

**В.М. Коваленко<sup>1</sup>**  
**І.В. Лисенко<sup>1</sup>**  
**Л.М. Панченко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска», Київ

<sup>2</sup>Інститут травматології та ортопедії, Київ

**Ключові слова:** остеоартроз, культура клітин, стовбурові стромальні клітини кісткового мозку, колонієутворюючі одиниці фібробластів.

# ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ХОНДРОЇТИНУ СУЛЬФАТУ, ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЇ НА КУЛЬТУРУ СТОВБУРОВИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ ЛЮДИНИ

**Резюме.** Досліджено вплив фармакологічних речовин хондроїтину сульфату, глюкозаміну гідрохлориду та їх комбінації на культуру стовбурових стромальних клітин кісткового мозку людини. Отримані результати свідчать про те, що комбінація фармакологічних сполук хондроїтину сульфату + глюкозаміну гідрохлориду сприяє активації процесів синтезу колагену на клітинному рівні та ефективно впливає на процеси проліферації та диференціювання остеогенних клітин попередників, що дозволяє визначити її застосування при остеоартрозі ефективнішим порівняно з хондроїтину сульфатом або глюкозаміну гідрохлоридом.

## ВСТУП

Остеоартроз (ОА) — захворювання синовіальних суглобів, яке на сьогодні є головною причиною обмеження функціональних можливостей пацієнтів і другою за частотою після серцево-судинних захворювань причиною втрати працездатності (Коваленко В.М., Борткевич О.П., 2003).

За даними ВООЗ існуюча тенденція до постаріння населення в наступні десятиріччя призведе до значного підвищення захворюваності на ОА. В Україні захворюваність на ОА (в 2005 р. становила 421, 1 на 100 тис. населення) майже вдвічі відрізняється від світових даних (так, в США — 840 на 100 тис.), що перш за все свідчить про зневажання лікарями проблеми ОА, особливо на його ранніх стадіях, коли хворі ще мають перспективу гальмування прогресування хвороби. Тому раціональне застосування фармакологічних протиартрозних препаратів з метою усунення симптомів захворювання і впливу на патогенетичні механізми ОА залишається однією з найактуальніших проблем сучасної ревматології.

Значне збагачення в останні роки фармацевтичного ринку України препаратами, які застосовують у лікуванні при ОА, сприяло необхідності розробки схем їх раціонального використання з урахуванням позитивних властивостей «класичних» фармакологічних агентів, які використовують у лікуванні при ОА вже протягом десятків років.

В основі цього мультифакторного захворювання — порушення рівноваги між анаболічними та катаболічними процесами не лише в гіаліновому хрящі, але і в синовіальній оболонці, субхондральній кістці та суглобовій капсулі. Все це призведе до розвитку в тій чи іншій мірі рецидивного синовіту та дегенерації хряща зі зменшенням його об'єму.

Прогресування ОА супроводжується перевагою катаболізму над анаболізмом агрекану та інших компонентів хрящового матриксу. Процеси регенерації забезпечуються спеціальними типами клітин, які називаються стовбуровими. Серед них провідна роль належить стовбуровій кровотвірній клітині, відповідальній за гемопоез та імуногенез, а також стовбуровій стромальній клітині, що забезпечує остеогенез, хондрогенез і фіброгенез. У кістковому мозку ці дві лінії перебувають у тісній морфофункціональній взаємодії. Нормальний гемопоез та імуногенез можуть здійснюватися тільки на повноцінному стромальному плацдармі, що будується колонієутворюючими одиницями фібробластів (КУО<sub>ф</sub>) кісткового мозку, які належать до остеогенних клітин-попередників (Чертков І.Л., Фриденштейн А.Я., 1977; Mundy G.R., 1995; Астахова В.С., 2000). З іншого боку, проліферація та диференціювання імунокomпетентних та соматичних клітин контролюється Т-системою імунітету.

У культурі КУО<sub>ф</sub> кісткового мозку людини за 14 днів проходить повний курс диференціювання, починаючи від стовбурових клітин і закінчуючи остеобластами. *In vitro* виростають гетерогенні колонії, утворені КУО<sub>ф</sub> з низьким і високим структуроутворювальним потенціалом, причому останні — багаточисельні з відкладанням солей кальцію в центрі.

