

РОЛЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ НАРУШЕНИЯХ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ

Проф. А. Н. Хвисюк, канд. биол. наук С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко, Н. Г. Семко, С. В. Кочкина

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Изучена роль маркеров воспаления (на примере рецепторного антагониста интерлейкина-1 и галектина-3) в регуляции процессов костного ремоделирования при различных экспериментальных моделях его нарушений. Обнаружено снижение плотности кости в экспериментальных группах животных по сравнению с контрольной группой. В сыворотке крови экспериментальных животных наблюдался дисбаланс уровней про- и противовоспалительных цитокинов, который обусловлен совокупным эффектом действия провоспалительных цитокинов и глюкокортикоидов. Изученные маркеры воспаления и выявленная между ними связь свидетельствуют о важной роли этих маркеров как в развитии воспаления, так и в процессах нарушения костного ремоделирования.

Ключевые слова: воспаление, ремоделирование костной ткани, рецепторный антагонист интерлейкина-1, галектин-3, глюкокортикоиды, цитокины.

РОЛЬ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ В РАЗІ ПОРУШЕНЬ КІСТКОВОГО РЕМОДЕЛЮВАННЯ

Проф. О. М. Хвисюк, канд. біол. наук С. Б. Павлов, Н. М. Бабенко, М. В. Кумечко, Н. Г. Семко, С. В. Кочкина

Вивчено роль маркерів запалення (на прикладі рецепторного антагоніста інтерлейкіну-1 і галектину-3) у регуляції процесів кісткового ремоделювання в разі різноманітних експериментальних моделей його порушень. Виявлено зниження щільності кістки в експериментальних групах тварин порівняно з контрольною групою. У сироватці крові експериментальних тварин спостерігався дисбаланс рівнів про- і протизапальних цитокінів, що зумовлене сукупним ефектом дії прозапальних цитокінів та глюкокортикоїдів. Вивчені маркери запалення та виявлений між ними зв'язок свідчать про важливу роль цих маркерів як у розвитку запалення, так і в процесах порушення кісткового ремоделювання.

Ключові слова: запалення, ремоделювання кісткової тканини, рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1, галектин-3, глюкокортикоїди, цитокіни.

THE ROLE OF INFLAMMATORY MARKERS IN DISORDERS OF BONE REMODELLING

O. M. Khvisyuk, S. B. Pavlov, N. M. Babenko, M. V. Kumetchko, N. G. Semko, S. V. Kochkina

The role of receptor antagonist interleukin and galectin-3 in the regulation of bone remodeling processes in the experiment was studied. In the experimental groups of animals had a decrease in bone density compared with the control group. In the blood serum of experimental animals was observed an imbalance of the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines, which is a consequence of the simultaneous action of pro-inflammatory cytokines and glucocorticoids. The levels of inflammation markers and correlation between them indicate the important role of these markers in the development of inflammation and in disorders of bone remodeling.

Keywords: inflammation, bone tissue remodeling, interleukin-1 receptor antagonist, galectin-3, glucocorticoids, cytokines.

Ремоделирование костной ткани представляет собой сопряженные во времени процессы резорбции и формирования кости. Сложная система регулирования процессов ремоделирования кости включает в себя множество факторов и их взаимодействий [14]. Дефекты костного ремоделирования, лежащие в основе различных патологических состояний, могут быть вызваны нарушением дифференцировки и функций остеокластов или остеобластов. Одними из основных факторов риска развития остеопороза является

наличие и продолжительность хронических воспалительных заболеваний, в том числе хронической болезни почек (ХБП). В настоящее время известно большое количество цитокинов, хемокинов, гормонов и факторов роста, которые влияют на функции костной ткани. Провоспалительные цитокины могут вызывать потерю костной массы путем стимуляции образования остеокластов и ингибирования активности остеобластов. Соотношение между про- и противовоспалительными цитокинами определяет воспалительный ответ и опосредует

прогрессирование ХБП и потерю костной массы во время воспаления [5, 13].

Наиболее распространенным лекарственным средством для лечения различных воспалительных заболеваний являются глюкокортикоиды (ГК), которые обладают мощным противовоспалительным действием [12]. ГК подавляют созревание и активность остеобластов и способствуют их апоптозу. Имеются данные о том, что ГК влияют на мультипотентные стволовые клетки костного мозга, изменяя их дифференцировку с образования остеобластов на другой путь, ведущий к образованию адипоцитов [6]. ГК несколькими путями — через почки, кишечник, парашитовидные железы и прямо действуя на кость, способствуют развитию и прогрессированию остеопороза.

