні відіграють важливу роль у формуванні запальної відповіді, зменшуючи негативний вплив ОС та під час апоптозу. Також L-аргінін покращує мікроциркуляцію та системний кровообіг, функцію кардіоміцитів [3, 19].

4.3. Дослідження динаміки рівня фактору Віллебранда на тлі експериментального антифосфоліпідного синдрому та його корекції

Одним з ключових маркерів активації ЕД є фВ. Цей сульфатований глікопротеїд синтезується в мегакаріоцитах та ендотелії та за рахунок забезпечення адгезії тромбоцитів до колагену судинної стінки бере участь у судинно-тромбоцитарному гемостазі. В адгезії та агрегації тромбоцитів фВ відіграє ключову роль за умов впливу високих швидкостей кровотоку, під час яких сила току крові суттєво перешкоджає формуванню гемостатичної пробки, а інші механізми адгезії не можуть забезпечити фіксацію тромбоцитів. За фізіологічних умов фВ не зв'язує тромбоцити і лише у випадку пошкодження субендокардіального матриксу судинної стінки, фВ зв'язується із первинним матриксним компонентом. Як результат – стимуляція агрегація тромбоцитів, та утворення тромбоцитарної пробки. У зв'язку з цим, підвищення концентрації фВ в плазмі крові, як і підвищення фібриногену, можна вважати основним маркером гіперкоагуляції. Зв'язок підвищення концентрації фВ в крові зі ступенем враження судинного ендотелію був неодноразово доведений в ряді змодельованих експериментів у щурів при ендотоксемії і механічному пошкодженні ендотелію, а також у численних клінічних спостереженнях [167, 168, 169].

Враховуючи вищезазначене, інформативним є дослідження фВ при експериментальному АФС у щурів та за умов проведеної корекції (рис. 4.3).

При дослідженні концентрації фВ встановлено, що у групі щурів з АФС даний показник вірогідно перевищував групу інтактних тварин в 1,3 рази. Встановлені відмінності на рівні значущості $p<0,05$. У експериментальній групі № 3 теж виявлене підвищення рівня фВ, але менш виражене, ніж у групі №2 ($p_{2-3}<0,05$). При цьому відмінності значень цього показника у крові експериментальних тварин даної групи є вищим за результати інтактних тварин також на рівні значущості $p<0,05$.

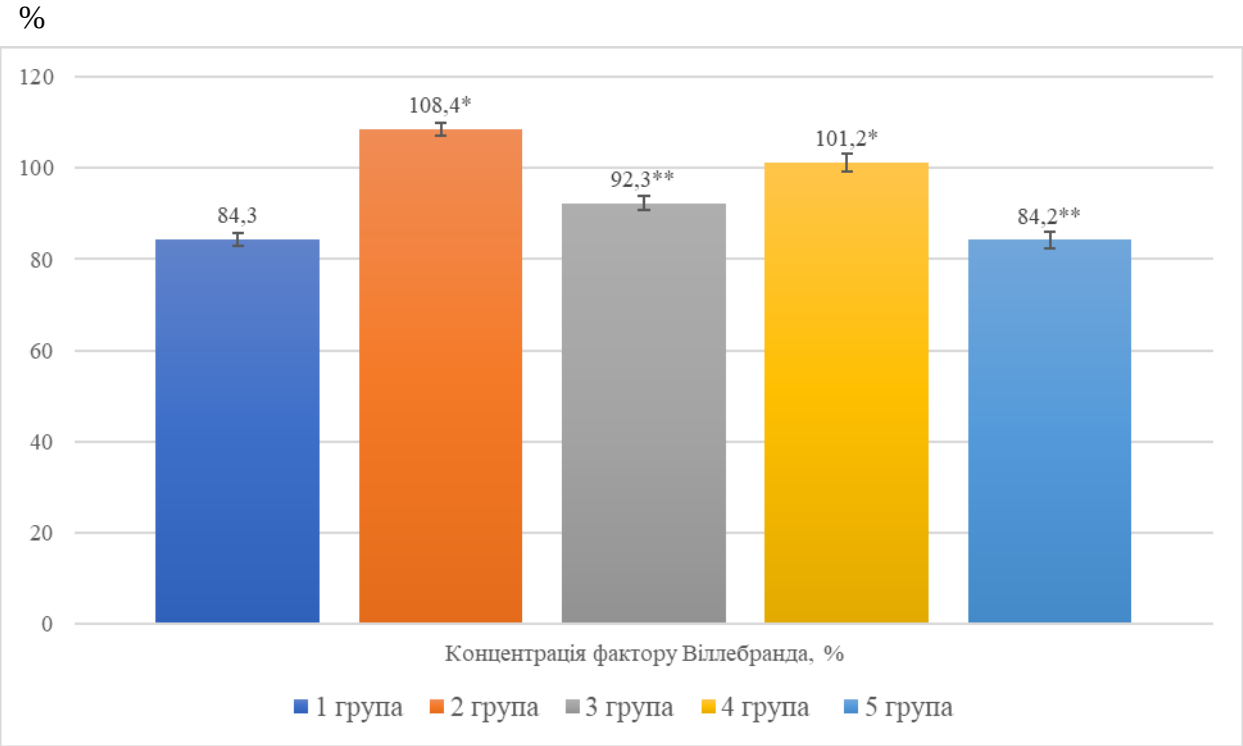

Рис. 4.3. Рівень фактору Віллебранда у крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

Звертає на себе увагу те, що рівень досліджуваного маркера ЕД у експериментальній групі тварин № 4 значно вищий (в 1,1 рази) у порівнянні з результатами третьої групи ($p<0,05$), що свідчить про кращу результативність

корекції змодельованої патології у 3-й групі щурів. Також характеризуючи результати четвертої групи тварин варто зазначити, що його рівень є дуже високо значущо нижчим у порівнянні з даними тварин, у яких не коригували змодельований АФС ($p<0,05$), та патологічно підвищеним порівняно з результатами, отриманими у інтактних щурів ($p<0,05$).

Найбільш виражений позитивний вплив корекції експериментального АФС спостерігався у групі № 5, в якій тварини на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином, імуноглобуліном та L-аргініном. Концентрація фВ вірогідно відрізнялася в 1,3 рази ($p<0,05$) порівняно із тваринами групи контрольної патології.

У порівнянні з даними групи №4 рівень фВ у групі № 5 є вірогідно нижчим в 1,2 рази (на рівні значущості $p<0,05$); у порівнянні з даними групи № 3 у п'ятій групі рівень цього показника був невірогідно нижчим в 1,1 рази (більш наближеним до значень норми) на рівні $p<0,01$. У порівнянні з даними інтактних тварин встановлена відсутність статистично значущих відмінностей результатів експериментальної групи № 5, що свідчить про нормалізацію рівня досліджуваного маркера.

4.4. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції

ГЦ є амінокислотою, яка відрізняється від цистеїну однією метиленовою групою. Високий рівень гомоцистеїну посилює апоптоз, прискорює процеси старіння ендотеліоцитів та призводить до їх дисфункції. Для ГЦ характерна прокоагулянтна дія, під час якої він пригнічує активність гепарину та антитромбіну III, в результаті чого підвищується активність тромбіну, і, як наслідок, підвищується ризик тромбоутворення та розриву атеросклеротичної бляшки. Доведені проагрегантні властивості зазначеної амінокислоти у великих концентраціях, встановлена активація процесів фібринолізу та пригнічення активності антикоагулянті. Також ГЦ впливає на

синтез NO, знижує чутливість тканин до нього, а також інгібує його ефект [80, 101, 110].

Товщина судинного шару інтими медії напряму залежить від концентрації ГЦ у крові. Існує прямий взаємозвязок між смертністю пацієнтів із патологією коронарних артерій та рівнем ГЦ у крові [112]. Враховуючи вищезазначене, можна з достовірністю стверджувати, що ГЦ є інформативним маркером ЕД. Одержані експериментальним шляхом результати дослідження рівня ГЦ у щурів зі змодельованим АФС наведено в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Рівень гомоцистеїну у крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції (M±m)

Показник	*Експериментальні групи тварин*				
	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група	5-а група
Гомоцистеїн, ммоль/л	8,26±0,6	14,14±0,4*	10,21±0,4*/**	13,46±0,5*	8,42±0,5**

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У тварин зі змодельований АФС (група № 2), виявлене виражене підвищення ГЦ в 1,7 разів ($p<0,05$) порівняно з даними інтактних тварин. У експериментальній групі № 3 рівень даного маркеру підвищувався у порівнянні з результатами групи № 1 на рівні значущості $p<0,01$ і був нижчим, ніж у групі № 2 ($p<0,05$), що свідчить по позитивний вплив терапевтичної схеми, яку використовували в групі № 3. Аналізуючи дані групи № 4 встановлено, що корекція, застосована в даній групі була менш результативною, ніж у третій ($p_{4-3}<0,001$), тобто рівень досліджуваного маркера був підвищеним (відмінності даних 4-ї групи та групи без корекції є

статистично незначущими). Відмінності у порівняні з даними інтактних тварин є дуже високо значущими ($p<0,001$).

При дослідженні рівню ГЦ у крові щурів експериментальної групи № 5 були отримані наступні результати: порівняно з даними групи без корекції (контрольна патологія) та групи № 4 виявлене вірогідне зниження (нормалізація) досліджуваного маркера в 1,7 разів ($p<0,05$) та в 1,6 разів ($p<0,05$) відповідно. Також застосування терапевтичної схеми в групі № 5 є більш ефективним за показником ГЦ порівняно із даними групи № 3 ($p<0,01$). Відсутність статистичних відмінностей рівню ГЦ у крові щурів групи № 5 і першої (інтактної) свідчить про максимально виражений позитивний ефект комплексної трьохкомпонентної корекції щодо патологічно підвищеного рівня ГЦ при змодельованому АФС.

Висновки до Розділу 4:

1. У тварин зі змодельованим АФС спостерігалася позитивна реакція мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном, що свідчило про розвиток АФС. Також відмічався розвиток гіперкоагуляції як за рахунок судинно-тромбоцитарної, так і коагуляційної ланок системи гемостазу. Встановлені зміни показників гемокоагуляції при АФС виникають за рахунок взаємодії факторів зсідання крові з АФА.

2. Встановлено збільшення рівня ендотеліну-1, який є маркером ЕД, що свідчить про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованої патології. Найбільш виражений позитивний ефект коригуючого впливу встановлений у групі тварин № 5: рівень ендотеліну-1 був статистично дуже високо значущо нижчим у порівнянні з результатами 2-ї, 3-ї та 4-ї груп ($p<0,05$). У порівнянні з даними інтактних тварин відмінностей не виявлено, що свідчить про нормалізацію даного маркера ЕД та вазоконстрикції.

3. Досліджено, що у тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне підвищення рівня NO як в артеріальній, так і венозній крові

відносно інтактних тварин відповідно. У групі № 5 спостерігалася нормалізація досліджуваного показника: рівень NO артеріальної крові був вірогідно нижчим порівняно із групою нелікованих тварин. Аналогічні результати одержані і при вивченні NO венозної крові – рівень вірогідно знижувався відносно щурів зі змодельованим АФС.

Вивчення рівнів NO-синтаз дало змогу стверджувати, що за умов експериментально змодельованої патології їх рівень змінюється: відмічається різке підвищення iNOS та зниження eNOS, що підтверджує розвиток ЕД у даної групи щурів. Найбільш виражені за терапевтичною ефективністю позитивні результати експериментальної групи № 5 можна пояснити наступним чином. NO, що утворюється з L-аргініну за допомогою eNO-синтази, забезпечує його секрецію для нормального функціонування судин. L-аргінін не тільки є донатором синтезу NO, але й коригує ЕД завдяки стимуляції активності eNOS, перешкоджаючи окисненню головного кофактора NOS.

4. Вміст S-NO у крові свідчить про стан продукції NO та вазодилятаційного потенціалу. У групі № 2 встановлене вірогідне зниження рівня S-NO в крові тварин зі змодельованим АФС без подальшої корекції порівняно із інтактними тваринами. Найбільш позитивна динаміка встановлена при дослідженні вмісту S- NO у 5-й групі тварин, які отримували комплексну корекцію: виявлене вірогідне відновлення вмісту S-NO у порівнянні з даними груп № 2, 3 та 4 (на рівні значущості $p<0,05$). Одержані в даній групі результати досліджень обґрунтовані застосуванням комплексної терапії варфарину, імуноглобуліну та L-аргініну.

5. Доведене виражене підвищення рівню фактору Віллебранда ($p<0,05$) у крові щурів з експериментальним АФС. Найбільш виражений позитивний вплив корекції експериментального АФС спостерігався у групі № 5, в якій тварини на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином, імуноглобуліном та L-аргініном.

6. Виявлено, що розвиток експериментального АФС призводить до

підвищення рівню ГЦ у крові щурів ($p<0,05$). Відсутність статистичних відмінностей рівню ГЦ у крові щурів груп № 5 і інтактної свідчить про максимально виражений позитивний ефект комплексної трьохкомпонентної корекції щодо патологічно підвищеного рівня ГЦ при змодельованому АФС.

7. Застосування імуноглобуліну та розчину L-аргініну в лікуванні щурів при змодельованому АФС здійснює коригуючий вплив на функціональній стан ендотелію судин та призводить до зменшення рівня фВ і ГЦ.

Застосування імуноглобуліну та варфарину в лікуванні щурів з експериментальним АФС, впливає на функціональний стан ендотелію, але меншою мірою.

Найбільш суттєвий вплив на функцію ендотелію судин та його вазоконстрикторно-вазодилятаційний потенціал спостерігався при комплексному застосуванні варфарину, імуноглобуліну та розчину L-аргініну.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

1. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Mykhailiuk M. M., Gerasymenko T. V., Badiuk N. S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**).
2. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4)**.
3. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.

4. М'ястківська І.В., Савицький В.І., Якимчук Н.В., Савицький І.В. Дослідження розвитку ендотеліальної дисфункції при нітритному навантаженні. Перспективи розвитку медичної науки і освіти. - Збірник тез доповідей всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету (м. Суми, 16-17 листопада 2017 року). - С. 78-79.
5. Савицький І.В., Ленік Р.Г., Савицький В.І. Функціональний стан ендотелію судин при перитоніті. Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 61-62.
6. Yakymenko O.O., Klochko V.V., Savytskyi V.I. Pathogenetic links of antiphospholipid syndrome and possibilities of its correction. Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 81-82.
7. Крюкова Г.В., Савицький І.В., Грицан І.І., Савицький В.І., Єрмуракі П.П., Кащенко В.Н. Атеросклероз як фактор ризику ускладнень перитоніту. Патологічна фізіологія – охороні здоров’я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту 2021. – С. 121-123.
8. Якименко О.О., Савицький В.І., Поліванова Н. П. Діагностичне значення маркерів дисфункції ендотелію в розвитку артеріальної гіпертензії. XXIII–і читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. - С. 155-157.

РОЗДІЛ 5

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА СИСТЕМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ПАТОГЕНЕЗІ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ

За нормальних умов АОС здорового організму здатна повністю нейтралізувати шкідливу дію оксидантів. При помірних концентраціях реактивні форми кисню та азоту відіграють важливу роль у фізіологічних процесах (наприклад, окисне фосфорилювання, сигнальна трансдукція, індукція мітогенів, генерація простагландинів і лейкотрієнів, що виконують регулюючі функції, детоксикація ксенобіотиків, захист від інфекційних патогенів, апоптоз).

Старіння, генетичні та зовнішні фактори ризику призводять до порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу організму та підвищення рівнів АФК. Їх надлишкове утворення та порушення балансуючих ефектів ендогенної АОС спричиняють виникнення стану ОС [114, 118, 159, 160].

Враховуючи, що процеси утворення АФК та азоту відіграють двоїсту роль в організмі, термін «окисний стрес» характеризує дисбаланс між продукцією оксидантів, що ініціюють процеси вільнорадикального окиснення (ВРО), та активністю системи АОЗ, що нейтралізує ці процеси.

Надлишкове утворення АФК та NO є однією із ключових ланок патогенезу захворювань різного генезу, оскільки вони здатні обумовлювати пряму деструктивну дію на клітинні структури, а також ініціювати ВРО ліпідів, білків, нуклеїнових кислот [51].

Тому наступним етапом нашого дослідження було вивчення показників АОЗ за умов експериментального АФС та при його корекції.

5.1. Вивчення рівня супероксиддисмутази, каталази та відновленого глутатіону – ферментів антиоксидантного захисту на тлі антифосфоліпідного синдрому та його корекції

Основною функцією системи АОЗ є «погашення» вільних радикалів за допомогою потоку протонів, джерелом яких слугує резерв НАДФ. Нами проведено вивчення першої лінії АОЗ, яка включає СОД, каталазу і ферменти системи глутатіону [27].

До ключових ферментів захисту клітини є СОД, основна роль якої полягає у видаленні супероксид-аніону. Зниження активності СОД менше аніж на 50 % від нормального рівня створює умови для неконтрольованого підвищення концентрації супероксидних аніон-радикалів, що може призвести до необоротних змін в клітинах [19].

Результати вивчення СОД у експериментальних групах тварин зображено на рисунку 5.1. При дослідженні рівня СОД у щурів із експериментальним АФС встановлено, що його рівень вірогідно знижувався в 1,7 разів (на рівні значущості $p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами.

У групі тварин, які отримували корекцію за схемою № 3, рівень СОД вірогідно відрізнявся як від рівня інтактних тварин, так і щурів зі змодельованою патологію: нижче в 1,2 рази ($p<0,05$) та вище в 1,4 рази ($p<0,05$) відповідно.

У щурів експериментальної групи № 4 відмічалося вірогідне зниження рівня СОД в 1,5 разів ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. В даній групі також виявлено вірогідні відмінності порівняно з тваринами контрольної патології (достовірність на рівні значущості $p<0,05$).

Рівень СОД у тварини групи № 5 вірогідно підвищувався порівняно із щурами зі змодельованим АФС в 1,8 разів (на рівні значущості $p<0,05$) та практично дорівнював значенню інтактних тварин. Порівнюючи одержані результати, можна стверджувати, що застосування даної комбінованої терапії є найбільш ефективною порівняно із групою № 3 та №4 ($p<0,001$).