Встановлено, що ефективність клонування КУО<sub>ф</sub>, вміст остеогенних клітин попередників кісткового мозку і ядромістких клітин в 1 см<sup>3</sup> спонгіози визначають регенераторний потенціал.

Мета роботи — дослідження ефективності впливу фармакологічних речовин — хондроїтину сульфату, глюкозаміну гідрохлориду та їх комбінації

на культуру стовбурових стромальних клітин кісткового мозку людини.

**ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Дослідження проводили в умовах *in vitro*. Всього у дослідженні взяли участь 35 пацієнтів віком від 43 до 60 років.

У основну групу включено 17 пацієнтів з ОА. За контроль брали показники остеогенної активності спонгіози поза ділянками запалення та дегенеративно-дистрофічного ураження 18 пацієнтів тієї самої вікової групи з гострою травмою — внутрішньосуглобними переломами епіметафізу великогомілкової кістки.

Використовували метод клонування стовбурових стромальних клітин кісткового мозку за А.Я. Фриденштейном (Фриденштейн А.Я., Лалькіна К.С., 1973) в модифікації В.С. Астахової (2000). Всього вирощено 87 культур стромальних фібробластів із епіметафізу великогомілкової кістки, контрольну групу становили 36 культур стромальних фібробластів.

Для дослідження спонгіозну кістку брали у стерильну мірну пробірку із середовищем 199. Об'єм спонгіозної кістки вимірювали за об'ємом витиснутої рідини. Клітини кісткового мозку із спонгіозної кістки вимивали у середовищі 199 на магнітній мішалці протягом 30 хв. Клонування КУО<sub>φ</sub> проводили із застосуванням фідера кролика в чашках Петрі, використовуючи середовище 199 із 20% сироватки крові людини. Культивування проводили протягом 14 діб без зміни живильного середовища. Культури, які вирости, фіксували 96° етанолом, фарбували за Романовським — Гімзе. За колонію приймали скупчення клітин, яке містило не менше 50 фібробластів. Ефективність клонування фібробластів (ЕКУ<sub>φ</sub>) розраховували за формулою:

$$EKU_{\phi} = \frac{\text{кількість колоній, що вирости} \cdot 10^5}{\text{кількість посаджених клітин}}$$

Кількість КУО<sub>φ</sub> в одиниці об'єму прямо пропорційна кількості колоній, що вирости у чашці Петрі (K) і числу вимитих клітин (N) та обернено пропорційна об'єму досліджуваної спонгіозної кістки (V) і числу посаджених клітин у чашку Петрі (n), враховуючи, що саджають зазвичай не всі вимиті клітини, а лише їх частину.

Таким чином, ця формула має вигляд:  
кількість КУО<sub>φ</sub> в 1 см<sup>3</sup> = K • N / V • n.

Метод клонування дає нам також можливість дослідження біологічних маркерів (БМ) виникнення та прогресування ОА як у клітинах колоній, знятих шляхом заморожування/танення, так і у супернатанті, враховуючи, що культивування

відбувається без зміни живильного середовища протягом 14 діб і включає повний курс клітинного диференціювання. Біохімічними методами в супернатанті визначали лужну фосфатазу (КФ.3.1.3.1) (Комаров Ф.И. и соавт., 2001), а в культурі клітин методом амінокислотного аналізу на автоматичному аналізаторі ААА-339 амінокислотний склад білка (Козаренко Т.Д., 1975).

Досліджувані фармакологічні речовини — хондроїтину сульфат, глюкозаміну гідрохлорид та їх комбінацію вводили у культуральне середовище. Культури клітин вивчали через 14 діб культивування. Виділяли такі групи:

1-ша (12 культур стромальних фібробластів) — хворі на ОА;

2-га (11 культур стромальних фібробластів) — хворі на ОА, досліджувана речовина — хондроїтину сульфат (в дозі 4 мг на 25 мл культурального середовища);

3-тя група (14 культур стромальних фібробластів) — хворі на ОА, досліджувана речовина — глюкозаміну гідрохлорид (в дозі 5 мг на 25 мл культурального середовища);

4-та група (14 культур стромальних фібробластів) — хворі на ОА, досліджувана комбінація фармакологічних речовин — хондроїтину сульфат (в дозі 4 мг на 25 мл культурального середовища) + глюкозаміну гідрохлорид (в дозі 5 мг на 25 мл культурального середовища).