Цель работы — изучение роли маркеров воспаления (на примере галектина-3 и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (ИЛ-1РА)) при нарушениях ремоделирования костной ткани.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проводилось в 3 группах белых крыс самок в возрасте 9 мес. массой 250 ± 30 г в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и Общими принципами экспериментов на животных, одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Первая группа — контрольная, была сформирована из интактных животных — 10 крыс. Вторая группа — группа животных с нарушением ремоделирования костной ткани под воздействием глюкокортикоидов (экспериментальная группа (ГК)) — 18 крыс. Создание модели экспериментального нарушения ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами проводили путем введения дексаметазона фосфата в дозе 6 мг/кг веса внутримышечно дважды в неделю в течение месяца [7].

Третья группа состояла из крыс с нарушением ремоделирования костной ткани при хронической болезни почек с последующим воздействием глюкокортикоидов (экспериментальная группа (ХБП + ГК)) — 18 крыс.

Модель экспериментального нарушения ремоделирования костной ткани при ХБП, развившейся с течением времени после однократного воздействия, которое вызвало острую почечную недостаточность, осуществляли путем однократного введения 50 % раствора глицерина в дозе 10 мл/кг массы тела животного [1]. Через 6 недель после этого животным в течение месяца проводили инъекции дексаметазона фосфата в дозе 6 мг/кг внутримышечно дважды в неделю [7].

Нарушение ремоделирования костной ткани контролировали с помощью прямого измерения плотности кости, которую рассчитывали как отношение массы кости (граммы) к ее объему (сантиметры кубические) [2].

Исследования проводили в сыворотке крови животных методом иммуноферментного анализа. Уровень галектина-3 определяли с помощью набора eBioscience (Австрия). Уровень ИЛ-1РА определяли с помощью набора Вектор-Бест (Россия).

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета анализа Statistica 6.0. Различия между сравниваемыми показателями считали достоверными, если значение вероятности было большим или равно 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измеренная минеральная плотность костной ткани (МПКТ) животных группы с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами была достоверно снижена по сравнению с МПКТ животных контрольной группы ($1,37 \pm 0,041$ и $1,62 \pm 0,059$ г/см³, соответственно ($p < 0,05$)), что объясняется влиянием ГК на физиологическое ремоделирование кости, которое приводит к ускорению резорбции и уменьшению образования костной ткани.

Снижение МПКТ было обнаружено и у животных группы с нарушением ремоделирования костной ткани при хронической болезни почек с последующим воздействием глюкокортикоидов ($1,53 \pm 0,026$ г/см³), однако эта разница не была достоверной. Плотность кости у животных группы ХБП + ГК была

выше, чем у крыс из группы ГК. Вероятно, это связано с тем, что негативное влияние ГК на метаболизм костной ткани частично компенсируется их выраженным противовоспалительным действием, которое приводит к угнетению продукции медиаторов воспаления, что, в свою очередь, способствует уменьшению потерь и приросту костной ткани.

Уровни содержания ИЛ-1РА в сыворотке крови животных групп ГК и ХБП + ГК были выше, чем у интактных животных (табл. 1).

ИЛ-1РА является противовоспалительным цитокином, который ингибирует продукцию и действие провоспалительных медиаторов, что имеет решающее значение для концепции баланса между про- и противовоспалительными цитокинами. ИЛ-1РА связывается с рецепторами ИЛ-1 и ингибирует его активность, что играет важную роль как в развитии воспаления, так и в ремоделировании костной ткани. ИЛ-1 участвует в качестве медиатора дисфункции тканей при хронических воспалительных заболеваниях, индуцирует образование остеокластов и активность резорбции кости [3, 9].

Содержание противовоспалительного ИЛ-1РА в сыворотке крови экспериментальных животных групп ГК и ХБП + ГК увеличивалось на 15 и 38 %, соответственно. Такое увеличение, вероятно, связано с противовоспалительным действием ГК, которые ингибируют продукцию провоспалительных цитокинов. Более высокое содержание ИЛ-1РА у животных группы ХБП + ГК является компенсаторной реакцией на повышение провоспалительного ИЛ-1 в фазе воспаления при ХБП, что по принципу отрицательной обратной связи приводит к повышенному синтезу ряда противовоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-1РА.