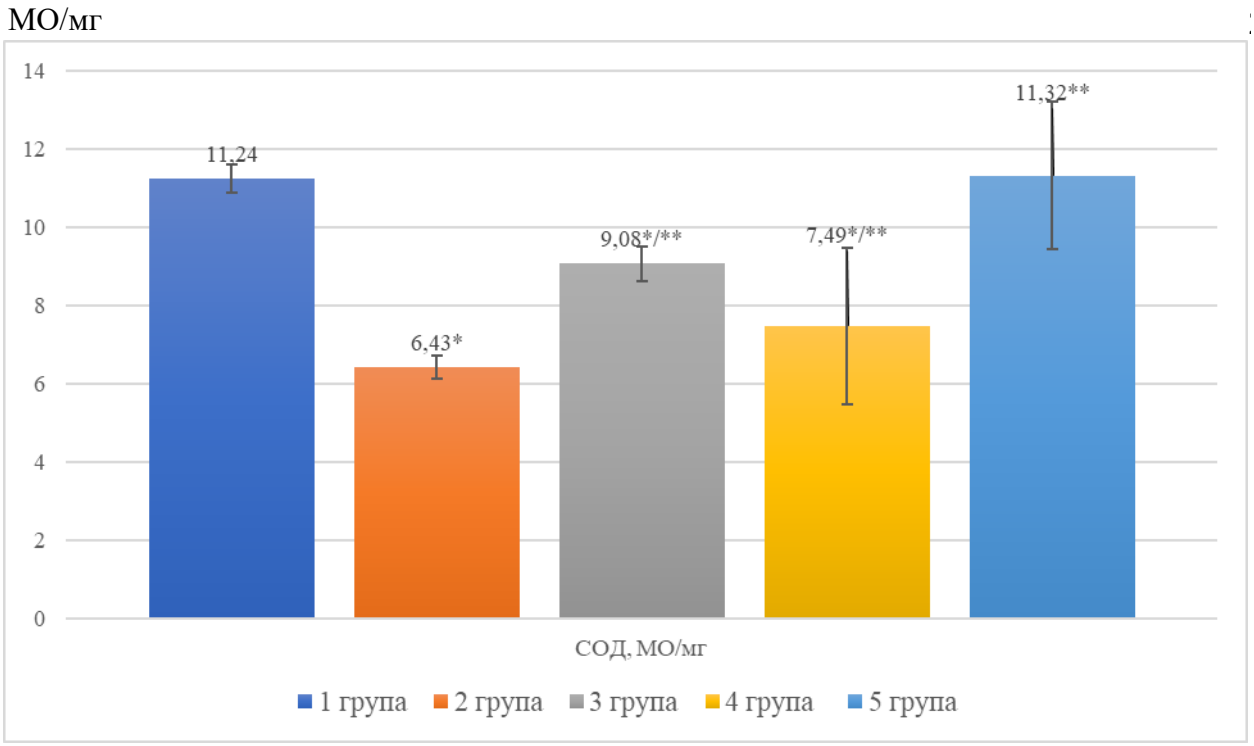

Рис. 5.1. Рівень супероксиддисмутази у крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції

Примітки:

1. * – p<0,05 порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – p<0,05 порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

Каталаза попереджує накопичення в клітині перекису водню, що утворюється при аеробному окисненні відновлених флавопротеїдів. Будь-які явища некрозу тканини супроводжуються активацією нейтрофілів, які містять каталазу і пероксидазу для захисту від вільних радикалів [27].

При дослідженні каталази встановлено наступні зміни: у тварин зі змодельованим АФС даний показник вірогідно знижувався в 1,7 разів (p<0,05) порівняно із інтактними тваринами та складав 14,2±0,52 ммоль/л (проти 24,2±0,51) (табл. 5.1).

У групі тварин, яким проводили корекції за схемою № 3, відмічали вірогідні відмінності між результатами даної групи та інтактними тваринами: концентрація каталази знижувалася в 1,4 рази (p<0,05) та практично досягала

рівня групи контрольної патології.

Таблиця 5.1

Рівень каталази та відновленого глутатіону у крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції (M±m)

Показник	*Експериментальні групи тварин*				
	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група	5-а група
Каталаза, ммоль/л	24,2±0,51	14,2±0,52*	17,24±0,74*	20,07±0,65*/**	24,3±0,71**
ВГ, мкмоль/г	2,73±0,32	1,28±0,23*	1,42±0,26*	1,68±0,29*	2,62±0,34**

Примітки:

1. * – p<0,05 порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – p<0,05 порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

В експериментальній групі тварин № 4 досліджено, що рівень каталази вірогідно відрізнявся від даних інтактних тварин (в 1,2 рази) та щурів зі змодельованим АФС (в 1,4 рази) (достовірність на рівні значущості p<0,05).

Рівень каталази в групі щурів № 5 складав 24,3±0,71 ммоль/л, що практично дорівнювало рівню інтактних тварин. Нами встановлено вірогідні відмінності між рівнем каталази в групі № 5 та групі № 2 на рівні значущості p<0,05. Аналіз даних також дозволив свідчити щодо дана схема корекції є більш ефективною порівняно із групою тварин № 3 та № 4 (достовірність на рівні значущості p<0,001).

ВГ функціонує як антиоксидант наступними шляхами: хімічно взаємодіє з синглентним киснем, супероксидом і радикалами гідроксилу чи на пряму руйнує вільні радикали; стабілізує мембраногенну структуру, яка пошкоджується в результаті ПОЛ.

Дослідження рівня ВГ дозволило встановити наступні закономірності: у тварин зі змодельованим АФС вірогідно знижувався його рівень в 2,1 рази (достовірність на рівні значущості $p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. У групі № 3 даний показник вірогідно відрізнявся від рівня інтактного контролю (в 1,9 разів – $p<0,05$), однак не виявлено відмінностей між даною групою та тваринами з експериментальною патологією.

У тварин групи № 4 рівень ВГ складав 1,68±0,29 мкмоль/г та вірогідно знижувався від аналогічного показника в групі інтактних тварин в 1,6 разів ($p<0,05$); як і в групі № 3 вірогідних відмінностей між показниками в четвертій групі та групою контрольної патології не встановлено.

Найбільш виражений вплив проявила терапевтична схема № 5 – відмічалося досягнення рівня ВГ інтактного контролю та вірогідне підвищення в 2,0 рази ($p<0,05$) порівняно із тваринами зі змодельованим АФС.

Антиоксиданти – сполуки, яким характерним є здатність вступати у взаємодію із різними реактогенними окисниками – АФК та іншими вільними радикалами – і викликати їх часткову чи повну інактивацію. Активація процесів ВРО, в тому числі і ПОЛ, є типовим процесом дезорганізації структур і функцій органів і систем при АФС. Факторами ініціації ВРО при АФС слугує пригнічення активності ферментативної ланки АОС, надлишкова витрата антиоксидантів внаслідок активації ПОЛ, втрати антиоксидантних ферментів при порушенні цілісності клітинних мембран, що підтверджується одержаними експериментальним шляхом результатами. Зокрема, за умов експериментального АФС відмічалося різке зниження СОД, каталази та ВГ [27, 51, 114, 158, 159].

5.2. Дослідження системи перекисного окиснення ліпідів при антифосфоліпідному синдрому та за умов його корекції

Накопичення продуктів ПОЛ в організмі сприяє формуванню аутоімунних процесів та пригніченню відповідної реакції організму на Т-залежні антигени. ПОЛ змінюючи ліпідний матрикс ЛПНЩ порушують первинну будову та топографію апопротеїдів, що може бути причиною змін їх антигенних властивостей та призводити до пошкодження судинної стінки. Посилення процесів ПОЛ призводить до глибоких порушень спектру ліпідів та в'язкоеластичних властивостей мембрани ендотелію, підвищуючи її структурну та функціональну дестабілізацію. В кінцевому результаті пошкоджуюча дія продуктів ВРО ліпідів на судини обумовлена руйнуванням клітинних мембран еритроцитів [51, 114, 158].

Оскільки основним фактором ініціювання реакцій перекисного окиснення слугують АФК, доцільним було встановлення ролі ПОЛ за умов АФС та при його корекції. Нами було проаналізовано основні маркери, які вказують на активацію процесів ПОЛ – рівень МДА та ДК.

На рисунку 5.2. зображено динаміку змін рівня ДК у щурів із експериментальним АФС та за умов його корекції.

Встановлено, що у щурів із групи контрольної патології (група № 2) рівень ДК різко підвищувався в 2,0 рази ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами.

У групі № 3 даний маркер ПОЛ вірогідно підвищувався відносно інтактних тварин та знижувався порівняно із даними контрольної патології в 1,7 разів ($p<0,05$) та в 1,5 разів ($p<0,05$) відповідно.

У тварин, які отримували корекцію за схемою № 4, відмічалася аналогічна тенденція та підвищення рівня ДК відносно інтактних тварин, та його зниження порівняно із щурами з експериментальним АФС (достовірність на рівні значущості $p<0,05$).

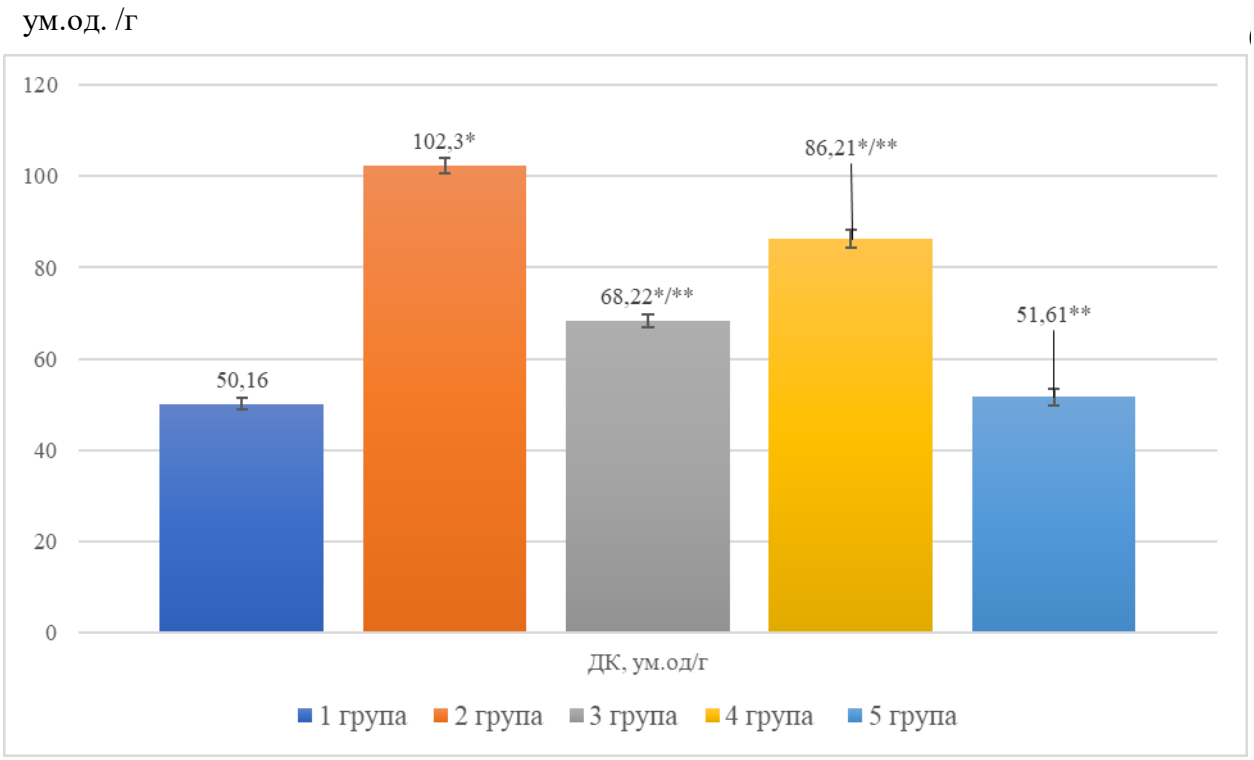

Рис. 5.2. Рівень дієнових кон'югатів у сироватці крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції

Примітки:

1. * – p<0,05 порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – p<0,05 порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У групі тварин № 5 реєстрували врівноваження рівня ДК, що підтверджувалося відсутністю відмінностей порівняно із інтактними тваринами. Встановлено суттєве зниження рівня даного показника в 2,0 рази (p<0,05) порівняно із тваринами зі змодельованим АФС. Також відмічалися вірогідні відмінності на рівні значущості p<0,001 порівняно із тваринами експериментальних груп № 3 та № 4.

Утворені в результаті фізіологічної активності вільні радикали запускають окиснення ненасичених жирних кислот з утворенням гідроперекисів ліпідів, які впливають на стан клітинних мембран. Однією із таких сполук є МДА, підвищення концентрації якої може свідчити про

наявність аномально протікаючих процесів в організмі. Окрім цього, МДА, який утворюється при ПОЛ, є дуже активною сполукою та може формувати різні адукти і нерозчинні конгломерати з компонентами клітини. Концентрація МДА відображає ступінь ОС в організмі [51, 114, 158, 159].

Встановлено, що у тварин зі змодельованою патологією рівень МДА вірогідно підвищувався в 3,5 рази ($p<0,05$) порівняно з інтактними тваринами (рис. 5.3). У тварин, яким проводили терапію за схемою № 3, даний показник вірогідно підвищувався відносно інтактних тварин та знижувався порівняно із даними контрольної патології в 2,0 рази ($p<0,05$) та в 1,8 разів ($p<0,05$) відповідно.

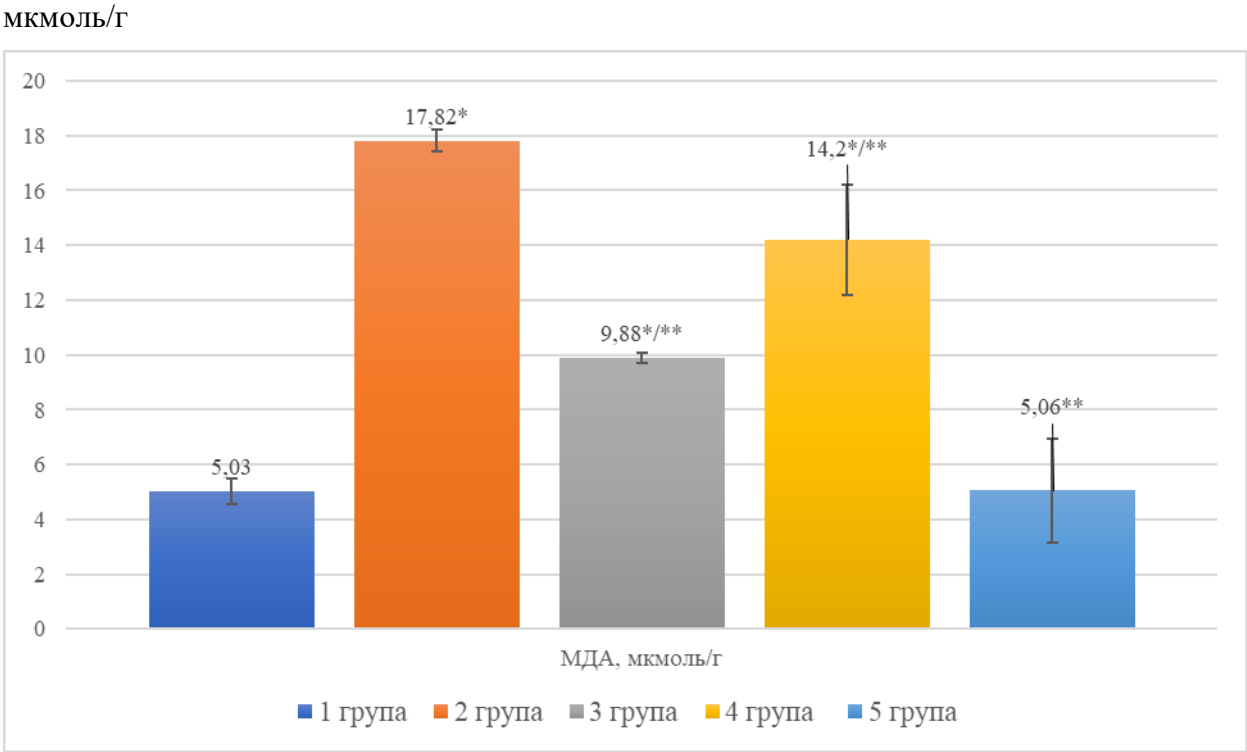

Рис. 5.3. Концентрація МДА у сироватці крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У групі щурів № 4 концентрація МДА невірогідно перевищувала дані групи № 3 ($p<0,01$), однак була вірогідно вище за дані інтактних тварин (в 2,8 разів) та нижче за аналогічний показник у тварин зі змодельованою патологію (в 1,3 рази). Відмічалася достовірність на рівні значущості $p<0,05$.

У групі тварин № 5 спостерігалося зниження рівня МДА, що підтверджувалося аналогічним результатом порівняно із інтактними тваринами. Встановлено вірогідне зниження даного показника відносно щурів з експериментальним АФС – в 3,4 рази (достовірність на рівні значущості $p<0,05$). Також відмічалися вірогідні відмінності між рівнем МДА в групі № 5 порівняно із експериментальним групами № 3 та № 4 (достовірність на рівні значущості $p<0,05$).

Оскільки ДК є первинними продуктами ПОЛ, а накопичення МДА характеризує наявність пізніх продуктів пероксидації, одержані результати свідчать про розвиток вираженого ПОЛ на тлі змодельованого АФС.

У високих концентраціях ПОЛ обумовлюють вазоконстриктурну дію, інгібують здатність ендотелію кровоносних судин синтезувати простагландини, в результаті чого порушується рівновага між ендотелієм, плазмою та форменими елементами крові. Активація процесів ПОЛ та зниження АОЗ сприяє порушенню судинно-тромбоцитарної, коагуляційної, фібринолітичної ланок гемостазу та підвищенню агрегаційної здатності клітин крові [51, 158, 159].

Радикальні окисні процеси є значущим патогенетичним фактором багатьох захворювань та патологічних станів. Всі клітини живого організму володіють здатністю до генерації АФК і тому розвиток ОС можливий в будь-яких органах і системах [160, 230, 231].

Вичерпання буферної потужності, захисних систем при тяжких тривалих навантаженнях, у разі коли витрата антиоксидантів вище, аніж їх біосинтез, відбувається окиснювальна деструкція біомембран клітин, що веде до розвитку каскаду патологічних реакцій, характерних для АФС [232].

5.3. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекції

Відповідно сучасним дослідженням основним пусковим фактором розвитку атеросклерозу є запальний процес, первинно локалізований у судинній стінці. Локальне запалення в інтимі судин, яке виникає у відповідь на пошкодження ендотелію різноманітними факторами, призводить до генерації цілого каскаду запальних реакцій, результатом яких є системний запальний процес в організмі.