Дози розраховували відповідно до добових терапевтичних доз (Коваленко В.М., Шуба Н.М., 2004).

Обробку даних виконували за допомогою пакету програм Statistica. Середні величини наведено у вигляді M±m, де M — середнє значення показника, m — стандартна похибка середнього. При зіставленні середніх значень використовували критерій Стьюдента. Результати вважали статистично достовірними при значеннях p<0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Показники остеогенної активності в проксимальному епіметафізі великогомілкової кістки в контрольній та основних (1–4-й групах) наведено в табл. 1.

Враховуючи, що при ОА дегенеративно-дистрофічні процеси поширюються на суглобовий хрящ та субхондральну кістку, нами було досліджено: кількість ядромісних клітин в 1 см<sup>3</sup> спонгіози × 10<sup>7</sup>, вміст КУО<sub>φ</sub> в 1 см<sup>3</sup> спонгіози × 10<sup>4</sup>, а також ефективність клонування серед 10<sup>5</sup> ядерних клітин.

Як свідчать отримані нами дані, клоногенна активність строми кісткового мозку епіметафізу вели-

Таблиця 1

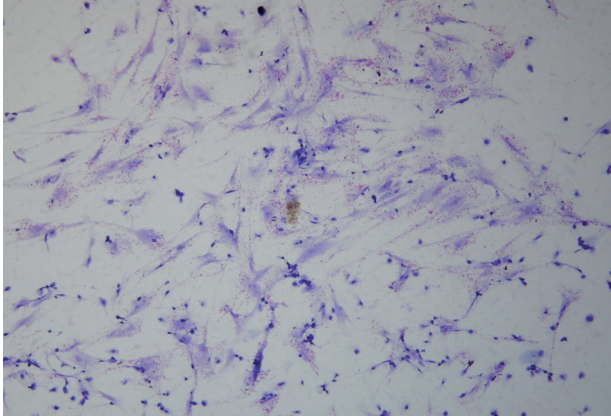
Показники остеогенної активності кісткового мозку проксимального епіметафізу великогомілкової кістки (M±m)

Показник	Група				
	контрольна	1-ша	2-га	3-тя	4-та
Кількість ядромісних клітин в 1 см <sup>3</sup> в спонгіози × 10 <sup>7</sup>	0,120**±0,030	0,033*±0,001	0,033*±0,001	0,033*±0,001	0,33*±0,001
Кількість КУО <sub>φ</sub> в 1 см <sup>3</sup> спонгіози × 10 <sup>4</sup>	0,054**±0,0028	0*	0,00008***±0,000009	0,0001***±0,00003	0,0002***±0,00007
Ефективність клонування КУО <sub>φ</sub> серед 10 <sup>5</sup> ядерних клітин	1,00**±0,30	0*	0,26***±0,07	0,33***±0,06	0,52***±0,08

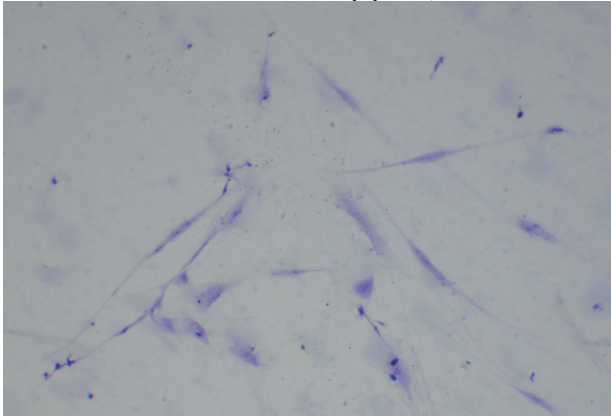
\*p<0,05 — показники у осіб 3-ї групи порівняно з 4-ю. У табл. 1 і 2: \*p<0,05 порівняно з контролем; \*\*p<0,05 порівняно з 1-ю групою; †p<0,05 — показники у осіб 2-ї групи порівняно з 4-ю.

когомілкової кістки хворих з ОА (1-ша група) значно відрізняється від контрольних величин. Так, кількість ядровмісних клітин в 1 см<sup>3</sup> спонгіози ×10<sup>7</sup> при ОА була в 3,6 раза меншою, ніж у контролі.

