

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.02.109>

УДК 577.161.2+616.379-008.64

**А.О. Мазанова, І.О. Шиманський, О.О. Лісаковська,  
В.М. Василевська, О.Ю. Лотоцька, О.О. Макарова, М.М. Великий**

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ

E-mail: ann.mazanova@gmail.com

## **Порушення синтезу рецептора вітаміну D<sub>3</sub> та активної форми ядерного фактора κВ у кістковій тканині, зумовлені експериментальним цукровим діабетом 1-го типу, та їх корекція холекальциферолом**

*Представлено членом-кореспондентом НАН України Е.В. Луговським*

*Показано, що стійка гіперглікемія, зумовлена розвитком експериментального цукрового діабету 1-го типу (ЦД 1), призводить до істотного зниження рівня 25ОНD у сироватці крові щурів. Вітамін D-дефіцитний стан організму тварин з експериментальним ЦД 1 супроводжується порушенням сигналювання кальцитріолу в кістковій тканині через зниження рівня протеїну-рецептора вітаміну D<sub>3</sub> (VDR) та підвищенням остеокластогенезу за рахунок підвищення вмісту фосфорильованої в положенні Ser 311 форми ядерного фактора κВ (NF-κB/p-p65). Введення холекальциферолу (вітаміну D<sub>3</sub>) щурам з ЦД 1 нормалізує рівень 25ОНD у сироватці крові, результатом чого може бути відновлення остеобластно-osteокластної рівноваги в кістковій тканині.*

**Ключові слова:** вітамін D<sub>3</sub> (холекальциферол), рецептори вітаміну D, ядерний фактор κB, остеопороз, цукровий діабет 1-го типу.

Вторинний остеопороз є одним з поширених ускладнень цукрового діабету (ЦД) і, як системне захворювання скелета, характеризується зменшенням маси кістки в одиниці об'єму та порушенням мікроархітектури кісткової тканини, що призводить до підвищення крихкості кісток та високого ризику їх переломів [1]. Дослідження останніх років переконливо свідчать про те, що гіперглікемія, надпродукування активних форм кисню/азоту та активування запальних процесів відіграють центральну роль у розвитку численних ускладнень ЦД. Крім того, наголошується на залученні NF-κB, як прозапального фактора, у клітинній відповіді на оксидативний стрес за умов діабету [2]. На сьогодні добре відомо, що системне запалення індукує остеокластогенез, активацію остеокластів і посилену резорбцію кісткової тканини.

Зниження біодоступності вітаміну D<sub>3</sub> внаслідок недостатнього надходження або порушення його обміну в організмі може бути одним з істотних патогенетичних чинників роз-

© А.О. Мазанова, І.О. Шиманський, О.О. Лісаковська, В.М. Василевська, О.Ю. Лотоцька,  
О.О. Макарова, М.М. Великий, 2018

виту остеопорозу. У результаті  $D_3$ -гіповітамінозу порушується транспорт мінеральних компонентів у шлунково-кишковому тракті та мінералізація кісткової тканини. На клітинному рівні вітамін  $D_3$  забезпечує баланс між фазами резорбції і формування під час процесу кісткового ремоделювання та викликає посилення мінералізації кісток. Крім того, на додаток до скелетних ефектів вітаміну і контролювання гомеостазу кальцію, холекальциферол виявляє антипроліферативну, імуномодуляторну та протизапальну дію [3].

Безпосередньо біологічною активністю характеризується гормонально активна форма холекальциферолу – 1,25-дигідроксिवітамін  $D_3$  ( $1,25(OH)_2D_3$ , кальцитріол). Детальне вивчення механізму його дії показало, що дана стероїдна сполука діє на клітини так, як і усі інші стероїдні гормони:  $1,25(OH)_2D_3$ , який проникає в клітини-мішені, зв'язується зі специфічними для нього рецепторами. Біологічні ефекти  $1,25(OH)_2D_3$  опосередковані рецептором вітаміну  $D_3$  (VDR), членом надродини ядерних рецепторів стероїдних гормонів. Ці рецептори відіграють вирішальну роль у реалізації ефектів  $1,25(OH)_2D_3$  у кальцієвому гомеостазі, розвитку кісток та їх мінералізації, а також у контролюванні росту і диференціювання клітин [4].