Вважається, що маркери запалення можуть виступати у ролі предиктора майбутніх судинних ускладнень у пацієнтів з АФС. Однак патогенетичні механізми участі СРБ та інших маркерів запалення в розвитку АФС до кінця не вивчені. Є повідомлення про тісний взаємозв'язок між АФА і підвищеними маркерами запального процесу у пацієнтів із АФС, причому саме АФА стимулюють синтез прозапальних цитокінів.

У літературі наявні повідомлення, що підвищений рівень СРБ є незалежним предиктором інсульту і транзиторної ішемічної атаки АФА-позитивних пацієнтів із неврологічною патологією. Водночас деякі автори не підтверджують взаємозв'язків між запальним процесом та розвитком судинних ускладнень у цих хворих [146, 216].

Тому дослідження патогенетичних особливостей маркерів запалення в розвитку АФС є особливо актуальним. Крім цього зниження рівня СРБ при застосуванні методів корекції є першочерговим завданням корекції АФС.

Встановлено, що у тварин зі змодельованим АФС, рівень СРБ вірогідно зростав в 3,7 разів ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами (рис. 5.4). У тварин, які отримували терапію за схемою № 3, даний гострофазовий маркер вірогідно перевищував дані інтактних щурів – в 2,9 разів ($p<0,05$) та вірогідно нижчим в 1,3 рази ($p<0,05$) відносно тварин зі змодельованим АФС.

У експериментальній групі № 4 спостерігалося вірогідне зниження СРБ порівняно із групою контрольної патології в 1,5 рази ($p<0,05$), однак не

досягало рівня інтактних тварин (також встановлена достовірність на рівні значущості p<0,05). Тобто, результати вказують на тенденцію до зниження запального процесу за рахунок використання корекції за схемою № 4.

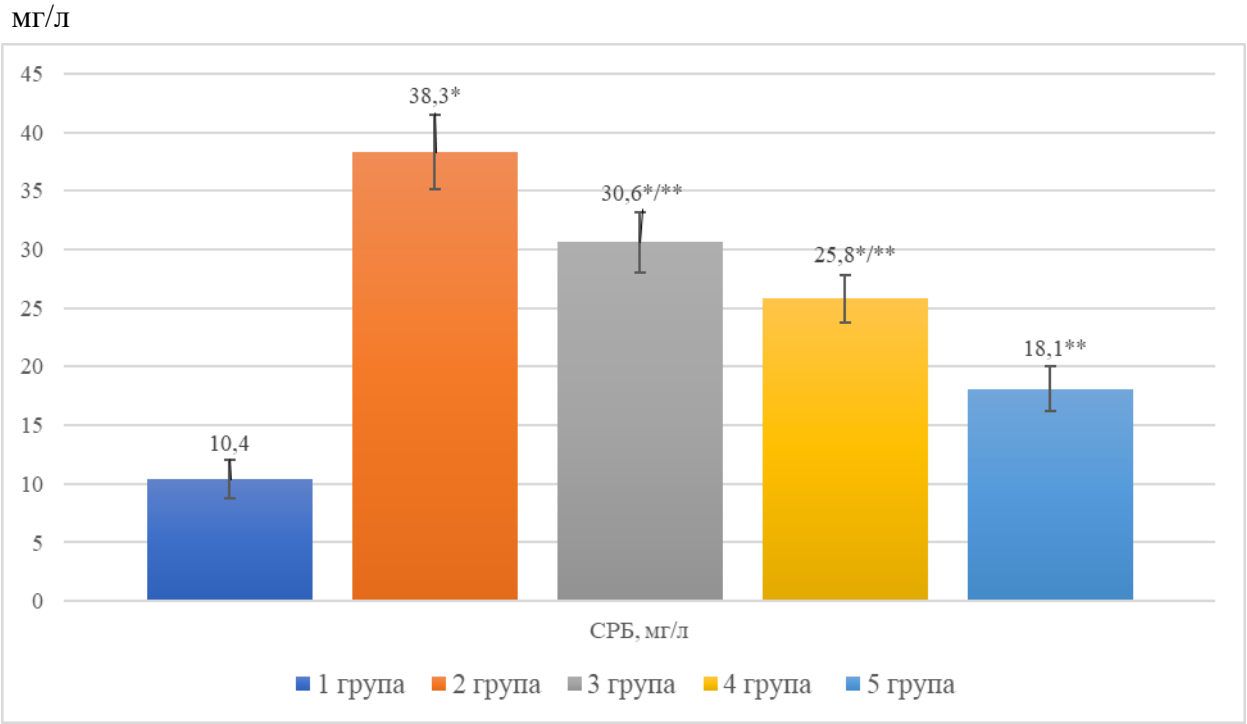

Рис. 5.4. Концентрація С-реактивного білка у сироватці крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції

Примітки:

1. * – p<0,05 порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – p<0,05 порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У щурів групи № 5 рівень СРБ вірогідно знижувалася в 2,1 рази (p<0,05) порівняно із тваринами з АФС та практично досягав рівня фізіологічного діапазону. Також встановлено, що у даній експериментальній групі, введення комплексної корекції було найбільш ефективним порівняно із групою № 3 та № 4.

Рівень СРБ в сироватці крові є найбільш чутливим показником

інтенсивності запального процесу та супутнього пошкодження тканин. СРБ – не лише маркер запального процесу при атеросклерозі, але і сам є активним фактором атеротромбозу. Взаємодія СРБ та клітин ендотелію призводить до зниження eNOS, синтезу простацикліну, підвищення продукції інгібітору активатора плазміногену 1 типу, ендотеліну-1, ІЛ-6, деяких молекул клітинної адгезії, які провокують міграцію макрофагів в субендотеліальний шар. Проатерогенна дія СРБ на гладком'язові клітини проявляється прискоренням їх проліферації, посиленням експресії ангіотензину 1 типу, підвищенням рівня iNOS. Макрофаги під впливом СРБ більш активно продукують вільні радикали, цитокіни, тканинний фактор тощо [146, 216].

Оскільки тривалий запальний процес, характерний для аутоімунних захворювань, в тому числі і при АФС, супроводжується зростанням продукції медіаторів запалення, нами було проведено поглиблене вивчення змін балансу цитокінів в патогенезі АФС [233].

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення змін цитокінів у крові експериментальних щурів зі змодельованим АСФ та при його корекції. Результати представлені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Рівень цитокінів у крові експериментальних щурів зі змодельованим антифосфоліпідним синдромом та при його корекції (M±m)

Показник	*Експериментальні групи тварин*				
	1-а група	2-а група	3-я група	4-а група	5-а група
ІЛ-6, пг/мл	6,53±0,38	20,5±1,6*	16,4±1,3*/**	14,3±1,0*/**	8,02±0,31**
ФНП-α, пг/мл	4,8±0,36	19,1±0,82*	16,8±0,75*	12,6±0,64*/**	7,1±0,43*/**
ТФР-β-1, пг/мл	25,8±3,2	74,3±6,7*	66,8±5,2*	48,4±4,3*/**	30,6±3,3**

Примітки:

1. * – $p<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;
2. ** – $p<0,05$ порівняно з даними, групи тварин зі змодельованим АФС;
3. n – кількість експериментальних тварин.

У тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне зростання рівня ІЛ-6 в 3,1 рази ($p<0,05$), ФНП-α – в 4,0 рази ($p<0,05$), ТФР-β-1 – в 2,9 рази ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин.

У групі тварин № 3 спостерігалося вірогідне підвищення також всіх маркерів відносно як групи інтактного контролю, однак ці показники були дещо не вірогідно нижчими за дані тварин з експериментальним АФС: зокрема, рівень ІЛ-6 зростав в 2,5 разів ($p<0,05$) та 1,3 рази ($p<0,05$); рівень ФНП-α – в 3,5 разів ($p<0,05$) та в 1,1 рази; концентрація ТФР-β-1 – в 2,6 рази ($p<0,05$) та 1,1 рази відповідно.

Враховуючи відсутність вірогідної різниці між показниками в групі № 3 та щурами із групи контрольної патології щодо рівнів ФНП-α та ТФР-β-1 можна стверджувати, що дана схема корекції практично не впливає на дану патогенетичну ланку АФС.

У тварин експериментальної групи № 4 рівень ІЛ-6 був вірогідно вищим в 2,2 рази ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами та нижчим в 1,4 рази ($p<0,05$) відносно даних щурів зі змодельованим АФС. Рівень ФНП-α та ТФР-β-1 в даній експериментальній групі тварин мав аналогічну тенденцію: зокрема, концентрація ФНП-α підвищувалася в 2,6 разів ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами та нижчим в 1,3 рази ($p<0,05$) відносно щурів з експериментальним АФС. Показник ТФР-β-1 зростав в 1,9 разів ($p<0,05$) відносно інтактних тварин та знижувався в 1,5 разів ($p<0,05$) порівняно із групою контрольної патології. Одержані дані вказують на те, що застосування корекції за схемою № 4, впливає на гострофазові показники та відмічається тенденція до врівноваження даних маркерів запального процесу. Однак, враховуючи вірогідність одержаних результатів стверджувати про високу ефективність даної корекції неможливо.

У щурів групи № 5 відзначали достовірні відмінності порівняно із групою контрольної патології: зниження рівня ІЛ-6 в 2,6 разів ($p<0,05$), концентрації ФНП-α – в 2,7 разів ($p<0,05$), ТФР-β-1 – в 2,4 рази ($p<0,05$). Вірогідних відмінностей між показниками групи № 5 та інтактними

тваринами не встановлено, що вказує на високу ефективність корекції за даною схемою.

ІЛ-6 – поліпептид, що проявляє високу біологічну активність не тільки по відношенню до β-клітин, але й до цілого ряду інших тканин та клітин. ІЛ-6 є ключовим активатором відповіді гострої фази – тобто він регулює синтез СРБ у гепатоцитах та опосередковано може активувати систему комплементу та інтенсивно продукується при посиленій продукції тромбіну, СРБ, ІЛ-1, ФНП-α, а також як відповідь на механічне ушкодження, гіпоксію, ОС та тепловий шок. ІЛ-6 також стимулює реакції гемопоезу та проліферацію Т-лімфоцитів. Дуже вагома роль ІЛ-6 у кардіоваскулярній патології, у якій він разом із СРБ має велике значення, як діагностичний показник при атеросклерозі та серцево-судинних захворюваннях. За даними деяких авторів ІЛ-6 є більш яскравим предиктором, аніж СРБ, при кардіоваскулярих ускладненнях. Підвищення його концентрації є не тільки маркером атеросклерозу, але й фактором ризику його розвитку СЧВ [41, 50, 55, 62, 64].

На сьогодні відомі наукові праці щодо дослідження рівня ІЛ-6 у пацієнтів з АФС, однак за умов експериментальних досліджень результати відсутні.

Відомо, що ФНП-α – є ключовим цитокіном імунної системи, в нормі, виконує гомеостатичну функцію та регулює більшість біологічних процесів, включаючи проліферацію, диференціацію, апоптоз різних клітин, формування структури різних органів і систем. В результаті зв’язування ФНП-α із специфічними мембранними рецепторами, запускають сигнальні каскади, які призводять до активації синтезу простагландинів та інших медіаторів запалення, а також викликають запрограмовану загибель клітин. Окрім цього значне підвищення рівня ФНП-α у вогнищі запалення підсилює прогресування аутоімунних реакцій [65, 67, 71, 72, 78, 79].

В механізмах оклюзії судин при АФС обговорюється роль атеросклерозу, а також участь АФА в атеротромбозі. Викликаючи активацію ендотеліальних клітин та моноцитів (джерела прозапальних цитокінів –

ФНП-α, ІЛ-1 та ІЛ-6), АФА можуть викликати розвиток запального каскаду на гемодинамічно вразливих ділянках артерій, тим самим індукуючи початковий етап атеросклеротичного процесу [86, 87, 88]. Незважаючи на відсутність ознак запалення при АФС, в сироватці крові нами встановлено підвищення рівнів гострофазових показників – СРБ, ФНП-α та ІЛ-6.

ТФР-β-1 – мультипотентний цитокін, який є важливим модулятором клітинного росту, проліферації і диференціації, а також запалення, позаклітинного матриксного депонування і апоптозу. ТФР-β-1 – маркер, який також опосередковано може свідчити про порушення скелетно-м'язового апарату і тим самим призводити до розвитку яскраво вираженої клінічної маніфестації АФС [102].

Можливість асоціативних взаємозв'язків між синтезом АФА та активацією системного запального процесу підтверджують дані багатьох дослідників [100, 192]. Вважається, що СРБ може слугувати предиктором персистенції АФА [216], а також виступати у ролі предиктора майбутніх судинних ускладнень у пацієнтів з АФС [146]. Гіперпродукцію маркерів запалення при АФС підтверджують також A. Farzaneh-Far та спів., які показали, що у пацієнтів із АФС, а також носіїв АФА рівень ФНП-α та його розчинних рецепторів значно вищий порівняно з концентрацією цих маркерів у здорових осіб [100].

Враховуючи одержані експериментальним шляхом результати, можна стверджувати, що несприятлива дія системного запального процесу при АФС реалізується як за рахунок ініціювання та акселерації атеротромбозу в судинах, так і за рахунок прямого негативного впливу медіаторів запалення на ендотелій судин.

Висновки до Розділу 5:

1. Враховуючи те, що дії системи ВРО протистоїть потужна багатокомпонентна АОС, яка виконує захисну функцію, надійно обмежуючи

дію ПОЛ на всіх етапах, нами було проведено вивчення показників АОЗ та ПОЛ. Встановлено, що у тварин зі змодельованим АФС, рівень СОД вірогідно знижувався в 1,7 разів (на рівні значущості $p<0,05$), каталази – в 1,7 разів ($p<0,05$), ВГ – в 2,1 рази ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Зниження рівня каталази та ВГ свідчить про залученість даних ферментів в патогенез адаптаційних порушень на клітинному рівні, які розвиваються при АФС.

Можна стверджувати, що активація процесів ВРО, в тому числі і ПОЛ, є типовим процесом дезорганізації структур і функцій органів і систем при АФС. Факторами ініціації ВРО при АФС слугує пригнічення активності ферментативної ланки АОС, надлишкова витрата антиоксидантів внаслідок активації ПОЛ, втрати антиоксидантних ферментів при порушенні цілісності клітинних мембран, що підтверджується одержаними експериментальним шляхом результатами.

При застосуванні різних схем корекції найбільш ефективною виявилася комбінована терапія (група № 5), яка включала введення варфарину, імуноглобуліну людини та розчину L-аргініну. Одержані дані мають вірогідні відмінності порівняно із тваринами групи № 3 та № 4.

2. При дослідженні ПОЛ у тварин із експериментальним АФС встановлено, що рівень ДК різко підвищувався в 2,0 рази ($p<0,05$), а МДА – в 3,5 разів ($p<0,05$) порівняно з інтактними тваринами. Оскільки ДК є первинними продуктами ПОЛ, а накопичення МДА характеризує наявність пізніх продуктів пероксидації, одержані результати свідчать про розвиток вираженого ПОЛ на тлі змодельованого АФС.

Вичерпання буферної потужності, захисних систем при тяжких тривалих навантаженнях, у разі коли витрата антиоксидантів вище, аніж їх біосинтез, відбувається окиснювальна деструкція біомембран клітин, що веде до розвитку каскаду патологічних реакцій, характерних для АФС.

У групі тварин № 5 спостерігалося врівноваження рівня ДК та МДА, що підтверджувалося відсутністю відмінностей порівняно із інтактними

тваринами. Встановлено вірогідне зниження рівня даних показників в 2,0 рази та в 3,4 рази відповідно (достовірність на рівні значущості $p<0,05$) порівняно із тваринами зі змодельованим АФС. Також відмічалися вірогідні відмінності на рівні значущості $p<0,001$ порівняно із тваринами експериментальних груп № 3 та № 4. Тобто можна стверджувати, що дана корекція виявилася найбільш ефективною в корекції ПОЛ при АФС.

3. Дослідження патогенетичних особливостей маркерів запального процесу в розвитку АФС є особливо значущими. Нами було проаналізовано рівень СРБ, ІЛ-6, ФНП-α та ТФР-β-1.

У тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне зростання рівня СРБ в 3,7 разів ($p<0,05$), ІЛ-6 в 3,1 рази ($p<0,05$), ФНП-α – в 4,0 рази ($p<0,05$), ТФР-β-1 – в 2,9 рази ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин. Взаємодія СРБ та клітин ендотелію призводить до зниження eNOS, синтезу простацикліну, підвищення продукції інгібітору активатора плазміногену 1 типу, ендотеліну-1, ІЛ-6, деяких молекул клітинної адгезії, які провокують міграцію макрофагів в субендотеліальний шар. Прозапальні цитокіни в надмірних кількостях здатні ініціювати апоптичну загибель клітинних елементів ендотелію судин. Гіперпродукція різного класу АФА асоціюється із підвищенням рівнів маркерів запального процесу та зростанням тяжкості органних уражень.

У щурів групи № 5 рівень СРБ вірогідно знижувалася в 2,1 рази ($p<0,05$) порівняно із тваринами з АФС та практично досягав рівня фізіологічного діапазону. Також відзначали достовірні відмінності порівняно із групою контрольної патології: зниження рівня ІЛ-6 в 2,6 разів ($p<0,05$), концентрації ФНП-α – в 2,7 разів ($p<0,05$), ТФР-β-1 – в 2,4 рази ($p<0,05$). Вірогідних відмінностей між показниками групи № 5 та інтактними тваринами не встановлено, що вказує на високу ефективність корекції за даною схемою.

У експериментальній групі № 5 застосування комплексної корекції варфарину, імуноглобуліну людини та розчину L-аргініну було найбільш

ефективним порівняно із групою № 3 та № 4.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

1. Савицький В. І., Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький І. В., Александрина Т. А. Аналіз динаміки активності каталази та суперокиддисмутази на тлі змодельованого антифосфоліпідного синдрому та при різних способах його корекції. Вісник морської медицини. 2021. N4. С. 112-116. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5837842
2. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364
3. Савицький В. І. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекці. Вісник морської медицини. 2022. N4 (97). С. 61-67. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7569983
4. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.
5. Yakymenko O.O., Klochko V.V., Savytskyi V.I. Pathogenetic links of antiphospholipid syndrome and possibilities of its correction. Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 81-82.
6. Yakymenko Olena, Vasylets Viktoria, Klochko Viktor, Savytskyi Vladimir, Tikhonchuk Natalya. Rituximab efficacy in caps. Lupus Science & Medicine.