Необхідно відзначити, що культури стромальних фібробластів кісткового мозку контрольної групи були представлені різними за величиною одношаровими та багатшаровими колоніями, причому останніх нараховувалось від 10 до 20% (рис. 1). В чашках Петрі хворих з ОА на фоні поодиноких фібробластів, що не утворювали колонії, виявляли їх скупчення до 30–40 клітин у вигляді кластерів. Ефективність клонування при цьому відповідно дорівнювала нулю (рис. 2). Вміст оксипроліну та лужної фосфатази в супернатанті 1-ї групи був відповідно в 1,63 та в 1,94 раза меншим контрольних значень (табл. 2).



**Рис. 1.** Культура стовбурових стромальних клітин із епіметафізу великогомілкової кістки в контролі. Фарбування за Романовським – Гімзе. Збільшення: об'єктив 4× довжина тубуса 10,5 см



**Рис. 2.** Культура стовбурових стромальних клітин із епіметафізу великогомілкової кістки при ОА (1-ша група). Фарбування за Романовським – Гімзе. Збільшення: об'єктив 4× довжина тубуса 10,5 см

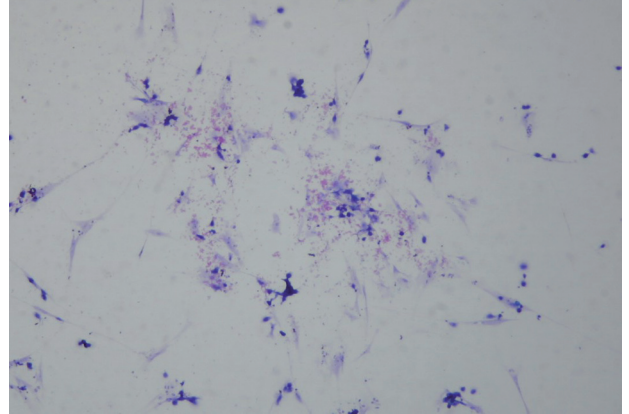
**Таблиця 2**

**Біохімічні показники впливу фармакологічних сполук на культуру стовбурових стромальних клітин кісткового мозку (M±m)**

Показник	Група				
	конт-рольна	1-ша	2-га	3-тя	4-та
Оксипролін (%)	3,09**±0,33	1,90*±0,17	1,97*±0,19	2,37***±0,16	2,71***±0,21
Лужна фосфатаза (мкмоль/год·л)	0,37**±0,06	0,19*±0,02	0,23*±0,05	0,21*±0,02	0,26***±0,02

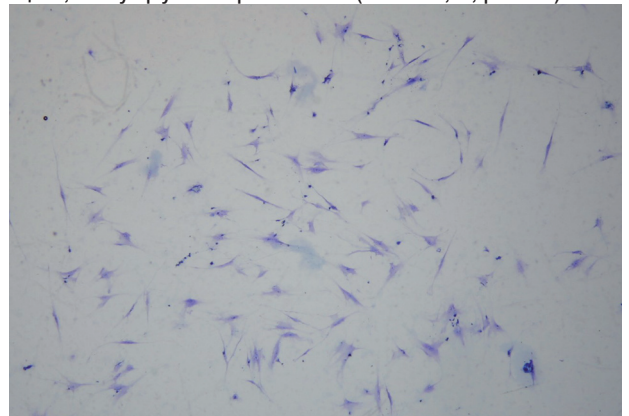
В культурах фібробластів, клонуваних у присутності хондроїтину сульфату (2-га група), виявляли 1–2 одношарові колонії на чашку Петрі. Кількість КУО<sub>ф</sub>

в 1 см<sup>3</sup> спонгіози ×10<sup>4</sup> та ефективність клонування КУО<sub>ф</sub> серед 10<sup>5</sup> ядерних клітин були статистично достовірно меншими, ніж у контролі, але більшими, ніж у групі хворих з ОА. Вміст оксипроліну та лужної фосфатази в супернатанті у 2-й групі був відповідно в 1,57 та 1,61 разу нижчим контрольних значень (p<0,05), а також статистично достовірно не відрізнявся від показників групи хворих на ОА (рис. 3, див. табл. 1, 2).