Показано існування тісного зв'язку між ризиком розвитку ЦД 1-го типу (ЦД 1) та його ускладнень, з одного боку, і станом забезпеченості організму вітаміном  $D_3$  – з іншого. Так, підтримання нормального  $D_3$ -вітамінного статусу організму (концентрація  $25(OH)D_3$  повинна знаходитись у межах 75–100 нмоль/л) запобігає розвитку інсуліту і стрептозоточин-індукованого ЦД 1 на моделях діабетичних мишей без ожиріння. Введення вітаміну  $D_3$  зупиняє прогресування запалення в клітинах панкреатичних острівців через регулювання Т-лімфоцитарної ланки імунної відповіді [5].

З іншого боку, завдяки своїм плейотропним ефектам вітамін  $D_3$  потенційно здатен корегувати низку порушень, зумовлених ЦД 1, одним з яких є вторинний остеопороз [6], хоча це питання на сьогодні недостатньо досліджене. Гіперглікемія, яка є наслідком аутоімунного ураження  $\beta$ -клітин підшлункової залози, вважається основною причиною розвитку вторинного остеопорозу, що супроводжує ЦД 1. Підвищення рівня глюкози в крові призводить до осмотичного пошкодження остеобластів, порушення їх дозрівання шляхом пригнічення експресії RUNX 2 (Runt-залежний транскрипційний фактор 2) та підвищення експресії PPAR $\gamma$  (рецептор активації проліферації пероксисом  $\gamma$ ), наслідком чого є переключення дозрівання мезенхімних клітин з остеобластів на адипоцити. Крім цього, гіперглікемія самостійно або опосередковано через оксидативний стрес підвищує експресію прозапальних цитокінів, зокрема TNF $\alpha$  (фактор некрозу пухлин  $\alpha$ ), який пригнічує диференціювання та активність остеобластів, тим самим збільшуючи їх апоптичну загибель [7] і NF- $\kappa$ B [8], підвищений рівень якого асоціюють з виникненням остеолітичних запальних реакцій у кістковій тканині [9]. Показано, що вітамін  $D_3$  може безпосередньо пригнічувати експресію NF- $\kappa$ B через рецепторний комплекс RXR-VDR [10].

Остеотропні ефекти вітаміну  $D_3$  та його гормонально активних форм на функції клітин кісткової тканини можуть бути пов'язані з тонким регулюванням процесів кісткового моделювання/ремоделювання, опосередкованим їх впливом на міжклітинну комунікацію за участю різних цитокінових систем, проте конкретні механізми такої взаємодії на сьогодні вивчені недостатньо. На молекулярному рівні ці ефекти можуть реалізовуватися через VDR-опосередковану дію на транскрипційну активацію NF- $\kappa$ B та експресію залежних від

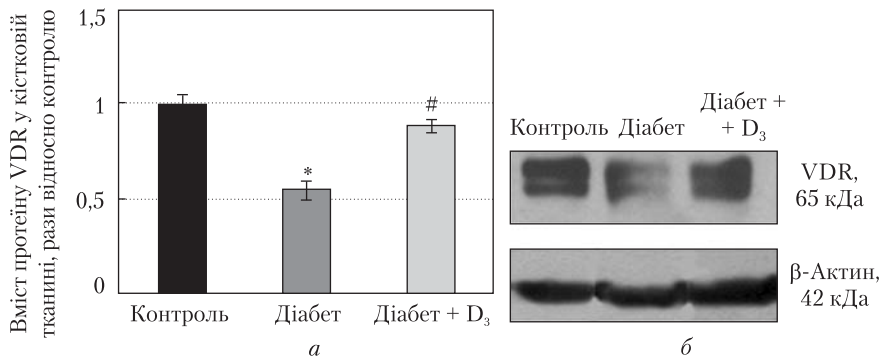
даного фактора транскрипції генів. Ми ставили за мету дослідження експресії активної форми NF-κВ/p65, фосфорильованої в положенні Ser 311 (NF-κВ/p-p65), у кістковій тканині щурів з експериментальним ЦД 1 та можливості VDR-опосередкованої корекції холекальциферолом порушень, асоційованих з діабетом.