2020. Vol. 7 (Suppl. 1). P. 31-32. doi: 10.1136/lupus-2020-eurolupus.55 (**SCOPUS Q1**).

7. Якименко О. О., Савицький В. І., Клочко В. В. Динаміка зміни S-нітрозотіолів при експериментальному антифосфоліпідному синдромі. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : матеріали XII Всеукр. наук.-практ. конф., присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О., м. Тернопіль, 29–30 жовт. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 116–117.
8. Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький В. І. Патогенез розвитку антифосфоліпідного синдрому та теоретичні можливості коригування. Механізми розвитку патологічних процесів та їхня фармакологічна корекція: матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнарод. участю, м. Харків, 19 листоп. 2020 р. Харків, 2020. С. 345–346.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

АФС – це системне автоімунне захворювання, яке характеризується тромботичними або акушерськими подіями, що характеризуються наявністю в крові пацієнтів високого титру антитіл до нативно заряджених мембранних фосфоліпідів, а також до зв'язаних з ними глікопротеїдами. АФС характеризується рецидивуючими тромбозами пов'язаними із синтезом АФА, зокрема до АКА, β2-ГП-І та/або ВА, належить до набутих тромбофілій і є проявом аутоімунних тромбозів. Поширеність АФС в загальній популяції коливається в межах 1–5 %, а за деякими оцінками, частота АФС становить близько 5 нових випадків на 100 тис. осіб на рік з поширеністю близько 40–50 випадків на 100 тис. осіб [108, 113, 145, .

Недостатньо чітко визначена роль етіологічних факторів, пускові механізми, особливо на початкових етапах формування АФС; мало вивчені біохімічні маркери захворювання, несформовані ефективні схеми лікування АФС. До кінця не розв'язана проблема лікування хворих з АФС, що обумовлено неоднорідністю патогенетичних механізмів, клінічних проявів і відсутністю достовірних клініко-лабораторних показників, які дозволяють прогнозувати рецидивування тромботичних ускладнень [126, 127, 136].

Враховуючи вищезазначене, виникає необхідність комплексного дослідження хворих з метою уточнення патогенезу, більш повної і ранньої діагностики АФС і визначення оптимальних тестів для моніторингу проведеної терапії і створення схем корекції.

Робота проведено в два етапи. На першому етапі нами проведено ретроспективний аналіз лабораторних даних історій хвороб пацієнтів з можливим діагнозом антифосфоліпідний синдром. При проведенні збору анамнезу, фізикального огляду, оцінки лабораторних даних до дослідження були залучені пацієнти із антифосфоліпідним синдромом, які відповідали критеріям включення та розподілу на групи. На другому етапі проведено дослідження динаміки показників ендотеліальної дисфункції, системи

антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів та гострофазових маркерів системного запального процесу за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому у щурів.

Діагноз антифосфоліпідний синдром (МКХ-11 4А45; МКХ-10 ILDS D68.810) встановлювали за рекомендаціями EULAR (2019), Наказу Міністерства охорони здоров'я України від 08.10.2007 р. № 626 «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з «Антифосфоліпідним синдромом» та Наказу МОЗ України № 22 від 20.01.2015 р. «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з імунними захворюваннями».

Частота виявлення АФС підвищується із віком та асоціюється із хронічними захворюваннями, а середній вік розвитку клінічної маніфестації складає 31 рік. У жінок АФС зустрічається в 5 разів частіше, аніж у чоловіків, що корелює із нашими даними. Варто відзначити, що серед усіх хворих на АФС, були виявлені позитивні результати до одного чи більше антитіл класів IgG та IgM. Одержані нами дані корелюють вже із відомими науковими працями.

У загальній групі хворих тривалість АФС на момент дослідження коливалась від 1 до 10 років та більше. При цьому, частка пацієнтів із тривалістю АФС понад 10 років була основною і становила 66, 67 %, у тому числі було виявлено 25,95 % осіб з тривалістю захворювання 6-9 років та 7,40 % пацієнтів – 1-5 років.

Встановлено, що кількість звернень у зв'язку із загостренням АФС залежала від віку та мала вірогідні відмінності. Також відмічено, що загальна кількість супутніх патологій корелювала із кількістю звернень стосовно загострення даної патології. Виявлено, що у пацієнтів чоловічої статі віком 20-44 років на тлі антифосфоліпідного синдрому найчастіше виявляли артралгії та поліартрит, а у чоловіків середньої вікової групи – шкірні прояви. У жінок вікової групи 20-44 років на тлі діагностованого АФС найчастіше відмічали шкірні прояви у вигляді сітчатого ліведо, артралгії та поліартрит, а також

порушення серцево-судинної діяльності. У жінок середньої вікової групи – артралгії та поліартрит та порушення серцево-судинної системи.

Також проведено дослідження загальноклінічних лабораторних показників (загальний аналіз крові та сечі, дослідження гемостазу, біохімічні показники крові (білірубін, загальний білок, креатинін, глюкоза, білірубін, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, С-реактивний білок, ревматоїдний фактор, тимолова проба та білкові фракції).

На другому етапі проводилися експериментальні дослідження, виконані на 100 нелінійних статевозрілих щурах масою тіла 180-200 г, вирощених у розпліднику Одеського національного медичного університету. Досліди з тваринами проводили згідно встановленим правилам роботи з ними. Всі маніпуляції, які викликали біль, були проведені під етамінал-натрієвим наркозом [7, 21].

Робота з тваринами проводилась відповідно Міжнародним кодексом медичної етики (Венеція, 1983), «Європейською конвенцією щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986), «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes, законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. [7, 21].

Лабораторні тварини були розподілені на 5 груп (по 20 щурів в кожній): 1-а група – інтактні тварини, які знаходились на стандартному раціоні віварію та отримували фізіологічний розчин; 2 група – щури, яким моделювали АФС без корекції; 3-я група – тварини, які на тлі змодельованої патології отримували корекцію введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини дозою 0,5 г/кг ваги та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну на 0,9 % розчині натрія хлориду дозою 500 мг/кг; 4-а група – тварини з АФС отримували внутрішньошлунково варфарин дозою 10 мг/кг маси тіла щура та внутрішньочеревинно імуноглобулін людини дозою 0,5 г/кг ваги; 5-а група –

тварини з АФС отримували корекцію варфарином (внутрішньошлунково дозою 10 мг/кг), введенням внутрішньочеревинно імуноглобулін людини дозою 0,5 г/кг ваги та внутрішньошлунковим введенням розчину L-аргініну на 0,9 % розчині натрія хлориду дозою 500 мг/кг [22].

Експериментальний АФС моделювали шляхом підшкірного введення кардіоліпінового антигену («Sigma», США) сумарною дозою 0,2-0,4 мг на одного щура через день протягом трьох тижнів. Дослідження тривало 8 тижнів, протягом яких тварини були під наглядом та/або лікуванням [4, 20].

Для підтвердження змодельованої патології нами проведення вивчення імунологічної активності та гемостазіологічних показників крові щурів. Зокрема, нами проведено визначення наявності АКА за допомогою реакції мікропреципітації та наступних показників: час зсідання крові, кількість тромбоцитів, агрегація тромбоцитів, АЧТЧ, ПЧ, фібриноген.

Дослідження маркерів вазоконстрикторно-вазодилятаційного потенціалу крові проводили за допомогою показників: NO артеріальної та венозної крові, iNOS, eNOS, фВ, ендотелін-1, S-нітрозотіоли, ГЦ. Аналіз АОЗ та системи ПОЛ проводили з використанням наступних показників: рівень ДК, МДА. Також досліджували концентрацію каталази, ВГ та СОД [11].

Вивчення гострофазових показників запального процесу включало вивчення концентрації СРБ, ФНП-α, ІЛ-6 та ТФР-β-1 [11].

На заключному етапі роботи нами проведено ретроспективний аналіз медичних карт карта амбулаторного/стаціонарного хворого 54 пацієнтів з основним діагнозом: АФС з 2016 р. до 2021 р., які знаходились на обстеженні та лікуванні у відділенні ревматології Багатопрофільного медичного центру Одеського національного медичного університету. Діагноз АФС (МКХ-11 4A45; МКХ-10 ILDS D68.810) встановлювали за рекомендаціями EULAR (2019), Наказу Міністерства охорони здоров'я України від 08.10.2007 р. № 626 «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з «Антифосфоліпідним синдромом» [12] та Наказу МОЗ України № 22 від 20.01.2015 р. «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з

імунними захворюваннями» [13]. Верифікацію АФС проводили на підставі вивчення відповідної медичної документації, результатів інструментальних досліджень згідно нормативних положень міжнародних класифікаційних критеріїв 2020 р. [28] та Наказу МОЗ України від 08.10.2007 р. № 626 [12]. Перед початком дослідження потенційні учасники були ознайомлені з протоколом, метою та завданнями, алгоритмом проведення клініко-діагностичних процедур, можливими наслідками і підтвердили згоду взяти участь у дослідженні особистим підписом.

На першому етапі нашого дослідження встановлено, що у щурів зі змодельованим АФС спостерігалася позитивна реакція мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном, що свідчило про розвиток АФС. Також відмічався розвиток гіперкоагуляції як за рахунок судинно-тромбоцитарної, так і коагуляційної ланок системи гемостазу. Важливу роль в порушенні внутрішньосудинного гомеостазу на тлі АФС відіграє функціональний стан тромбоцитів – центральної ланки гемокоагуляції. І хоча механічні властивості тромбоцитів внаслідок їх невеликого розміру та малочисельності відіграють в процесі розвитку АФС малу роль, агрегаційна активність кров'яних пластинок та їх чутливість до проагрегантів можуть обумовлювати суттєвий вплив на стан кровотоку як на рівні крупних судин, так і на мікроциркуляторне русло. Нами встановлено, що у тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне зниження кількості тромбоцитів ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Це, ймовірно, пояснюється тим, що тромбоцити відіграють ключову роль у розвитку тромбозу на тлі АФС за рахунок наявності рецепторів, які взаємодіють з антитілами до β2-ГП-І з подальшим вивільненням прокоагулянтних медіаторів – тромбоксану А2 та тромбоцитарного фактору 4. Встановлено скорочення АЧТЧ ($p<0,05$), ПЧ ($p<0,05$) та вірогідне підвищення рівня фібриногену ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Встановлені зміни показників гемокоагуляції при АФС виникають за рахунок взаємодії факторів зсідання крові з АФА та підтверджують розвиток експериментальної патології у експериментальних тварин.

Відомо, що ЕД – генералізовне порушення рівноваги між утворенням вазодилятуючих, атромбогенних, антипроліферативних факторів з одного боку, вазоконстрикторних, протромбогенних і проліферативних агентів, що синтезується ендотелієм – з іншого. ЕД відіграє важливу роль в патогенезі ряду системних захворювань різного генезу, зокрема, АФС [45, 135, 168]. Однак, на сьогодні, складові ланки механізмів ЕД при даній патології до кінця не вивчений. В зв'язку з цим вивчення ЕД при експериментальному АФС у щурів викликало зацікавлення з нашого боку. Нами встановлено збільшення рівня ендотеліну-1, який є маркером ЕД, що свідчить про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованої патології [225, 230]. Найбільш виражений позитивний ефект коригуючого впливу встановлений у групі тварин № 5: рівень ендотеліну-1 був статистично дуже високо значущо нижчим у порівнянні з результатами 2-ї, 3-ї та 4-ї груп ($p<0,05$). У порівнянні з даними інтактних тварин відмінностей не виявлено, що свідчить про нормалізацію даного маркера ЕД та вазоконстрикції.

Досліджено, що у тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне підвищення рівня NO як в артеріальній, так і венозній крові відносно інтактних тварин відповідно. У групі № 5 спостерігалася нормалізація досліджуваного показника: рівень NO артеріальної крові був вірогідно нижчим порівняно із групою нелікованих тварин. Аналогічні результати одержані і при вивченні NO венозної крові – рівень вірогідно знижувався відносно щурів зі змодельованим АФС.

Вивчення рівнів NO-синтаз дало змогу стверджувати, що за умов експериментально змодельованого АФС їх рівень змінюється: відмічається різке підвищення iNOS та зниження eNOS, що підтверджує розвиток ЕД у даної групи щурів. Найбільш виражені за терапевтичною ефективністю позитивні результати експериментальної групи № 5 можна пояснити наступним чином. NO, що утворюється з L-аргініну за допомогою eNO-синтази, забезпечує його секрецію для нормального функціонування судин. L-аргінін не тільки є донатором синтезу NO, але й коригує ЕД завдяки

стимуляції активності eNOS, перешкоджаючи окисненню головного кофактора NOS.

Вміст S-NO у крові свідчить про стан продукції NO та вазодилятаційного потенціалу. У групі № 2 встановлене вірогідне зниження рівня S-NO в крові тварин зі змодельованим АФС без подальшої корекції порівняно із інтактними тваринами. Найбільш позитивна динаміка встановлена при дослідженні вмісту S- NO у 5-й групі тварин, які отримували комплексну корекцію: виявлене вірогідне відновлення вмісту S-NO у порівнянні з даними груп № 2, 3 та 4 (на рівні значущості $p<0,05$).

У щурів зі змодельованим АФС доведене виражене підвищення рівню фактору Віллебранда ($p<0,05$). Найбільш виражений позитивний вплив корекції експериментального АФС на рівень даного маркеру ЕД спостерігався у групі № 5, в якій тварини на тлі змодельованої патології отримували корекцію варфарином, імуноглобуліном та L-аргініном.

Також встановлено, що моделювання АФС призводить до підвищення рівня ГЦ та вказує на його ймовірний вплив на синтез NO, зниження чутливості тканин до нього, а також інгібує його ефект. Відсутність статистичних відмінностей рівню ГЦ у крові щурів груп № 5 і інтактної свідчить про максимально виражений позитивний ефект комплексної трьохкомпонентної корекції щодо патологічно підвищеного рівня ГЦ при змодельованому АФС.

Зв'язок між гіпергомоцистеїнемією та утворенням тромбозів свідчить про те, що даний маркер може виступати як додатковий фактор ризику у патогенезі судинних ускладнень при системних аутоімунних захворюваннях, зокрема як ключовий фактор утворення тромбів при АФС та СЧВ.

Ферментативна АОС регулює чисельність вільних радикалів, їх зв’язування і модифікацію, руйнуючи їх утворення. Активація ПОЛ є фактором, що сприяє лабілізації лізосом, деградації некротичних клітинних структур, очищенню вогнища деструкції від некротизованих тканин. Надмірне утворення пероксидів сприяє розповсюдженню зони некрозу. Порушення

збалансованого синтезу ендотелієм досліджуваних нами вазоактивних факторів є важливою причиною порушення його захисних властивостей при АФС [114, 118, 159,160].

При дослідженні системи АОЗ нами встановлено, що у тварин зі змодельованим АФС, рівень СОД вірогідно знижувався (на рівні значущості $p<0,05$), каталази ($p<0,05$), ВГ ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Зниження рівня каталази та ВГ свідчить про залученість даних ферментів в патогенез адаптаційних порушень на клітинному рівні, які розвиваються при АФС. При застосуванні різних схем корекції найбільш ефективною виявилася комбінована терапія (група № 5), яка включала введення варфарину, імуноглобуліну людини та розчину L-аргініну. Одержані дані мають вірогідні відмінності порівняно із тваринами групи № 3 та № 4.

Вивчення системи ПОЛ довзолило встановити вірогідне підвищення рівня ДК ($p<0,05$), МДА ($p<0,05$) порівняно з інтактними тваринами. Оскільки ДК є первинними продуктами ПОЛ, а накопичення МДА характеризує наявність пізніх продуктів пероксидації, одержані результати свідчать про розвиток вираженого ПОЛ на тлі змодельованого АФС. Надлишок вільних радикалів може призводити до подальшого пошкодження ендотелію, потенціювати активацію запальних реакцій на його поверхні та внутрішньосудинне тромбоутворення, а також стимулювати активацію системного апоптозу [114, 118, 159,160].

У групі тварин № 5 спостерігалося врівноваження рівня ДК та МДА, що підтверджувалося відсутністю відмінностей порівняно із інтактними тваринами. Встановлено вірогідне зниження рівня даних показників відповідно (достовірність на рівні значущості $p<0,05$) порівняно із тваринами зі змодельованим АФС. Також відмічалися вірогідні відмінності на рівні значущості $p<0,001$ порівняно із тваринами експериментальних груп № 3 та № 4. Тобто можна стверджувати, що дана корекція виявилася найбільш ефективною в корекції ПОЛ при АФС.

Оскільки важливим механізмом активації запрограмованої клітинної

загибелі є активація імуно-запальних реакцій – одного із наслідків пошкоджуючої дії активації ВРО [51]. Крім цього відомо, що ЕД впливає на синтез медіаторів запалення, експресію молекул адгезії та відіграє ключову роль у розвитку тромбозів при АФС за рахунок безпосереднього контакту клітин ендотелію із медіаторами імунних реакцій, які надходять з током крові. Саме тому доцільним було вивчення рівня гострофазових маркерів запального процесу у щурів із експериментальним АФС.

СРБ відноситься до класу білків гострої фази запалення і є найбільш чутливим показником у сироватці крові запального процесу та некрозу тканин [146, 216]. У тварин зі змодельованим АФС, рівень СРБ вірогідно зростав ($p<0,05$) порівняно із інтактними тваринами. У щурів групи № 5 рівень СРБ вірогідно знижувалася ($p<0,05$) порівняно із тваринами з АФС та практично досягав рівня фізіологічного діапазону. Також встановлено, що у даній експериментальній групі, введення комплексної корекції було найбільш ефективним порівняно із групою № 3 та № 4.

Оскільки тривалий запальний процес, характерний для аутоімунних захворювань, в тому числі і при АФС, супроводжується зростанням продукції медіаторів запалення, нами було проведено поглиблене вивчення змін балансу цитокінів в патогенезі АФС. У тварин зі змодельованим АФС відмічалося вірогідне зростання рівня ІЛ-6 ($p<0,05$), ФНП-α ($p<0,05$), ТФР-β-1 ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин. Отже, можна стверджувати, що несприятлива дія системного запального процесу при АФС реалізується як за рахунок ініціювання та акселерації атеротромбозу в судинах, так і за рахунок прямого негативного впливу медіаторів запалення на ендотелій судин.