**Рис. 3.** Культура стовбурових стромальних клітин із епіметафізу великогомілкової кістки при ОА, досліджувана речовина – хондроїтину сульфат (2-га група). Фарбування за Романовським – Гімзе. Збільшення: об'єктив 4× довжина тубуса 15 см

Через 14 днів культивування з глюкозаміну гідрохлоридом (3-тя група) в чашках Петрі на фоні фібробластів, що утворювали кластери, виявляли 2–3 одношарові колонії. Кількість КУО<sub>ф</sub> в 1 см<sup>3</sup> спонгіози ×10<sup>4</sup> та ефективність клонування КУО<sub>ф</sub> серед 10<sup>5</sup> ядерних клітин були статистично достовірно меншими, ніж у контролі, але більшими, ніж у групі хворих з ОА. Вміст оксипроліну та лужної фосфатази в супернатанті був відповідно в 1,3 та 1,8 раза нижчим показників контрольної групи (p<0,05). Поряд з цим, вміст лужної фосфатази в супернатанті у 3-й групі статистично достовірно не відрізнявся від показників групи хворих на ОА, а от вміст оксипроліну зростав і був в 1,25 раза вищим, ніж у групі хворих на ОА (табл. 1, 2, рис. 4).

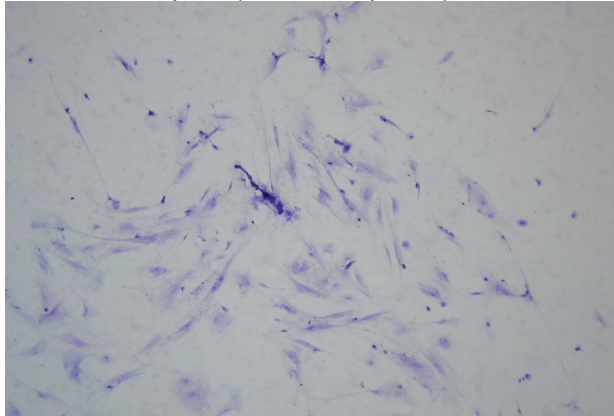


**Рис. 4.** Культура стовбурових стромальних клітин із епіметафізу великогомілкової кістки при ОА, досліджувана речовина – глюкозаміну гідрохлорид (3-тя група). Фарбування за Романовським – Гімзе. Збільшення: об'єктив 4× довжина тубуса 10,5 см

Через 14 днів культивування з комбінацією фармакологічних речовин хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид (4-та група) кількість КУО<sub>ф</sub> в 1 см<sup>3</sup> спонгіози ×10<sup>4</sup> та ефективність клонування КУО<sub>ф</sub> серед 10<sup>5</sup> ядерних клітин були меншими, ніж

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

у контролі ( $p < 0,05$ ), але більшими, ніж у групі хворих на ОА ( $p < 0,05$ ). Вміст оксипроліну в супернатанті статистично достовірно не відрізнявся від контрольної групи, а лужної фосфатази був у 1,42 нижчим контрольних значень. Водночас порівняно з групою хворих на ОА ( $p < 0,05$ ) вміст як оксипроліну, так і лужної фосфатази був вищим відповідно в 1,43 та 1,37 раза (табл. 1, 2, рис. 5).



**Рис. 5.** Культура стовбурових стромальних клітин із епіметафізу великогомілкової кістки при ОА, досліджувана комбінація речовин – хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид (4-та група). Фарбування за Романовським – Гімзе. Збільшення: об'єктив 4× довжина тубуса 10,5 см

Оцінюючи результати впливу окремо хондроїтину сульфату та комбінації фармакологічних сполук хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид (2-га і 4-та групи) на ріст та диференціювання колонієутворювальних одиниць фібробластів кісткового мозку, звертає на себе увагу статистично достовірна різниця як у кількості колоній, що виростили, так і у вмісті  $KUO_{\Phi}$  в одиниці об'єму. При цьому вміст оксипроліну підвищувався в 1,38 раза ( $p < 0,05$ ).

Порівнюючи результати впливу окремо глюкозаміну гідрохлориду та комбінації фармакологічних сполук хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид (3-тя і 4-та групи) на ріст та диференціювання колонієутворювальних одиниць фібробластів кісткового мозку, привертає увагу статистично достовірна різниця у вмісті  $KUO_{\Phi}$  в одиниці об'єму. При цьому відзначали тенденцію до подальшого росту вмісту оксипроліну та лужної фосфатази.