Уровень галектина-3 в сыворотке крови животных групп ГК и ХБП + ГК снижался по сравнению с контрольными животными на 3 и 49 %, соответственно. Галектин-3 представляет собой плеiotропный лектин, который играет важную роль в клеточной пролиферации, адгезии, дифференцировке, ангиогенезе и апоптозе. Ему принадлежит ключевая роль в фиброгенезе печени, почек, легких и миокарда [11]. Этот белок экспрессируется в различных воспалительных клетках, включая моноциты, макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы [4]. Галектин-3 является мощным провоспалительным медиатором, оказывая цитокиноподобные регулятивные действия на экспрессию связанных с воспалением генов через активацию каскада JAK-STAT [10].

Галектин-3, экспрессируемый на поверхности остеокластов, участвует в регуляционном процессе воспалительной резорбции кости, однако данные о влиянии белка на остеокластогенез неоднозначны. Ранее сообщалось, что галектин-3 является эффективным ингибитором остеокластогенеза, а повышение экспрессии галектина-3 может действовать как отрицательный регулятор для активированного остеокластогенеза, сопровождающего воспаление, для предотвращения избыточного разрушения кости [4]. В то же время имеются данные, что подавление галектина-3 ингибирует дифференцировку остеокластов и уменьшает число зрелых остеокластов [8].

В нашем исследовании в экспериментальных группах происходит компенсаторное снижение галектина-3 в ответ на усиленную экспрессию противовоспалительных медиаторов, таких как ИЛ-1РА, что также подтверждается обнаруженной корреляцией между

Таблица 1

Маркеры воспаления у крыс

Маркеры воспаления	Группы		
	1 (К)	2 (ГК)	3 (ХБП+ГК)
ИЛ-1РА, пг/мл	2,529 ± 0,395	2,902 ± 0,515	3,498 ± 0,508*
Галектин-3, нг/мл	1,151 ± 0,072	1,117 ± 0,069**	0,592 ± 0,037*

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** — $p < 0,05$ по сравнению с группой ХБП + ГК.

уровнями галектина-3 и ИЛ-1 РА в группе животных ГК (рис. 1).

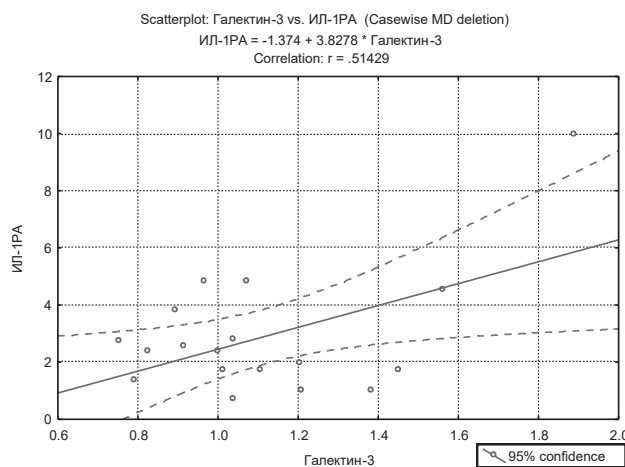


Рис. 1. Корреляция между уровнями ИЛ-1РА и галектина-3 в сыворотке крови животных группы с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами

Так как галектин-3 играет важную роль в различных биологических событиях, включая рост клеток, апоптоз и клеточную адгезию, то уменьшение экспрессии этого лектина в группе ХБП + ГК, вероятно, связано с апоптозом клеток при ХБП, усиленным действием ГК. В этой же группе наблюдается меньшая потеря костной массы по сравнению с животными группы ГК, что соответствует более высоким уровням противовоспалительных цитокинов и более низким уровням провоспалительных медиаторов в группе ХБП + ГК.

Увеличение экспрессии провоспалительных цитокинов стимулирует дифференцировку и активацию остеокластов, что приводит к потере костной массы.

Дальнейшие исследования должны определить степень участия галектина-3 и ИЛ-1РА в регуляции процессов ремоделирования костной ткани с учетом их роли в воспалении.