У щурів групи № 5 відзначали достовірні відмінності порівняно із групою контрольної патології: зниження рівня ІЛ-6 ($p<0,05$), концентрації ФНП-α ($p<0,05$), ТФР-β-1 ($p<0,05$). Вірогідних відмінностей між показниками групи № 5 та інтактними тваринами не встановлено, що вказує на високу ефективність корекції за даною схемою.

Згідно одержаним результатам та з урахуванням досліджуваних

патогенетичних ланок, нами встановлено, що найбільш виражений фармакологічний ефект проявила терапевтична схема № 5, яка включала комбіновану терапію варфарином, імуноглобуліном людини та L-аргініном. Дана активність пояснюється як прямим, так і опосередкованим впливом кожного із компонентів даної коригуючої схеми на механізм розвитку АФС та його клінічних проявів.

Зокрема, варфарин є основним непрямим антикоагулянтом в терапії та профілактиці АФС. Його механізм антикоагулянтної дії полягає в конкурентному блокуванні утворення вітамін К-залежних факторів зсідання крові (VII, X, XI, II), що прямо буде впливати на коагуляційний каскад зсідання крові та опосередковано на захист судинного ендотелію від ВРО. Окрім цього, за даними численних досліджень варфарин в дозах, що підтримують рівень МНВ в інтервалі 2,0-3,0, здатний знижувати частоту рецидивів венозних тромбозів, а за деякими літературними даними тривале введення даного антикоагулянту не призводить до розвитку гіпокоагуляційних станів [30, 81, 157, 182, 204, 229].

Інший компонентів терапевтичної схеми № 5 – імуноглобулін людини – представляє собою імуноглобулін класу G, виділений із плазми крові людини. Рекомендований у замісній терапії при аутоімунних розладах, які супроводжуються порушенням продукції антитіл. Одержані нами експериментальним шляхом дані корелюють із даними інших дослідників та дозволяють стверджувати, що імуноглобулін людини опосередковано впливає на нормалізацію гемостазу, а також проявляє виражену імуномодулюючу та протизапальну дію. Ймовірно, що в основі цих механізмів дії лежать наступні процеси: дія на імунну систему за рахунок ідіопатичних антитіл, зменшення продукції аутоантитіл в результаті пригнічення В-клітин; нейтралізація аутоантитіл та аутоантигенів; часткове відновлення імунного балансу; вплив на активність ендотелію; пригнічення запальних реакцій за рахунок короткочасної ретикулоендотеліальної блокади рецепторів та зменшення вивільнення прозапальних цитокінів; зменшення утворення нових чи

елімінування вже утворених імунних комплексів [53, 233].

Також одним із важливих компонентів даної терапевтичної схеми є L-аргінін. Його терапевтична дія переважно пов’язана з тим, що він є попередником NO, який відіграє важливу роль у функціонуванні всіх органів і систем, особливо серцево-судинної, нервової та імунної. L-аргінін має здатність пригнічувати адгезію мононуклеарів, агрегацію тромбоцитів, проліферацію гладкої мускулатури судин та накопичення вільних радикалів. L-аргінін також забезпечує адаптацію судин до підвищених метаболічних процесів [3, 19].

Літературні дані вказують на те, що на тлі введення L-аргініну відмічалося послаблення активності процесів ПОЛ та активація АОЗ. Тобто, L-аргінін забезпечував нормальна вазодилятуючі та натитромботичні властивості при АФС [3, 19].

Аргіназа, яка регулює доступ аргініну до інших шляхів його метаболізму, збільшуючи свою активність за умов запалення, обмежує використання аргініну для синтезу NO. При АФС зростає кількість ендогенного інгібітору NO-синтази асиметричного диметиларгініну, що також порушує утворення NO. Таким чином, L-аргінін в лікуванні пацієнтів із судинними факторами ризику та ознаками ЕД (які є ключовими в розвитку АФС) є патогенетично обґрунтованим [3, 19].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено обгрунтування нового вирішення проблеми щодо дослідження патогенетичних ланок антифосфоліпідного синдрому, а також розробка патогенетично обґрунтованого підходу до ефективної корекції даного захворювання.

1. Базуючись на даних анамнезу, клінічної маніфестації, наявності супутньої патології, результатів лабораторного та інструментального дослідження пацієнтів із встановленим діагнозом антифосфоліпідний синдром, підтверджено, що у жінок дана патологія зустрічається в 5 разів частіше, аніж у чоловіків. У загальній групі хворих тривалість антифосфоліпідного синдрому на момент дослідження коливалась від 1 до 10 років. У всіх пацієнтів з антифосфоліпідним синдромом виявилися підвищені рівні сумарних антитіл, а кількість звернень у зв'язку із загостренням залежала від віку та мала вірогідні відмінності. Також відмічено, що загальна кількість супутніх патологій корелювала із кількістю звернень стосовно загострення антифосфоліпідного синдрому. Виявлено, що у пацієнтів чоловічої статі молодого віку на тлі антифосфоліпідного синдрому найчастіше виявляли артралгії та поліартрит, а у чоловіків середньої вікової групи – шкірні прояви. У жінок молодого віку на тлі діагностованого антифосфоліпідного синдрому найчастіше відмічали шкірні прояви у вигляді сітчатого ліведо, артралгії та поліартрит, а також порушення серцево-судинної діяльності. У жінок середньої вікової групи – артралгії та поліартрит та порушення серцево-судинної системи.

2. При моделюванні антифосфоліпідного синдрому спостерігалася позитивна реакція мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном, що вказувало про розвиток даної патології та підтверджувалося гіперкоагуляційними зсувами, як за рахунок судинно-тромбоцитарної, так і коагуляційної ланок системи гемостазу.

3. Встановлено збільшення рівня ендотеліну-1 та фактору Віллебранда ($p<0,05$), які є маркерами ендотеліальної дисфункції, що свідчило про підсилення вазоконстрикторного потенціалу тонусу судин на тлі змодельованого антифосфоліпідного синдрому. Також виявлено, що розвиток експериментального антифосфоліпідного синдрому призводив до підвищення рівню гомоцистеїну ($p<0,05$).

4. Досліджено, що за умов змодельованої патології відмічалося вірогідне підвищення рівня NO як в артеріальній, так і венозній крові: відмічалося різке підвищення індуцибельної NO-синтази та зниження ендотеліальної NO-синтази, що підтверджувало розвиток ендотеліальної дисфункції. Встановлено зниження рівня NO-синтази за експериментальних умов, що свідчило про стан продукції NO та вазодилятаційного потенціалу.

5. При вивченні балансу між системою антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів встановлено, що за умов змодельованого антифосфоліпідного синдрому, вірогідно знижувався рівень супероксиддисмутази ($p<0,05$), каталази ($p<0,05$) та відновленого глутатіону ($p<0,05$). Одержані результати вказували на залученість даних ферментів в патогенез адаптаційних порушень на клітинному рівні, які розвиваються при антифосфоліпідному синдромі. Можна стверджувати, що активація процесів вільно-радикального окиснення, в тому числі і перекисне окиснення ліпідів, є типовим процесом дезорганізації структур і функцій органів і систем при досліджуваній патології.

За умов змодельованого антифосфоліпідного синдрому відмічали наступні зміни перекисного окиснення ліпідів: рівень дієнових кон’югатів та малонового диальдегіду різко підвищувалися ($p<0,05$). Вичерпання буферної потужності, захисних систем при тяжких тривалих навантаженнях, у разі коли витрата антиоксидантів вище, аніж їх біосинтез, відбувається окиснювальна деструкція біомембран клітин, що веде до розвитку каскаду патологічних реакцій, характерних для антифосфоліпідного синдрому.

5. При моделюванні антифосфоліпідного синдрому відмічалося

вірогідне зростання рівня С-реактивного білка ($p<0,05$), інтерлейкіну-6 ($p<0,05$), фактору некрозу пухлин-α ($p<0,05$), тканинного фактору росту-β-1 ($p<0,05$). Враховуючи одержані дані можна стверджувати, що взаємодія гострофазових показників та клітин ендотелію призводить до зниження ендотеліальної NO-синтази, синтезу простацикліну, підвищення продукції інгібітору активатора плазміногену 1 типу, ендотеліну-1, інтерлейкіну-6, деяких молекул клітинної адгезії, які провокують міграцію макрофагів в субендотеліальний шар.

6. Дослідження розробленої комплексної медикаментозної схеми, яка включала введення варфарину, імуноглобуліну та розчину L-аргініну за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому вказувало на її високу ефективність, що підтверджувалося зниженням маркерів ендотеліальної дисфункції, гострофазових показників, врівноваженням системи антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів.

Застосування даної терапевтичної схеми є більш патогенетично обґрунтованим, ефективним та безпечним (порівняно із традиційним лікуванням), сприяє зниженню вираженості клінічної маніфестації антифосфоліпідного синдрому та розвитку ускладнень з боку таргетних органів, що дозволяє рекомендувати даний комплексний підхід до впровадження в протоколи лікування антифосфоліпідного синдрому.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. АФС як системне аутоімунне захворювання з ураженням внутрішніх органів з урахуванням патогенетичних ланок може проявлятися клінічною картиною серцево-судинних, ревматичних, неврологічних, нефрологічних та акушерських захворювань, що потребує залучення спеціалістів даних напрямків практичної галузі охорони здоров'я.

2. Вивчення показників, що характеризують ЕД, АОЗ та ПОЛ, може виступати додатковим критерієм своєчасної діагностики АФС та прогнозу даної патології.

3. З метою патогенетично корекції АФС рекомендовано застування антикоагулянтів, імуноглобулінів та амінокислот.

4. Практикуючому лікарю варто усвідомити, що рання діагностика і патогенетична корекція – є запорукою розвитку тяжких ускладнень АФС (ураження серцево-судинної системи, ЦНС, нирок, акушерської патології тощо).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аналіз методологічних підходів при моделюванні гестаційного артифосфоліпідного синдрому / В. Ю. Прокопюк, О. В. Фалько, О. С. Прокопюк та ін. *Патологія.* 2015. № 2 (34). С. 4–10.

2. Антифосфоліпідний синдром у медичній практиці / Г. В. Фартушок, Н. В. Фартушок, В. В. Флуд. *International scientific Journal «Grail of Science»*. 2022. № 14-15. С. 575-583.

3. Барна О. М., Сірик В. О.,Гдиря О. В. L-аргінін: нові можливості застосування. *Ліки України.* 2018. № 3 (219). С. 25–28.

4. Брындина И. Г., Уракова М. А., Лебедева Н. В. Фосфолипиды эритроцитов, плазмы крови, сурфактанта и коагуляционная активность легких при экспериментальном антифосфолипидном синдроме. *Медицинская иммунология*. 2015. № 5 (17). С. 122.

5. Габрук О. Сучасний погляд на діагностику антифосфоліпідного синдрому. *Лабораторна справа.* 2021. № 9. С. 19–32.

6. Головач І. Ю., Чіпко Т. М., Лазоренко О. О. Критеріальний і некритеріальний антифосфоліпідний синдром: концептуальні питання діагностики. *Український ревматологічний журнал.* 2021. № 85 (3).

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. НАМН України, акад. О. В. Стефанова. К. : Авіценна, 2001. 528 с.

8. Дубоссарська Ю. О. Антифосфоліпідний синдром: сучасний погляд на добре відому проблему. *Медичні аспекти здоров'я жінки.* 2018. № 1 (114). С. 27–29.

9. Дудник В. М., Фурман В. Г., Демянишина В. В. Антифосфоліпідний синдром у дітей. *Perinatology and pediatric.* 2018. № 4 (76). С. 93–98.

10. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Вища школа, 1974. 304 с.

11. Клінічна лабораторна діагностика: навчальний посібник / Б. Д.

Луцик, Л. Є. Лаповець, Г. Б. Лебедь та ін.; під ред. Б. Д. Луцика. – 2-е вид. К.: Медицина, 2018. 288 с.

12. Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим з «Антифосфоліпідним синдромом». Наказ МОЗ України № 626 від 08.10.2007 р.

13. Клінічні протоколи надання медичної допомоги хворим з імунними захворюваннями. Наказ МОЗ України № 22 від 20 січня 2015 року.

14. Ліщук-Якимович Х. О. Антифосфоліпідний синдром у практиці лікаря-репродуктолога. *Акушерство. Гінекологія. Генетика.* 2016. № 1 (2). С. 80–82.

15. Макаров О. Г. Динаміка змін показників системи зсідання крові протягом вагітності у жінок з тромбофілічними станами. *Світ медицини та біології.* 2016. № 2 (56). С. 40–42.

16. Методы статистической обработки медицинских данных: метод. рек. / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, И. В. Жиров и др. М.: РКНПК, 2012. 42 с.

17. Мехно Н. Я., Яремчук О. З. Антифосфоліпідний синдром та ураження легень. *Вісник медичних і біологічних досліджень.* 2021. № 4 (10). С. 125–134.

18. Морфологічні зміни у нирках при експериментальному фосфоліпідному синдромі та застосуванні модуляторів синтезу оксиду азоту / О. З. Яремчук, З. М. Небесна, С. Б. Крамар, К. А. Посохова. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* 2020. № 1. С. 208–215.

19. Показники прооксидантно-антиоксидантної системи печінки при експериментальному антифосфоліпідному синдромі та застосуванні L-аргініну / О. З. Яремчук та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2017. № 3. С. 63–70.

20. Прокопюк В. Ю. Экспериментальная оценка эффективности прегравидарной подготовки и лечения антифосфолипидного синдрома. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2011. № 2 (36). С. 79–83.

21. Резніков О. Г., Соловйов А. І., Стефанов О. В. Біотична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах:

метод. рекомендації. *Вісник фармакології і фармації.* 2006. № 7. С. 47–61.

22. Рыболовлев Ю. Р., Сидляров Д. П., Афонин Н. И. Прогностическая оценка безопасности веществ для человека по константам их биологической активности. *Токсикологические аспекты безопасности готовых лекарственных форум: тез. докл. науч. конф.* Москва, 16-18 декабря 1981 г. М., 1981. С. 9–10.

23. Сегеда Ю. С., Шевчук С. В. Рівні С-реактивного білка та ФНП-а пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом, зв'язок з ураженням серцево-судинної системи. *Український ревматологічний журнал.* 2016. № 2. С.49–54.

24. Уракова М. А., Брындина И. Г. Метаболическая активность и водный баланс легких при моделировании аутоиммунной патологии у крыс. *Вестник ТвГУ. Биология и экология.* 2013. № 29. С. 272–276.

25. Шевчук С. В., Сегеда Ю. С., Кувікова І. П. Дисліпідемія у хворих з антифосфоліпідним синдромом та її зв'язок з дисфункцією ендотелію й атеросклеротичними змінами в каротидних артеріях. *Лікарська справа.* 2013. № 2. С. 38–47.

26. Яковенко О. К., Гріфф С. Л., Яковенко Т. Л. Антифосфоліпідний синдром під маскою легеневої патології: клінічні спостереження пульмонолога. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* 2019. № 7 (120). С. 14–23.

27. Яремчук О. З., Посохова К. А., Куліцька М. І. Вплив L-аргініну та аміногуанідину на показники вільнорадикального окиснення у нирках при експериментальному антифосфоліпідному синдромі. *Світ медицини та біології.* 2018. № 3 (65). С. 210–214.

28. 16th International congress on antiphospholipid antibodies task force report on antiphospholipid syndrome / H. Cohen, M. J. Cuadrado, D. Erkan et al. *Lupus.* 2020. Vol. 29 (12). P. 1571–1593.

29. A high-risk laboratory profile of antiphospholipid antibodies and thrombosis is associated with a large number of extra-criteria manifestations in obstetric antiphospholipid syndrome / S. Udry, J. O. Latino, C. Belizna et al.

Immunologic research. 2019. Vol. 67 (6). P. 478–485.

30. A review of indications and comorbidities in which warfarin may be the preffered oral anticoagulant / D. Wadsworth, E. Sullivan, T. Jacky et al. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics.* 2021. Vol. 46 (3). P. 560–570.

31. A simplified understanding of the black swan: antiphospholipid antibody syndrome / B. Vaidya, S. Nakarmi, R. Joshi, R. Baral. *Journal of Nepal Medical Association.* 2019. Vol. 57 (216). P. 133–145.

32. Ahluwalia J., Sreedharanunni S. The Laboratory Diagnosis of the antiphospholipid Syndrome. *Indian journal of hematology & blood transfusion.* 2017. Vol. 33 (1). P. 8–14.

33. Ames P., Alves J. D., Gentile F. Coagulation and complement in antiphospholipid syndrome. *Thrombosis research.* 2017. Vol. 158. P. 149–151.

34. Anticardiolipin antibodies and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham cohort and offspring study / V. Janardhan, P. A. Wolf, C. S. Kase et al. *Stroke.* 2004. Vol. 35 (3). P. 736–741.

35. Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies (aPS/PT) as potential diagnostic markers and risk predictors of venous thrombosis and obstetric complications in antiphospholipid syndrome / H. Shi, H. Zheng, Y. F. Yin et al. *Clin Chem Lab Med.* 2018. Vol. 56 (4). P. 614–624.

36. Antiphospholipid antibodies and heart failure with preserved ejection fraction. The Multicenter ATHERO-APS study / S. Pastori, P. R. J. Ames, M. Triggiani et al. *Journal of clinical medicine.* 2021. Vol. 10 (14). P. 3180.

37. Antiphospholipid antibodies and recurrent thrombosis after a first unprovoked venous thromboembolism / Clive Kearon et al. *Blood.* 2018. Vol. 131 (19). P. 2151–2160.

38. Antiphospholipid syndrome / K. Schreiber, S. Sciascia, P. G. de Groot et al. *Nature Reviews Disease Primers.* 2018. Vol. 4. P. 17103.

39. Antiphospholipid syndrome and the neurologist: from pathogenesis to therapy / T. Fleetwood et al. *Frontier in neurology.* 2018. Vol. 9. e1001.

40. Antiphospholipid syndrome anticoagulation quality: a clinical challenge

/ D. Pastori, S. Parrotto, T. Vicario et al. *Atherosclerosis*. 2016. Vol. 244. P. 48–50.

41. Antiphospholipid syndrome: a case report with an unusual wide spectrum of clinical manifestations / C. Mazzoccoli, D. Comitangelo, A. D'introno et al. *Autoimmunity Highlights*. 2019. Vol. 10. e9.

42. Antiphospholipid syndrome: a clinical perspective / Y. Zuo, H. Shi, C. Li, J. S. Knight. *Chinese medical journal.* 2020. Vol. 133 (8). P. 929–940.