Таким чином, отримані результати свідчать, що комбінація фармакологічних сполук хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид більше активує процеси синтезу колагену на клітинному рівні та впливає на процеси проліферації та диференціювання остеогенних клітин-попередників, що дозволяє визначати її застосування при ОА ефективнішим порівняно з хондроїтину сульфатом або глюкозаміну гідрохлоридом.

### ВИСНОВКИ

1. Культура стовбурових стромальних клітин кісткового мозку людини дає можливість визначати ефективність впливу фармакологічних сполук на процеси репарації субхондральної кістки та

хряща з метою розроблення ефективних схем лікування при ОА.

2. Комбінація фармакологічних сполук хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид сприяє активації процесів синтезу колагену на клітинному рівні.

3. Застосування комбінації сполук хондроїтину сульфат + глюкозаміну гідрохлорид ефективніша за впливом на процеси проліферації та диференціювання остеогенних клітин-попередників кісткового мозку.

### ЛІТЕРАТУРА

- Астахова В.С.** (2000) Остеогенные клетки-предшественники костного мозга человека. Феникс, Киев, 176 с.
- Коваленко В.Н., Борткевич О.П.** (2003) Остеоартроз. Практ. руководство. МОРИОН, Киев, 448 с.
- Коваленко В.М., Шуба Н.М.** (2004) Номенклатура, класифікація, критерії діагностики та програми лікування ревматичних хвороб. Київ, 156 с.
- Козаренко Т.Д.** (1975) Ионообменная хроматография аминокислот. Наука, Новосибирск, 123 с.
- Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В.** (2001) Биохимические исследования в клинике. Элиста, Москва, 216 с.
- Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я.** (1977) Клеточные основы кроветворения. Медицина, Москва, 290 с.
- Фриденштейн А.Я., Лалыкина К.С.** (1973) Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники. Медицина, Москва, 214 с.
- Mundy G.R.** (1995) Local control of bone formation by osteoblasts. Clin. Orthop. Relat. Res., Vol. 313: 19–26.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТА, ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА И ИХ КОМБИНАЦИИ НА КУЛЬТУРУ СТВОЛОВЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

**В.Н. Коваленко, И.В. Лысенко, Л.М. Панченко**

**Резюме.** Исследовано влияние фармакологических соединений хондроитина сульфата, глюкозамин гидрохлорида и их комбинации на культуру стволовых стромальных клеток костного мозга человека. Полученные результаты свидетельствуют, что комбинация фармакологических соединений хондроитина сульфат + глюкозамин гидрохлорид активизирует процессы синтеза коллагена на клеточном уровне и эффективно влияет на процессы пролиферации и дифференцировки остеогенных клеток предшественников, что позволяет определять ее применение при остеоартрозе более эффективным по сравнению с хондроитина сульфатом или глюкозамин гидрохлоридом.

**Ключевые слова:** остеоартроз, культура клеток, стволовые стромальные клетки костного мозга, колониеобразующие единицы фибробластов.

## THE INVESTIGATION OF HONDROITINE SULPHATE AND GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE AND THEIR COMBINATIONS INFLUENCE ON THE CULTURE OF BONE MARROW STROMAL CELLS

V.M. Kovalenko, I.V. Lysenko, L.M. Panchenko

**Summary.** *There was studied influence of pharmacological agents — hondroitine sulphate, glucosamine hydrochloride and their combinations on the culture of bone marrow stromal cells. The obtained results indicate that pharmacological combination hondroitine sulphate + glucosamine hydrochloride activates the process of collagen synthesis*

*at cellular level and effectively influences proliferation and differentiation processes in precursors' osteogenetic cells. It allows to determine that its application is more effective in osteoarthritis as compared to hondroitine sulphate or glucosamine hydrochloride alone.*

**Key words:** osteoarthritis, cell culture, bone marrow stromal cells, colony-making fibroblast units.

### Адреса для листування:

Коваленко Володимир Миколайович  
03680, Київ, МСП, вул. Народного ополчення, 5  
Національний науковий центр  
«Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска»

## РЕФЕРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

### Переносимість, ефективність ритуксимаба (RTX) и изменения в уровне сыворотки крови биомаркеров В лимфоцитов у пациентов с системными осложнениями первичного синдрома Шегрена (пШС)

Seror R., Sordet C., Guillevin L., Hachulla E., Masson C., Ittah M., Candon S., Le Guern V., Aouba A., Sibilia J., Gottenberg J.-E., Mariette X. (2007) *Tolerance and efficacy of rituximab and changes in serum B cell biomarkers in patients with systemic complications of primary Sjogren's syndrome.* *Ann. Rheum. Dis.*, 66: 351–357.