ВЫВОДЫ

В группе животных, подвергшихся воздействию ГК, нарушения ремоделирования костной ткани были более значительные, чем в группе животных с ХБП с последующим воздействием ГК.

При нарушении ремоделирования костной ткани наблюдается дисбаланс в уровнях про- и противовоспалительных цитокинов, который, по всей видимости, обусловлен совокупным эффектом действия провоспалительных цитокинов, схожим с эффектом ГК, и действия самих ГК.

Применение ГК привело к снижению уровней галектина-3 в экспериментальных группах животных, что отражает нарушения процессов регуляции ремоделирования костной ткани и может быть одним из звеньев в механизмах развития патологического процесса.

Изученные маркеры воспаления *перспективны* и свидетельствуют об их важной роли как в развитии воспаления, так и в процессах нарушения костного ремоделирования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Кондаков І. І. Вплив гліцеролу на функціонально-морфологічні показники нирок при моделюванні гострої та хронічної ниркової недостатності у щурів / І. І. Кондаков, І. І. Топчій, О. М. Кірієнко // Укр. журн. нефрології та діалізу. — 2013. — № 3 (39). — С. 14–20.
2. Подковкин В. Г. Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции / В. Г. Подковкин, Д. Г. Иванов, Г. А. Иванов // Успехи современного естествознания. — 2008. — № 7. — С. 13–16.
3. Anti-inflammatory properties of a novel peptide interleukin 1 receptor antagonist / B. Klementiev, S. Li, I. Korshunova [et al.] // J. Neuroinflammation. — 2014. — Vol. 11. — P. 27.
4. A possible suppressive role of galectin-3 in upregulated osteoclastogenesis accompanying adjuvant-induced arthritis in rats / Y. J. Li, A. Kukita, J. Teramachi [et al.] // Laboratory Investigation. — 2009. — Vol. 89. — P. 26–37.
5. Cytokines, atherogenesis, and hypercatabolism in chronic kidney disease: a dreadful triad / J. J. Carrero, S. H. Park, J. Axelsson [et al.] // Semin Dial. — 2009. — Vol. 22. — P. 381–386.

6. Differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in osteoblasts and adipocytes and its role in treatment of osteoporosis / C. Wang, H. Meng, X. Wang [et al.] // *Medical Science Monitor.* — 2016. — Vol. 22. — P. 226–233.
7. Effects of different doses of dexamethasone on bone qualities in rats / Y. Liu, Y. Chen, H. Zhao [et al.] // *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* — 2011. — Vol. 28 (4). — P. 737–743, 747.
8. Galectin-3 cleavage alters bone remodeling: different outcomes in breast and prostate cancer skeletal metastasis / K. Nakajima, D. H. Kho, T. Yanagawa [et al.] // *Cancer Res.* — 2016. — Vol. 76. — P. 1391–1402.
9. Inflammatory bone loss in experimental periodontitis induced by aggregatibacter actinomycetemcomitans in interleukin-1 receptor antagonist knockout mice / A. Izawa, Y. Ishihara, H. Mizutani [et al.] // *Infection and Immunity.* — 2014. — Vol. 82 (5). — P. 1904–1913.
10. Lack of galectin-3 prevents cardiac fibrosis and effective immune responses in a murine model of *Trypanosoma cruzi* infection / M. A. Pineda, H. Cuervo, M. Fresno [et al.] // *Journal of Infectious Diseases.* — 2015. — Vol. 212 (7). — P. 1160–1171.
11. *Li L. C.* Functions of galectin-3 and its role in fibrotic diseases / L. C. Li, J. Li, J. Gao // *J. PharmacolExpTher.* — 2014. — Vol. 351 (2). — P. 336–343.
12. Mechanisms of glucocorticoids in the control of neuroinflammation / N. Schweingruber, S. D. Reichardt, F. Luhder, H. M. Reichardt // *J. Neuroendocrinol.* — 2012. — Vol. 24 (1). — P. 174–182.
13. Schett G. Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone / G. Schett // *Eur J. Clin Invest.* — 2011. — Vol. 41 (12). — P. 1361–1366.
14. *Siddiqui J. A.* Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement / J. A. Siddiqui, N. C. Partridge // *Physiology.* — 2016. — Vol. 31 (3). — P. 233–245.