43. Antiphospholipid syndrome: an update / M. Merashli, M. H. Noureldine, I. Uthman, M. Khamashta. *European journal of clinical investigation.* 2015. Vol. 45 (6). P. 653–662.

44. Antiphospholipid syndrome: the burden of inadequate anticoagulation management / K. Nassarmadji, A. Brigante, C. Larroche et al. *Clinical and experimental rheumatology*. 2022. Vol. 40 (9). P. 1812–1813.

45. Antiphospholipid syndrome: role of vascular endothelial cells and implications for risk stratification and targeted therapeutics / M. T. Corban, A. Duarte-Garcia, R. D. McBane et al. *Journal of American College of Cardiology*. 2017. Vol. 69 (18). P. 2317–2330.

46. Antiphospholipid syndrome: therapeutic challenges / H. Alhasson, A. Abdullah, A. Salama et al. *American journal of therapeutics.* 2020. Vol. 27 (3). P. 328–330.

47. Antonovic A., Bruzelius M. Impaired fibrinolysis in the antiphospholipid syndrome. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2021. Vol. 47 (5). P. 506–511.

48. Arachchillage D., Deepa R. J., Laffan M. Pathogenesis and management of antiphospholipid syndrome. *British journal of haematology.* 2017. Vol. 178 (2). P. 181–195.

49. Arachchillage D., Laffan M. What is the appropriate anticoagulation strategy for thrombotic antiphospholipid syndrome? *British journal of haematology*. 2020. Vol. 189 (2). P. 216–227.

50. Arterial thrombosis in antiphospholipid syndrome (APS): clinical approach and treatment / C. Cheng, G. Y. Cheng, G. Denas, V. Pengo. *Blood*

reviews. 2021. Vol. 48. e100788.

51. Association between plasmatic oxidative stress and thrombosis in primary antiphospholipid syndrome / C. O. Vaz, B. M. Mazetto, P. Vasconcelos et al. *Journal of thrombosis and thrombolysis.* 2021. Vol. 52 (3). P. 730–737.

52. Atherothrombosis and oxidative stress: mechanisms and management in elderly / F. Violi, L. Loffredo, R. Carnevale et al. *Antioxidant & redox signaling.* 2017. Vol. 27 (14). P. 1083–1124.

53. Autoinflammation and autoimmunity across rheumatic and musculoskeletal diseases / Z. Szekanecz, I. B. McInnes, G. Schett et al. *Rheumatology.* 2021. Vol. 17 (10). P. 585–595.

54. Barr D., Quovadis J. E. Direct oral anticoagulants: a review of common medication errors. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2019. Vol. 47 (1). P. 146–154.

55. Becarevic M. B., Nikolic B. S., Ignjatovic S. D. Adiponectin: a therapeutic target in the antiphospholipid syndrome? *Rheumatology international.* 2019. Vol. 39 (9). P. 1519–1525.

56. Beyan C., Beyan E. Mean platelet volume may not play a role in determining thrombosis development in patients with antiphospholipid syndrome. *Thrombosis research.* 2021. Vol. 206. P. 131–132.

57. Bringing therapy in antiphospholipid syndrome and antiphospholipid antibodies carriers: case series and review of the literature / S. Raso, S. Sciascia, A. Kuzenko et al. *Autoimmunity reviews.* 2015. Vol. 14 (1). P. 36–42.

58. Brock E. Hasper, Rohan Willis, Silvia S. Pierangeli. Pathophysiological mechanisms in antiphospholipid syndrome. *International Journal of Clinical Rheumatology.* 2011. Vol. 6 (2). P. 157–171.

59. Bryce Tan M. L. T., Cherian R., Chandra B. Anti-phospholipid syndrome and COVID-19 thrombosis: connecting the dots. *Rheumatology Advances in Practice.* 2021. P. 1–14.

60. Cardenas Suri H., Jimomila Bening D. Catastrophic antiphospholipid antibody syndrome and multiple organ dysfunctions in critically ill patients with

COVID-19. *Expert review of respiratory medicine.* 2020. Vol. 14 (11). P. 1071–1072.

61. Cardiovascular disease and antiphospholipid syndrome: how to predict and how to treat? / I. Calcaterra, A. Tufano, R. Lupoli et al. *Pol Arch Intern Med.* 2021. Vol. 131. P. 161–170.

62. Catastrophic antiphospholipid syndrome as a complication of systemic sclerosis / D. J. Manzella, L. Vincente, A. Perez de la Hoz et al. *Reumatismo.* 2019. Vol. 71 (2). P. 92–98.

63. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): Descriptive analysis of 500 patients from the International CAPS Registry / I. Rodriguez-Pinto, M. Moitinho, I. Santacreu et al. *Autoimmunity reviews.* 2016. Vol. 15 (12). P. 1120–1124.

64. Catastrophic antiphospholipid syndrome presenting with aortic barrage: case report and review of the literature / L. Moroni, P. Righini, G. A. Ramirez et al. *Lupus.* 2021. Vol. 30 (6). P. 1005–1009.

65. Cervera R., Rodriguez-Pinto I., Espinosa G. The diagnosis and clinical management of the catastrophic antiphospholipid syndrome: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity.* 2018. Vol. 92. P. 1–11.

66. Chaturvedi S., Braunstein E. M., Brodsky R. A. Antiphospholipid syndrome: complement activation, complement gene mutations, and therapeutic implications. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2021. Vol. 19 (3). P. 607–616.

67. Chighizola C. B., Raimondo M. G., Meroni P. L. Management of thrombotic antiphospholipid syndrome. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2018. Vol. 44 (5). P. 419–426.

68. Chighizola C. B., Ubiali T., Meroni P. L. Treatment of Thrombotic Antiphospholipid Syndrome: The Rationale of Current Management – An Insight into Future Approaches. *J Immunol Res.* 2015. Vol. 2015. P. 951424

69. Circulating levels of tissue factor and the risk of thrombosis associated with antiphospholipid syndrome / L. Q. Tobaldini, F. T. Arantes, S. Saraiva et al.

Thrombosis research. 2018. Vol. 171. P. 114–120.

70. Cervera R. Antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2017. Vol. 151 (1). P. 43–47.

71. Clinical and immunological features of antiphospholipid syndrome in the elderly: a retrospective national multicentre study / F. Grimaud, C. Yelnik, M. Pineton de Chambrun et al. *Rheumatology.* 2019. Vol. 58 (6). P. 1006–1010.

72. Clinical and therapeutic value of the adjusted Global Antiphospholipid Syndrome Score in primary obstetric antiphospholipid syndrome / S. Udry, S. M. Perez, C. Belizna et al. *Lupus.* 2022. Vol. 31 (3). P. 354–362.

73. Clinical associations of proinflammatory cytokines, oxidative biomarkers and vitamin D levels in systemic lupus erythematosus / R. Willis, M. Smikle, K. DeCeulaer et al. *Lupus.* 2017. Vol. 26 (14). P. 1517–152.

74. Clinical utility of the global anti-phospholipid syndrome score for risk stratification: a pooled analysis / S. Sciascia et al. *Rheumatology.* 2018. Vol. 57 (4). P. 661–665.

75. Cohen H. The use of direct anticoagulants in antiphospholipid syndrome. *Clinical advances in hematology & oncology.* 2020. Vol. 18 (1). P. 19–23.

76. Cohen H., Efthymiou M., Devreese K. Monitoring of anticoagulation in thrombotic antiphospholipid syndrome. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2021. Vol. 19 (4). P. 892–908.

77. Cohen H., Isenberg D. A. How I treat anticoagulant-refractory thrombotic antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2021. Vol. 137 (3). P. 299–309.

78. Comarmond C., Cacoub P. Antiphospholipid syndrome: from pathogenesis to novel immunomodulatory therapies. *Autoimmunity reviews.* 2013. Vol. 12 (7). P. 752–757.

79. Comparison of non-criteria antiphospholipid syndrome with definite antiphospholipid syndrome: A systematic review / G. Pires da Rosa, E. Ferreira, B. Sousa-Pinto et al. *Frontiers Immunol.* 2022. Vol. 13. 967178.

80. Comparison of plasma total homocysteine measurements in 14 laboratories: an international study / C. M. Pfciffer, Dan J. Huff, S. Jay Smith et al.

Clinical Chemistry. 1999. Vol. 45 (8). P. 1261–1268.

81. Crowl A., Schullo-Feulner A., Moon J. Y. Warfarin monitoring in antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulant. *The Annals of pharmacotherapy.* 2014. Vol. 48 (11). P. 1479–1483.

82. Current concepts in the diagnosis and management of antiphospholipid syndrome and ocular manifestations / G. Uludag, N. Onghanseng, A. N. T. Tran et al. *J Ophtal Inflamm Infect.* 2021. Vol. 11. e11.

83. Development of new international classification criteria for antiphospholipid syndrome: Phase III case collection results / M. Barbhaiya, D. Erkan, Y. Admadzadeh et al. *Ann Rheum Dis.* 2020. Vol. 79. P. 64.

84. Devreese Katrien M. J. Testing for antiphospholipid antibodies: Advances and best practices. *International journal of laboratory hematology.* 2020. Vol. 42 (1). P. 49–58.

85. Diagnosing and treating antiphospholipid syndrome: a consensus paper / M. Limper, K. de Leeuw, A. T. Lely et al. *The Netherlands journal of medicine.* 2019. Vol. 77 (3). P. 98–108.

86. Direct oral anticoagulant use in patients with thrombophilia, antiphospholipid syndrome or venous thrombosis of unusual sites: a narrative review / L. Bertoletti, Y. Benhamou, Y. Bejot et al. *Blood reviews.* 2018. Vol. 32 (4). P. 272–279.

87. Direct oral anticoagulants in antiphospholipid syndrome: a real life case series / J. F. Betancur, F. Bonilla-Abadia, A. A. Hormaza et al. *Lupus.* 2016. Vol. 25 (6). P. 658–662.

88. Direct oral anticoagulants versus vitamin K antagonists in patients with antiphospholipid syndrome: systematic review and meta-analysis / N. Koval, M. Alves, R. Placido et al. *RMD open.* 2021. Vol. 7 (2). e001678.

89. Dobrowolski C., Erkan D. Treatment of antiphospholipid syndrome beyond anticoagulation. *Clinical immunology.* 2019. Vol. 206. P. 53–62.

90. Drug-induced antiphospholipid syndrome: analysis of the WHO international database / C. Gerardin, K. Bihan, J. E. Salem et al. *Autoimmunity*

reviews. 2022. Vol. 21 (5). 103060.

91. Dufrost V., Wahl D., Zuily S. Direct oral anticoagulants in antiphospholipid syndrome: meta-analysis of randomized controlled trials. *Autoimmunity reviews.* 2021. Vol. 20 (1). e102711.

92. Dush A., Erdeljac H. P. INR management of an Antiphospholipid syndrome patient with point-of-care INR testing. *Journal of pharmacy practice.* 2020. Vol. 33 (3). P. 390–391.

93. Effect of Additional Treatments Combined with Conventional Therapies in Pregnant Patients with High-Risk Antiphospholipid Syndrome: A Multicentre Study / A. Ruffatti, M. Tonello, A. Hoxha et al. *Thrombosis and haemostasis.* 2018. Vol. 118 (4). P. 639–646.

94. El Hasbani G., Taher Ali T., Sciascia S. Antiphospholipid syndrome: the need for new international classification criteria. *Expert review of clinical immunology*. 2021. Vol. 17 (4). P. 385–394.

95. Epidemiology of antiphospholipid syndrome in the general population / J. Y. Dabit, M. O. Valenzuela-Almada, S. Vallejo-Ramos, A. Duarte-Garcia. *Current rheumatology reports.* 2022. Vol. 23 (12). P. 85.

96. Epigenetics-mediated pathological alterations and their potential in antiphospholipid syndrome diagnosis and therapy / Y. Tan, Q. Liu, Z. Li et al. *Autoimmunity reviews.* 2022. Vol. 21 (8). e103130.

97. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults / M. G. Tektonidou, L. Andreoli, M. Limper et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2019. Vol. 78. P. 1296–1304.

98. Extra-criteria manifestations of antiphospholipid syndrome: risk assessment and management / M. Radin, M. R. Ugolini-Lopes, S. Sciascia, D. Andrade. *Semin Arthritis Rheumatol.* 2018. Vol. 48 (1). P. 117–120.

99. Factors associated with first thrombosis in patients presenting with obstetric antiphospholipid syndrome (APS) in the APS Alliance for Clinical Trials and International Networking Clinical Database and Repository: a retrospective study / G. R. de Jesus, S. Sciascia, D. Andrade et al. *BJOG: an international*

journal of obstetrics and gynaecology. 2019. Vol. 126 (5). P. 656–661.

100. Farzaneh-Far A., Roman M. J., Lockshin M. D. Relationship of antiphospholipid antibodies to cardiovascular manifestations of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 2006. Vol. 54 (12). P. 3918–3925.

101. Frequency of psychological alterations in primary antiphospholipid syndrome: preliminary study / M. Sadetski, M. L. Tourinho Moretto, R. P. Correia de Araujo, J. F. de Carvalho. *Lupus.* 2018. Vol. 27 (5). P. 837–840.

102. Galli M. Treatment of the antiphospholipid syndrome. *Auto Immun Highlights.* 2013. Vol. 5. P. 1–7.

103. GAPSS: the Global Antiphospholipid syndrome score / S. Sciascia, G. Sanna, V. Murru et al. *Theumatology.* 2013. Vol. 52. P. 1397–1403.

104. Garcia D., Erkan D. Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *The New England journal of medicine.* 2018. Vol. 378 (21). P. 2010–2021.

105. Genetic risk factors in thrombotic primary antiphospholipid syndrome: a systematic review with bioinformatic analyses / M. A. Islam, S. S. Khandker, F. Alam et al. *Autoimmunity reviews.* 2018. Vol. 17 (3). P. 226–243.

106. Gerosa M., Meroni P. L., Erkan D. Recognition and management of antiphospholipid syndrome. *Current opinion in rheumatology.* 2016. Vol. 28 (1). P. 51–59.

107. Gheita T. A., Kenawy S. A. Measurement of malondialdehyde, glutathione, and glutathione peroxidase in SLE patients. *Methods in molecular biology.* 2014. Vol. 1134. P. 193–199.

108. Giannakopoulos B., Krilis S. A. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *The New England Journal of Medicine.* 2013. Vol. 368 (11). P. 1033–1044.

109. Gomez-Puerta Jose A., Carvera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *Journal of autoimmunity.* 2014. Vol. 48-49. P. 20–25.

110. Groot de P. G., Urbanus R. T. Antiphospholipid syndrome – not a

noninflammatory disease. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2015. Vol. 41 (6). P. 607–614.

111. Hematological manifestations of antiphospholipid syndrome: going beyond thrombosis / G. El Hasbani, A. N. Saliba, I. Uthman, Ali T. Taher. *Blood Reviews.* 2022. e101015.

112. HIBISCUS: Hydroxychloroquine for the secondary prevention of thrombotic and obstetrical events in primary antiphospholipid syndrome / C. Belizna, F. Pregnolato, S. Abad et al. *Autoimmunity reviews.* 2018. Vol. 17 (12). P. 1153–1168.

113. Houghton D. E., Moll S. Antiphospholipid antibodies. *Vascular medicine.* 2017. Vol. 22 (6). P. 545–550.

114. Increased oxidative stress may be a risk factor thromboembolic complications in patients with antiphospholipid syndrome / J. Nojima, R. Kaneshige, Y. Motoki, M. Ieko. *Thrombosis research.* 2020. Vol. 196. P. 52–53.

115. Inflammatory markers in thrombosis associated with primary antiphospholipid syndrome / F. T. Arantes, B. M. Mazetto, S. S. Saraiva et al. *Journal of thrombosis and thrombolysis.* 2020. Vol. 50 (4). P. 772–781.

116. Independent validation of the adjusted GAPSS: Role of thrombotic risk assessment in the real-life setting / Mosteirin Fernandez et al. *Lupus.* 2017. Vol. 26 (12). P. 1328–1332.

117. Intensity of immune/clotting assays relate to multiple antiphospholipid antibody positivity in thrombotic primary antiphospholipid syndrome / P. Ames, M. Merashli, B. Tommaso et al. *International journal of hematology.* 2021. Vol. 113 (2). P. 183–189.

118. Is oxidative stress an emerging player in the thrombosis of patients with antiphosphotidylethanolamine autoantibodies? / X. Heim, D. Bertin, N. Resseguier et al. *Journal of clinical medicine.* 2022. Vol. 11 (5). 1297.

119. Is there a link between mean platelet volume and thrombosis events in antiphospholipid syndrome? / S. Korkmaz, A. U. Uslu, S. Sahin et al. *Platelets.*

2014. Vol. 25 (5). P. 343–347.

120. Iuliano A., Galeazzi M., Sebastiani G. D. Antiphospholipid syndrome's genetic and epigenetic aspects. *Autoimmunity reviews.* 2019. Vol. 18 (9). P. 102352.

121. Jackson S. P., Darbousset R., Schoenwaelder S. M. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood.* 2019. Vol. 133 (9). P. 906–918.

122. Jin Richard C., Joseph Loscalzo. Vascular Nitric Oxide: Formation and Function. *Journal of blood medicine*. 2010. Vol. 2010 (1). P. 147–162.

123. Joshi A., Hong J., Siva C. Recurrent thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome receiving newer oral anticoagulants: a care report and review of literature. *Clinical medicine & research.* 2017. Vol. 15 (1-2). P. 41–44.

124. Kalmanti L., Lindhoff-Last E. Treatment of vascular thrombosis in antiphospholipid syndrome: an update. *Hamostaseologie.* 2020. Vol. 40. P. 31–37.

125. Kazzaz N. M., McCune W. J., Knight J. S. Treatment of catastrophic antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2016. Vol. 28 (3). P. 218–227.

126. Knight J. S., Kanthi Y. Mechanisms of immunothrombosis and vasculopathy in antiphospholipid syndrome. *Seminars in immunopathology.* 2022. Vol. 44 (3). P. 347–362.

127. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH / K. M. Devreese et al. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2018. Vol. 16 (4). P. 809–813.

128. Laboratory diagnostics of antiphospholipid syndrome / V. Pengo, E. Bison, G. Denas et al. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2018. Vol. 44 (5). P. 439–444.

129. Lackner K. J., Muller-Calleja N. Cofactor-independent antiphospholipid antibodies: implications for pathogenesis, diagnosis, and treatment of antiphospholipid syndrome. *Hamostaseologie.* 2019. Vol. 39 (2). P. 188–194.