Ретроспективно оцінювали інформацію о 16 пацієнтах (середній вік — 58,5 (від 41 до 71) років, продовжителю захворювання в середньому — 9,5 років (0–25 років) з пШС з установленним діагнозом згідно критеріям Американсько-Європейської групи. RTX призначали при лимфомі (n=5), рефрактерній захворюванні легких з полісиновитом (n=2), важким полісиновитом (n=2), змішаній криоглобулінемії (n=5), тромбоцитопенії (n=1), множинному мононевриті (n=1). Продовжителю спостереження в середньому — 14,5 (2–48) міс.

У 3 пацієнтів відзначали побічні реакції, включаючи 1 помірною сировоточною реакцією з наявністю людських антихимерних антител. Ефективність лікування виявили у 4 пацієнтів із 5 з лимфомами, у 9 із 11 — з системними ураженнями. Сухість слизової оболонки зменшалася у меншого числа пацієнтів. 11 пацієнтам знизили дозу кортикостероїдів. Застосування RTX обумовлювало зниження рівня ревматоїдного фактора,  $\gamma$ -глобулінів,  $\beta$ 2-мікроглобулінів, а рівень активуючого фактора В-лімфоцитів, належного до родини фактора некрозу пухли, зростає відповідно до зниження В-лімфоцитів. Повторно пройшли лікування 5 пацієнтів з хорошою ефективністю і переносимістю, крім 1 із них, у якого розвинулася сировоточна реакція. Результати дослідження свідчать про хорошу ефективність і переносимість RTX при системних проявах, RTX дозволя-

єт суттєво знизити дозу кортикостероїдів. Крім підвищення рівня активуючого В-лімфоцитів фактора, рівні біомаркерів В-клітин в сировотці крові зменшуються після прийому RTX. Для підтвердження ефективності RTX при пШС необхідно проведення контролюємих клінічних досліджень.

### Експресія остеонектину та матричного Gla протеїну у пацієнтів із системною склеродермією (ССД) з (лсССДКал) та без кальцинозу (лсССД)

Davies C.A., Jeziorska M., Freemont A.J., Herrick A.L. (2006)

*Expression of osteonectin and matrix Gla protein in scleroderma patients with and without calcinosis.* *Rheumatology*, 45(11): 1349–1355.

Шкірну біопсію брали з передпліччя 38 пацієнтів із ССД з обмеженим шкірним субтипом ССД (17 лсССД та 21 лсССДКал) та 11 здорових донорів. Імуногістохімію виконували для визначення антитіл до остеонектину та матричного гамма-карбоксиглутамінової кислоти (МГСК). Забарвлення оцінювали за напівкількісною методикою у мікросудинному ендотелії та у дермальних фібробластах. В обох групах пацієнтів із лсССД та лсССДКал виявлено статистично достовірне підвищення частоти мікросудин з остеонектинпозитивними ендотеліальними клітинами (ЕК) (особливо в групі лсССДКал), а в групі лсССДКал — зростання частоти мікросудин з МГСК-позитивним порівняно з контролем. В обох групах ССД відсоток остеонектин- та МГСК-фібробластів був вищим у ретикулярній дермі (для остеонектину — у групі лсССДКал). У сосочковому шарі дерми частота остеонектин чутливих фібробластів зростала в обох групах ССД, у лсССДКал — вищий відсоток МГСК-чутливих фібробластів. Порівняно з контролем експресія білків остеонектину та МГСК була вищою у пацієнтів із ССД взагалі, а експресія остеонектину була достовірно вищою у ЕК та фібробластах пацієнтів у групі лсССДКал, аніж у групі лсССД без кальцинозу.