130. Lackner K. J., Muller-Calleja N. Pathogenesis of antiphospholipid

syndrome: recent insights and emerging concepts. *Expert review of clinical immunology*. 2019. Vol. 15 (2). P. 199–209.

131. LDL oxidation by platelets propagates platelet activation via an oxidative stress-mediated mechanism / R. Carnevale, S. Bartimoccia, C. Nocella et al. *Atherosclerosis.* 2014. Vol. 237 (1). P. 108–116.

132. Lee E. E., Jun J. K., Lee E. B. Management of women with antiphospholipid syndrome during pregnancy. *Journal of Korean Medical Science.* 2021. Vol. 36 (4). P. 24.

133. Lim W. Antiphospholipid syndrome. *Hematology*. 2013. Vol. 2013. P. 675–680.

134. Linnemann B. Antiphospholipid syndrome – an update. *VASA.* 2018. Vol. 47 (6). P. 451–464.

135. Lipid peroxidation as risk factor for endothelial dysfunction in antiphospholipid syndrome patients / N. Stanisavljevic, L. Stajanovich, D. Marisavljevic et al. *Clinical rheumatology.* 2016. Vol. 35 (10). P. 2485–2493.

136. Lupus anticoagulant detection in anticoagulated patients. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis / Armando Tripodi et al. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2020. Vol. 18 (7). P. 1569–1575.

137. Man Y. L., Sanna G. Neuropsychiatric manifestations of antiphospholipid syndrome – a narrative review. *Brain Sciences.* 2022. Vol. 12. e91–101.

138. Management of anticoagulant-refractory thrombotic antiphospholipid syndrome / H. Coher, Z. Sayar, M. Efthymiou et al. *Lancet. Haematology.* 2020. Vol. 7 (8). P. 613–623.

139. Management of antiphospholipid syndrome / I. Uthman, M. Noureldine, G. Ruiz-Irastorza, M. Khamashta. *Annals of the rheumatic diseases.* 2019. Vol. 78 (2). P. 155–161.

140. Management of patients with antiphospholipid antibodies: what to do

in laboratory scenarios that do not fit the guidelines / G. Pires Da Rosa, I. Rodriguez-Pinto, R. Cervera, G. Espinosa. *Expert review of hematology.* 2021. Vol. 14 (5). P. 457–466.

141. Management of thrombotic and obstetric antiphospholipid syndrome: a systematic literature review informimg the EULAR reccomendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults / M. G. Tektonidou, L. Andreoli, M. Limper et al. *RMD open.* 2019. Vol. 5 (1). e000924.

142. Matevosyan K., Sarode R. Thrombosis, Microangiopathies, and inflammation. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2015. Vol. 41 (6). P. 556–562.

143. Meng He. In vivo role of neutrophil extracellular traps in antiphospholipid antibody-mediated venous thrombosis. *Arthritis & rheumatology.* 2017. Vol. 69 (3). P. 655–667.

144. Meroni P. L., Borghi M. O., Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nature reviews. Rheumatology.* 2011. Vol. 7 (6). P. 330–339.

145. Mesa C. J., Rife E. C., Espinoza L. R. Catastrophic antiphospholipid syndrome: is life-long anticoagulation therapy required? *Clinical rheumatology.* 2020. Vol. 39 (7). P. 2115–2119.

146. Miesbach W., Gokpinar B., Gilzinger A. Predictive role of hs-C-reactive protein in patients with antiphospholipid syndrome. *Immunobiology.* 2005. Vol. 210. P. 755–760.

147. Mineo C. Inhibition of nitric oxide and antiphospholipid antibody-mediated thrombosis. *Current rheumatology reports.* 2013. Vol. 15 (5). P. 324.

148. Morbidity and mortality in antiphospholipid syndrome based on cluster analysis: a 10-year longitudinal cohort study / Y. Ogata, Y. Fujieda, M. Sugawara et al. *Rheumatology.* 2021. Vol. 60 (3). P. 1331–1337.

149. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients / R. Cervera, R. Serrano, G. J. Pons-Estel et al. *Annals of the rheumatic diseases.* 2015. Vol. 74

(6). P. 1011–1018.

150. Muller-Calleja N., Lackner K. J. Mechanisms of cellular activation in the antiphospholipid syndrome. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2018. Vol. 44 (5). P. 483–492.

151. New and upcoming treatment in antiphospholipid syndrome: a comprehensive review / F. Signorelli, G. Balbi, V. Domingues, R. A. Levy. *Pharmacological research.* 2018. Vol. 133. P. 108–120.

152. New APS classification criteria collaborators (2021). Development of a new international antiphospholipid syndrome classification criteria phase I/II report: generation and reduction of candidate criteria / M. Barbhaiya, S. Zuily, Y. Ahmadzadeh et al. *Arthritis care & research.* 2021. Vol. 73 (10). P. 1490–1501.

153. New biomarkers for atherothrombosis in antiphospholipid syndrome: genomics and epigenetics approaches / C. Lopez-Pedrera, N. Barbarroja, A. M. Patino-Trives et al. *Frontiers in immunology.* 2019. Vol. 10. P. 764.

154. Novel diagnostic and therapeutic frontiers in thrombotic antiphospholipid syndrome / S. Sciascia, M. Radin, M. Bazzan et al. *Internal Emergency Medicine.* 2017. Vol. 12 (1). P. 1–7.

155. Obstetric antiphospholipid syndrome / C. Galarza-Maldonado, M. R. Kourilovitch, O. M. Perez-Fernandez et al. *Autoimmunity reviews.* 2012. Vol. 11 (4). P. 288–295.

156. Oliveira D. C., Correia A., Oliveira C. The issue of the antiphospholipid antibody syndrome. *Journal of Clinical Medicine Research.* 2020. Vol. 12 (5). P. 286–292.

157. Oral anticoagulation cost in primary antiphospholipid syndrome: comparison between warfarin and hypothetical rivaroxaban / A. Ciampa, C. Salapete, S. Vivolo, P. Ames. *Blood coagulation & fibrinolysis.* 2018. Vol. 29 (1). P. 135–138.

158. Oxidative stress in endothelial cells induced by the serum of women with different clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome / M. Velasquez, M. A. Granada, J. C. Galvis et al. *Biomedica.* 2019. Vol. 39 (4). P.

673–688.

159. Oxidative stress in the pathogenesis of antiphospholipid syndrome: implications for the atherothrombotic process / P. Rosa, C. Felici, O. Riggio et al. *Antioxidants.* 2021. Vol. 10 (11). P. 1790.

160. Oxidative stress in the pathogenesis of atherothrombosis associated with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus: new therapeutic approaches / C. Lopez-Pedrera, N. Barbarroja, Y. Jimenez-Comez et al. *Rheumatology.* 2016. Vol. 55 (12). P. 2096–2108.

161. Padmanabahan N., Jalihal S. Catastrophic antiphospholipid syndrome – a case report of a highly fatal disease. *Clinical medicine.* 2020. Vol. 20 (92). e92.

162. Pediatric antiphospholipid syndrome: from pathogenesis to clinical management / S. Rosina, C. B. Chighizola, A. Ravelli, R. Cimaz. *Current Rheumatology Reports.* 2021. Vol. 23. P. 1–10.

163. Pengo V. Additional laboratory tests to improve on the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2020. Vol. 18 (8). P. 1846–1848.

164. Pengo V., Denas G. Diagnostics and treatment of thrombotic antiphospholipid syndrome (APS): a personal perspective. *Thrombosis research.* 2018. Vol. 169. P. 35–40.

165. Petri M. Antiphospholipid syndrome. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine.* 2020. Vol. 225. P. 70–81.

166. Plasma exchange in catastrophic antiphospholipid syndrome / I. Rodriguez-Pinto, M. Lozano, J. Cid et al. *Presse medicale.* 2019. Vol. 48 (11). P. 347–353.

167. Platelet Activation by Antiphospholipid Antibodies Depends on Epitope Specificity and is Prevented by mTOR Inhibitors / A. Hollerbach, N. Muller-Calleja, S. Ritter et al. *Thromb. Haemost.* 2019. Vol. 119. P. 1147–1153.

168. Platelet and endothelial activation in catastrophic and quiescent antiphospholipid syndrome / A. Bontadi, A. Ruffatti, E. Falcinelli et al.

Thrombosis and haemostasis. 2013. Vol. 109 (5). P. 901–908.

169. Platelets are required for enhanced activation of the endothelium and fibrinogen in a mouse thrombosis model of APS / V. Proulle, R. A. Furie, G. Merrill-Skoloff et al. *Blood.* 2014. Vol. 124 (4). P. 611–622.

170. Polytarchou K., Varvarousis D., Manolis A. S. Cardiovascular disease in antiphospholipid syndrome. *Current vascular pharmacology.* 2020. Vol. 18 (6). P. 538–548.

171. Post-translational modifications of proteins in antiphospholipid antobody syndrome / B. Buttari, E. Profumo, A. Capozzi et al. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2019. Vol. 56 (8). P. 511–525.

172. Prevalence of hypertension in 600 patients with antiphospholipid syndrome ACR/ARHP / S. R. Sangle, D. P. D'Cruz, M. Khamashta, G. R. V. Hugles. *Ann. Scientif. Meeting.* 2003. Vol. 868. P. 24–28.

173. Quility of life in patients with antiphospholipid syndrome is related to disease burden and anticoagulant therapy / G. Hernandez-Molina, I. Gonzalez-Perez, C. Pacheco-Molina, A. R. Cabral. *International journal of rheumatic diseases.* 2017. Vol. 20 (6). P. 755–759.

174. Radway-Bright E. L., Inane M., Isenberg D. A. Animal models of the antiphospholipid syndrome. *Rheumatology.* 1999. Vol. 38. P. 591–601.

175. Rahman A. Management of antiphospholipid syndrome. *Clinical rheumatology.* 2020. Vol. 39 (7). P. 2111–2114.

176. Reactive oxygen species in venous thrombosis / C. Gutmann, R. Siow, A. M. Gwozdz et al. *International journal of molecular sciences.* 2020. Vol. 21 (6). P. 1918.

177. Reccurent thrombosis in antiphospholipid syndrome may be associated with cardiovascular risk factors and inflammatory response / S. Saraiva, I. F. Custodio, B. Mazetto et al. *Thrombosis research.* 2015. Vol. 136 (6). P. 1174–1178.

178. Repeated low-dose courses of rituximab in SLE-associated antiphospholipid syndrome: data from a tertiary dedicated centre / G. Emmi, M. L.

Urban, A. Scalera et al. *Semin Arthritis Rheum.* 2017. Vol. 46. P. 21–23.

179. Risk factors for arterial thrombosis in antiphospholipid syndrome / A. Matyja-Bednarczyk, J. Swadzba, T. Iwaniec et al. *Thromb Res.* 2014. Vol. 133 (2). P. 173–176.

180. Rituximab in thrombotic primary antiphospholipid syndrome: a pilot study from a single centre in China / Y. You, C. Shi, Z. Zhou et al. *Annals of the rheumatic diseases.* 2021. Vol. 80 (6). P. 820–822.

181. Rivaroxaban versus vitamin K antagonists in antiphospholipid syndrome: a randomized noninferiority trial / J. Ordi-Ros, L. Saez-Comet, M. Perez-Conesa et al. *Annals of internal medicine.* 2019. Vol. 171 (10). P. 685–694.

182. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome / V. Pengo, G. Denas, G. Zoppellaro et al. *Blood.* 2018. Vol. 132 (13). P. 1365–1371.

183. Rodziewicz M., D'Cruz D. P. An update on the management of antiphospholipid syndrome. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*. 2020. Vol. 12. e1759720X20910855.

184. Role of direct oral anticoagulation agents as thromboprophylaxis in antiphospholipid syndrome / S. Arora, S. Nair, R. Prabhu et al. *Cureus.* 2021. Vol. 13 (10). e19009.

185. Sacharidou A., Shaul P. W., Mineo C. New insights in the pathophysiology of antiphospholipid syndrome. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2018. Vol. 44 (5). P. 475–482.

186. Sammaritano L. R. Antiphospholipid syndrome. *Best practice & research. Clinical rheumatology.* 2020. Vol. 34 (1). e101463.

187. Sciascia S., Radin M. Thrombotic antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2018. Vol. 27 (1). P. 21–27.

188. Selby R., Abdulrehman J. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: from coagulation to the clinic. *The journal of applied laboratory medicine.* 2022. Vol. 7 (1). P. 373–378.

189. Serrano A., Cervera R., Gris J. C. Editorial: primary antiphospholipid syndrome. *Frontiers in immunology.* 2020. Vol. 11. e1993.

190. Severe antiphospholipid syndrome and cardiac surgery: perioperative management / P. K. Mishra, F. M. Khazi, P. Yiu, J. S. Billing. *Asian cardiovascular & thoracic annals.* 2016. Vol. 24 (5). P. 473–476.

191. Sevim E., Willis R., Erkan D. Is there a role for immunosuppression in antiphospholipid syndrome? *Hematology. American Society of Hematology. Education Program.* 2019. Vol. 1. P. 426–432.

192. Sidelmann J. J., Sjøland J. A., Gram J. Lupus anticoagulant is significantly associated with inflammatory reactions in patients with suspected deep vein thrombosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2007. Vol. 67 (3). P. 270–279.

193. Signorelli F., Balbi G., Levy R. A. Clinical differences between definite and probable antiphospholipid (aps) patients: should they be treated the same? *Ann Rheumatic Dis.* 2017. Vol. 76. P. 887.

194. Stroke in systemic lupus erythematosus: epidemiology, mechanism, and long-term outcome / P. Guraieb-Chahin et al. *Lupus.* 2020. Vol. 29 (5). P. 437–445.

195. Stroke in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome: risk factors, clinical manifestations, neuroimaging, and treatmen / L. C. D. de Amorim et al. *Lupus.* 2017. Vol. 26 (5). P. 529–536.

196. Studies of fibrin formation and fibrinolytic function in patients with the antiphospholipid syndrome / A. Vikerfors, E. Svenungsson, A. Agren et al. *Thrombosis research.* 2014. Vol. 133 (5). P. 936–944.

197. Tarango C., Palumbo J. S. Antiphospholipid syndrome in pediatric patients. *Current opinion in hematology.* 2019. Vol. 26 (5). P. 366–371.

198. Targeting vascular (endothelial) dysfunction / A. Daiber, S. Steven, A. Weber et al. *Br. J. Pharmacol.* 2017. Vol. 174 (12). P. 1591–1619.

199. Tektonidou M. G. Cardiovascular disease risk in antiphospholipid syndrome: thrombo-inflammation and atherothrombosis. *Journal of autoimmunity.* 2022. Vol. 128. P. 102813.

200. The adjusted Global Antiphospholipid Syndrome Score (aGAPSS) for risk stratification in young APS patients with acute myocardial infarction / M. Radin, K. Schereiber, P. Costanzo et al. *International journal of Cardiology.* 2017. Vol. 240. P. 72–77.

201. The antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus / G. J. Pons-Estel, L. Andreoli, F. Scanzi et al. *Journal of Autoimmunology.* 2017. Vol. 76. P. 10–20.

202. The antiphospholipid syndrome: from pathophysiology to treatment / S. Negrini, F. Pappalardo, G. Murdaca et al. *Clinical and Experimental Medicine.* 2017. Vol. 17. P. 257–267.

203. The association of adjusted Global AntiphosPholipid Syndrome Score (aGAPSS) with cardiovascular disease in subjects with antiphospholipid antibodies / M. N. D. Di Minno, A. Scalera, A. Tufano et al. *Atherosclerosis.* 2018. Vol. 278. P. 60–65.

204. The complex relashioship between C4b-binding protein, warfarin, and antiphospholipid antibodies / G. Grosso, K. Sandholm, A. Antovic et al. *Thrombosis and haemostasis.* 2021. Vol. 121 (10). P. 1299–1309.

205. The epidemiology of antiphospholipid syndrome: a population-based study / A. Duarte-Garcia, M. M. Pham, C. S. Crowson et al. *Arthritis Rheumatology.* 2019. Vol. 71 (9). P. 1545–1552.

206. The H1 haplotype of the endothelial protein C receptor protects against arterial thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome / M. A. Plasin-Rodriguez, I. Rodriguez-Pinto, P. Patricio et al. *Thromb. Res.* 2018. Vol. 169. P. 128–134.

207. The relevance of "non-criteria" clinical manifestations of antiphospholipid syndrome: 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Technical Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Clinical Features / M. M. Abreu, A. Danowski, D. G. Wahl et al. *Autoimmunity reviews.* 2015. Vol. 14 (5). P. 401–414.

208. The role of thrombospondin-1 in the pathogenesis of antiphospholipid

syndrome / M. Patsouras, E. Tsiki, P. Karagianni, P. G. Vlachoyiannopoulos. *Journal of autoimmunity.* 2020. Vol. 115. e102527.

209. The treatment of anti-phospholipid syndrome: A comprehensive clinical approach / C. B. Chighizola, L. Andreoli, M. Gerosa et al. *Journal of autoimmunity.* 2018. Vol. 90. P. 1–27.

210. Thrombocytopenia in primary antiphospholipid syndrome, a marker of high-risk patients? / C. M. Yelnik, Y. Nguyen, V. le Guern et al. *European journal of internal medicine.* 2020. Vol. 74. P. 106–107.

211. Thrombotic antiphospholipid syndrome (APS): efficacy and safety of different anticoagulants-results of the APSantiCO registry / A. Schulz, E. Herrmann, O. Ott, E. Lindhoff-Last. *Journal of Clinical Medicine.* 2022. Vol. 11. P. 4845.

212. Thrombotic antiphospholipid syndrome: a practical guide to diagnosis and management / Z. Sayar, R. Moll, D. Isenberg, H. Cohen. *Thrombosis research.* 2021. Vol. 198. P. 213–221.

213. Thrombotic antiphospholipid syndrome: the role of new antibody specificities and thrombin generation assay / S. Sciascia, S. Baldovino, K. Schreiber et al. *Clinical and molecular allergy.* 2016. Vol. 14 (6). P. 15.

214. Tripodi A. Additional laboratory tests to improve on the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Journal of thrombosis and haemostasis.* 2020. Vol. 18 (11). P. 3117–3118.

215. Tumian N. R., Hunt B. J. Clinical management of thrombotic antiphospholipid syndrome. *Journal of Clinical Medicine.* 2022. Vol. 11. e735.

216. Twito O., Reshef T., Ellis M. H. C-reactive protein level as apredictor of transient vs sustained anticardiolipin antibodypositivity. *Eur. J. Haematol*. 2006. Vol. 76. P. 206–209.

217. Under crossfire: thromboembolic risk in systematic lupus erythematosus / A. Ramirez Giuseppe et al. *Rheumatology.* 2019. Vol. 58 (6). P. 940–952.

218. Unlu O., Zuily S., Erkan D. The clinical significance of

antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *European Journal of Rheumatology.* 2016. Vol. 3. P. 75–84.

219. Update on antiphospholipid antibody syndrome / M. Lopes, A. Danowski, A. Funke et al. *Rev Assoc Med Bras.* 2017. Vol. 63 (11). P. 994–999.

220. Urbanus R. T., Rivaroxaban to treat thrombotic antiphospholipid syndrome. *The Lancet. Haematology.* 2016. Vol. 3 (9). P. 403–404.

221. Use of hydroxychloroquine to control immune response and hypercoagulability in patients with primary antiphospholipid syndrome / S. Saraiva-Mangolin, C. O. Vaz, T. Ruiz et al. *European journal of internal medicine.* 2021. Vol. 90. P. 114–115.

222. Yan-Guang Li, Gregory Y. H. Lip. Anticoagulation Resumption After Intracerebral Hemorrhage. *Current atherosclerosis reports.* 2018. Vol. 20 (7). P. 32.

223. Yazici A., Yazirli B., Erkan D. Belimumab in primary antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2017. Vol. 26 (10). P. 1123–1124.

224. Vadgama T. S., Smith A., Bertolaccini M. L. Treatment in thrombotic antiphospholipid syndrome: a review. *Lupus.* 2019. Vol. 28 (10). P. 1181–1188.

225. Validity of coagulation activation markers in antiphospholipid syndrome: a systematic review and meta-analysis with a Short Data report / P. Ames, T. Bucci, L. Iannaccone et al. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2019. Vol. 45 (5). P. 458–467.

226. Vreede A. P., Bockenstedt P. L., Knight J. S. Antiphospholipid syndrome: an update for clinicians and scientists. *Current opinion in rheumatology.* 2017. Vol. 29 (5). P. 458–466.

227. Wahl D., Dufrost V. Direct oral anticoagulants in antiphospholipid syndrome: too early or too late? *Annals of internal medicine.* 2019. Vol. 171 (10). P. 765–766.

228. Wang C. R., Liu M. F. Rituximab usage in systemic lupus erythematosus-associated antiphospholipid syndrome: A single-center experience.

Semin Arthritis Rheum. 2016. Vol. 46. P. 102–108.

229. Warfarin monitoring and interference by lupus anticoagulant in patients with antiphospholipid syndrome / S. Y. Jepsen, J. B. Larsen, T. D. Christwnsen et al. *Thrombosis research.* 2022. Vol. 211. P. 127–132.

230. Willis R., Harris E. N., Pierangeli S. S. Pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Seminars in thrombosis and hemostasis.* 2012. Vol. 38 (4). P. 305–321.

231. Willis R., Pierangeli S. S. Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Autoimmunity highlights.* 2011. Vol. 2 (2). P. 35–52.

232. Xourgia E., Tektonidou M. G. An update on Antiphospholipid syndrome. *Current rheumatology reports.* 2022. Vol. 23 (12). P. 84.

233. Zepf F. D., Stewart R. M. Inflammation, immunity and suicidality: a potential role for autoantibodies against neurotransmitters and antiphospholipid syndrome? *Acta psychiatrica Scandinavica*. 2016. Vol. 133 (3). P. 249–250.

234. Zeynep Belce Erton, Doruk Erkan. Treatment advances in antiphospholipid syndrome: 2022 update. *Current opinion in Pharmacology.* 2022. Vol. 65. e102212.

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Mykhailiuk M. M., Gerasymenko T. V., Badiuk N. S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**). (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз та узагальнення даних, підготовка статті до друку).
2. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4**). (Особистий внесок – відтворення модельних патологій, аналіз даних, підготовка статті).
3. Савицький В. І., Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький І. В., Александрина Т. А. Аналіз динаміки активності каталази та суперокиддисмутази на тлі змодельованого антифосфоліпідного синдрому та при різних способах його корекції. Вісник морської медицини. 2021. N4. С. 112-116. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5837842 (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз та узагальнення даних, підготовка статті до друку).
4. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364
5. Савицький В. І. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекці. Вісник морської медицини. 2022. N4 (97). С. 61-67. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7569983

6. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.
7. Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. №2(19). С. 97-104. doi: https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2023.13
8. М'ястківська І.В., Савицький В.І., Якимчук Н.В., Савицький І.В. Дослідження розвитку ендотеліальної дисфункції при нітритному навантаженні. Перспективи розвитку медичної науки і освіти. - Збірник тез доповідей всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету (м. Суми, 16-17 листопада 2017 року). - С. 78-79. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
9. Савицький В. І., Якименко О. О. Порівняльна характеристика експериментальних моделей антифосфоліпідного синдрому. *Youth pharmacy :* матеріали II Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 7-8 грудня 2021 р. Харків, 2017. С. 284–285. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
10. Савицький І.В., Ленік Р.Г., Савицький В.І. Функціональний стан ендотелію судин при перитоніті. Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 61-62.
11. Yakymenko O.O., Klochko V.V., Savytskyi V.I. Pathogenetic links of antiphospholipid syndrome and possibilities of its correction. . Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Галицькі Читання». - Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 року. - С. 81-82.

12. Yakymenko Olena, Vasylets Viktoria, Klochko Viktor, Savytskyi Vladimir, Tikhonchuk Natalya. Rituximab efficacy in caps. Lupus Science & Medicine. 2020. Vol. 7 (Suppl. 1). P. 31-32. doi: 10.1136/lupus-2020-eurolupus.55 (**SCOPUS Q1**). (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
13. Якименко О. О., Савицький В. І., Клочко В. В. Динаміка зміни S-нітрозотіолів при експериментальному антифосфоліпідному синдромі. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : матеріали XII Всеукр. наук.-практ. конф., присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О., м. Тернопіль, 29–30 жовт. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 116–117. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
14. Якименко О. О., Клочко В. В., Савицький В. І. Патогенез розвитку антифосфоліпідного синдрому та теоретичні можливості коригування. Механізми розвитку патологічних процесів та їхня фармакологічна корекція: матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнарод. участю, м. Харків, 19 листоп. 2020 р. Харків, 2020. С. 345–346. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
15. Крюкова Г.В., Савицький І.В., Грицан І.І., Савицький В.І., Єрмуракі П.П., Кащенко В.Н. Атеросклероз як фактор ризику ускладнень перитоніту. Патологічна фізіологія – охороні здоров’я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту 2021. – С. 121-123. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
16. Крюкова Г.В., Савицький В.І., Мерза Я.М., Столяренко В. Н., Савицький І.В., Єрмуракі П.П., Шибовська Л.Г. Методи моделювання експериментального гестаційного антифосфоліпідного синдрому. Патологічна фізіологія – охороні здоров’я України: тези доповідей VIII

Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту 2021. – С. 124-125. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).

17. Савицький В.І., Поліванова Н.П., Савицький І.В. Дослідження коморбідної серцево-судинної патології у пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом (ретроспективний аналіз). Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (19- 21 вересня 2024 р.). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. - С. 180-183. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
18. Якименко О.О., Савицький В.І., Поліванова Н. П. Діагностичне значення маркерів дисфункції ендотелію в розвитку артеріальної гіпертензії. XXIII–і читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. - С. 155-157. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).
19. Савицький В. І., Поліванова Н. П., Савицький І. В. Retrospective analysis of comorbidity of cardiovascular pathology and antiphospholipid syndrome. XXIV–і читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. - С. 152-154. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).

ДОДАТОК Б

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Всеукраїнській науково-практичній конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету «Перспективи розвитку медичної науки і освіти» (Суми, Україна, 16-17 листопада 2017 р., форма участі – публікація тез),
2. Науково-практичній конференції з «міжнародною участю «Галицькі Читання» «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, Україна, 19-20 вересня 2019 р., форма участі – доповідь, публікація тез),
3. 9-й щорічній (віртуальній) зустрічі міжнародної Академії Lupus (віртуальне зібрання, 21 вересня 2020 р., форма участі – публікація тез),
4. XII Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, Україна, 29–30 жовтня 2020 р., форма участі – публікація тез),
5. III науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та їхня фармакологічна корекція» (Харків, Україна, 19 листопада 2020 р. форма участі – публікація тез),
6. VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (м. Одеса, Україна, 6-8 жовтня 2021 р., форма участі – доповідь, публікація тез),
7. II Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю "Youth pharmacy" (Харків, Україна, 7-8 грудня 2021 р. форма участі – публікація тез),

8. IX Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (Івано-Франківськ, Україна, 19- 21 вересня 2024 р., форма участі – доповідь, публікація тез),
9. Науковій конференції XXIII–і читання В.В. Підвисоцького (Одеса, Україна, 16-17 травня 2024 р., форма участі – доповідь, публікація тез),
10. Науковій конференції XXIV–і читання В.В. Підвисоцького (Одеса, Україна, 21-22 травня 2025 р.).

ДОДАТОК В
АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
Директору Багатопрофільного
медичного центру ОНМедУ
Олег ПОДУСТ
"____"_____2026

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва впровадження: Комплексний підхід для діагностики антифосфоліпідного синдрому
Ким запропоновано, адреса: Одеський національний медичний університет, кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб та терапії, вул. Пастера 9, м. Одеса, 65082, Якименко О.О., Клочко В.В., Кравчук О.Е., Чорній О.П.
Джерело інформації:
Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. № 2 (19). С. 97-104.
Де і коли впроваджено: ревматологічне відділення Багатопрофільного медичного центру ОНМедУ вул. Пастера 9, м. Одеса, 65082
10 травня 2024
дата початку впровадження
Загальна кількість спостережень: 15 пацієнтів
Результати застосування за період з 10 травня 2024 р. по 11 травня 2026 р.
позитивні (кількість спостережень) - 15
невизначені (кількість спостережень) - 0
негативні (кількість спостережень) - 0
Ефективність впровадження: рання діагностика антифосфоліпідного синдрому, покращення оцінки якості життя, біохімічних маркерів гемостазу при відповідному лікуванні.
Зауваження: зауважень немає.

"11" травня 2026

Відповідальний за впровадження:

Зав. ревматологічним відділенням
Багатопрофільного медичного центру ОНМедУ Віктор КЛОЧКО

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Генеральний директор
КНП «Міська клінічна лікарня № 10» ОМР
Денис СЕБОВ

«____»_____2026

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва впровадження: Комплексний підхід для діагностики антифосфоліпідного синдрому
Ким запропоновано, адреса: Одеський національний медичний університет, кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб та терапії, вул. Пастера 9, м. Одеса, 65082, Якименко О.О., Клочко В.В., Кравчук О.Е., Чорній О.П.
Джерело інформації:
Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. № 2 (19). С. 97–104.
Де і коли впроваджено: кардіологічне відділення КНП «Міська клінічна лікарня № 10» ОМР м. Одеса, вул. Олексія Вадатурського, 61, 65000.
Дата початку впровадження: 10 травня 2024 р.
Загальна кількість спостережень: 8 пацієнтів
Результати застосування за період з 10 травня 2024 р. по 11 травня 2026 р.:
позитивні (кількість спостережень) – 8
невизначені (кількість спостережень) – 0
негативні (кількість спостережень) – 0
Ефективність впровадження: рання діагностика антифосфоліпідного синдрому, покращення оцінки якості життя, біохімічних маркерів гемостазу при відповідному лікуванні.

Зауваження: зауважень немає.

«11» травня 2026 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кардіологічним відділенням
КНП «Міська клінічна лікарня № 10» ОМР Ірина СИДОРЕНКО

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного
університету МОЗ України

Мілюся ХРИСТОВА

«__» _____ 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Способи патоенетично обгрунтованої корекції дисфукнції ендотелію при антифосфоліпідному синдромі.
2. **Установа, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб, м. Одеса, проф. Валіховський, 2, 65001, Україна, Савицький Володимир Іванович.
3. **Джерело інформації:**
    1. Yakymenko O.O., Savytskyi V.I., Klochko V.V., Savytskyi I V., Mykhailiuk M.M., Gerasymenko T.V., Badiuk N.S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**).
    2. Yakymenko O.O., Savytskyi V.I., Klochko V.V., Savytskyi I.V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4**).
    3. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364
    4. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.
    5. Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. №2(19). С. 97-104. doi: https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2023.13
4. **Де впроваджено:** у навчальний процес кафедри внутрішньої медицини №1 Одеського національного медичного університету МОЗ України.
5. **Результати впровадження:** Використання результатів дослідження у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних механізмів антифосфоліпідного синдрому, а також способів корекції ендотеліальної дисфункції за умов даного патологінчого стану
6. **Термін впровадження:** 2025-2026 р.р.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
професор кафедри внутрішньої медицини №1
Одеського національного медичного університету,
доктор медичних наук, професор Наталія ЗОЛОТАРЬОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного
університету МОЗ України

Мілюся ХРИСТОВА

«____» _____ 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Патофізіологічні механізми антифосмфоліпідного синдрому та пособи патогенетично обгрунтованої корекції дисфункції ендотелію при антифосфоліпідному синдромі.
2. **Установа, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб, м. Одеса, проф. Валіховський, 2, 65001, Україна, Савицький Володимир Іванович.
3. **Джерело інформації:**
    1. Yakymenko O.O., Savytskyi V.I., Klochko V.V., Savytskyi I V., Mykhailiuk M.M., Gerasymenko T.V., Badiuk N.S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**).
    2. Yakymenko O.O., Savytskyi V.I., Klochko V.V., Savytskyi I.V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4**).
    3. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364
    4. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.
    5. Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. №2(19). С. 97-104. doi: https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2023.13
4. **Де впроваджено:** у навчальний процес кафедри фізіології, патологічної фізіології, медичної фізики та інформатики Одеського національного медичного університету МОЗ України.
5. **Результати впровадження:** Використання результатів дослідження у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних механізмів антифосфоліпідного синдрому, а також способів корекції ендотеліальної дисфункції за умов даного патологінчого стану
6. **Термін впровадження:** 2025-2026 р.р.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
професор кафедри фізіології, патологічної фізіології,
медичної фізики та інформатики Одеського національного
медичного університету, Заслужений діяч науки і техніки України
доктор медичних наук, професор Руслан ВАСТЬЯНОВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного
університету МОЗ України
Мілюся ХРИСТОВА
«__» _____ 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Способи патогенетично обгрунтованої корекції дисфункції ендотелію при антифосфоліпідному синдромі.
2. **Установа, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб, м. Одеса, проф. Валіховський, 2, 65001, Україна, Савицький Володимир Іванович.
3. **Джерело інформації:**
    1. Yakymenko O.O., Savytskyi V.I., Klochko V.V., Savytskyi I V., Mykhailiuk M.M., Gerasymenko T.V., Badiuk N.S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**).
    2. Yakymenko O.O., Savytskyi V.I., Klochko V.V., Savytskyi I.V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4**).
    3. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364
    4. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.
    5. Савицький В. І. Ретроспективний аналіз медичних карт пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом. Медична наука України. 2023. №2(19). С. 97-104. doi: https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2023.13
4. **Де впроваджено:** у навчальний процес кафедри медичної біології та хімії Одеського національного медичного університету МОЗ України.
5. **Результати впровадження:** Використання результатів дослідження у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо патогенетичних механізмів антифосфоліпідного синдрому, а також способів корекції ендотеліальної дисфункції за умов даного патологінчого стану
6. **Термін впровадження:** 2025-2026 р.р.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри медичної біології та хімії
Одеського національного медичного університету,
доктор медичних наук, професор Геннадій СТЕПАНОВ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор закладу вищої освіти з
науково-педагогічної роботи Харківського
національного медичного університету
МОЗ України
к.мед.н., доцент О.В. Кривошапка
«____» _____ 20__ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ ____ 20__ р.

1. Назва пропозиції: ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ДИСФУНКЦІЙ ЕНДОТЕЛІЮ ПРИ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ ТА СПОСОБИ ЇХ КОРЕКЦІЇ

2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Одеський національний медичний університет Аспірант: Савицький Володимир Іванович

3. Джерело інформації:

1 . Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Mykhailiuk M. M., Gerasymenko T. V., Badiuk N. S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 **(SCOPUS Q4)**.

2. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 **(SCOPUS Q4)**.

3. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364

4. Савицький В. І. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекції. Вісник морської медицини. 2022. N4 (97). С. 61-67. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7569983

5. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету.

5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять кафедрою.

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань патогенетичних механізмів розвитку антифосфоліпідного синдрому, а також способів його корекції

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна
Харківського національного медичного
університету, д.мед.н., професор М.С. Мирошниченко

ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор закладу вищої освіти з
науково-педагогічної та навчальної роботи
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця МОЗ України
д.мед.н., професор О.М. Власенко
«__» _____ 20__ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: патогенетичні механізми дисфункції ендотелію при антифосфоліпідному синдромі та способи їх корекції

2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Одеський національний медичний університет Аспірант: Савицький Володимир Іванович

3. Джерело інформації:

1 . Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Mykhailiuk M. M., Gerasymenko T. V., Badiuk N. S. Dynamics of markers of endothelial dysfunction in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 1. P. 74-81 (**SCOPUS Q4**).

2. Yakymenko O. O., Savytskyi V. I., Klochko V. V., Savytskyi I. V., Badiuk N. S. Changes in 18 asoconstrictor-vasodilation potential of vessels in experimental antiphospholipid syndrome. PharmacologyOnLine. 2021. Vol. 2. P. 819-826 (**SCOPUS Q4**).

3. Савицький В. І. Роль гіпергомоцистеїнемії в розвитку антифосфоліпідного синдрому та його корекції. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022. N4 (70). С. 88-92. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495364

4. Савицький В. І. Роль гострофазових маркерів запалення в імунопатогенезі антифосфоліпідного синдрому та за умов його корекці. Вісник морської медицини. 2022. N4 (97). С. 61-67. doi: http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7569983

5. Savytskyi V. I. Study of immunological activity and hemostasiological features in rats with experimental antiphospholipid syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2022. Vol. 12 (2). P. 370-376. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.02.038.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять кафедрою.

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань патогенетичних механізмів розвитку антифосфоліпідного синдрому, а також способів його корекції

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патофізіології
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця, д.мед.н., професор С.В. Зябліцев