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar масою  $140 \pm 7$  г. Для індукування діабету застосовували стрептозотин (STZ, "Sigma", США), який вводили одноразово в дозі 55 мг/кг маси тіла тварини у 10 мМ цитратному буферному розчині (рН 4,3) внутрішньочеревно. Контрольні тварини отримували одноразову ін'єкцію цитратного буферного розчину, що не містила STZ. Після двотижневого періоду розвитку діабету в щурів проводили контроль рівня глюкози у крові за допомогою біосенсора One Touch Select ("Life Scan", США) натщесерце. В експеримент брали щурів, рівень глюкози яких був у межах  $22 \pm 1$  ммоль/л. Діабетичних тварин розділили на дві групи: 1 – діабетичні щури; 2 – діабетичні щури, які отримували 600 МО вітаміну D<sub>3</sub> на 1 кг маси тіла тварини перорально протягом 30 діб. Усі маніпуляції з тваринами проводили під легким ефірним наркозом і без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, що не суперечить загальноприйнятим біоетичним нормам, з дотриманням відповідних міжнародних положень стосовно проведення експериментальних робіт.

Рівень забезпеченості організму щурів вітаміном D<sub>3</sub> оцінювали детектуванням 25ОНД у сироватці крові конкурентним імуноезимним методом (ELISA) [11].

Рівень VDR та NF-κВ/p-p65 (Ser 311) визначали за допомогою вестерн-блот-аналізу. Підготовку проб проводили шляхом гомогенізації 100 мг тканини в буферному розчині RIPA (20 мМ *трис*-HCl, рН 7,5; 1 % тритону X-100, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЕДТА, 1 % дезоксихолату натрію) з додаванням суміші інгібіторів протеїназ та фосфатаз ("Sigma", США). Концентрацію протеїну в зразках визначали методом Лоурі. Електрофоретичне розділення зразків здійснювали в 10 % ПААГ в системі Лемлі (60 мМ *трис*-HCl, рН 6,8, 2 % SDS, 10 % гліцеролу, 5 % β-меркаптоетанолу, 0,01 % бромфенолового синього), вносячи 50 мкг протеїну в кожний трек. Електрофоретично розділені протеїни переносили на нітроцелюлозну мембрану протягом 1 год при силі струму 350 мА у буфері, що містив 25 мМ *трис*-HCl, 192 мМ гліцину, рН 8,3, 0,1 % SDS, 20 % метанолу. Вільні центри зв'язування блокували протягом 1 год 5 %-м знежиреним сухим молоком в PBST (PBS + 0,05 % Tween 20). Для проведення вестерн-блот аналізу використовували антитіла проти VDR (1 : 200, "Santa Cruz Biotechnology", США), NF-κВ/p-p65 (Ser 311), (1 : 250, "Santa Cruz Biotechnology", США), β-актину (1 : 25000, "Sigma", США), вторинні антимишачі антитіла, кон'юговані з пероксидазою хрому (HRP) (1 : 2000, "Sigma", США), вторинні антикролячі антитіла, кон'юговані з HRP (1 : 2500, "Bio Rad", США). Імунореактивні сигнали на мембрані виявляли за допомогою інкубації мембрани з реактивами для посиленої хемілюмінесценції (люмінолом та кумаровою кислотою). Мембрану експонували на рентгенівську плівку, яку проявляли й фіксували стандартними фотопроявником та фіксажем. Інтенсивність сигналів на рентгенівських плівках обраховували за допомогою програми GelPro analyzer 3.2. Усі дослідження виконували в трьох паралельних повторях.

Обробку даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з вирахуванням середнього значення (*M*) і стандартної похибки середнього (*m*). Для визначення достовірності відмінностей між одержаними величинами двох вибірок викорис-



**Рис. 1.** Відносний вміст протеїну-рецептора вітаміну D<sub>3</sub> (VDR) у кістковій тканині діабетичних щурів та після введення вітаміну D<sub>3</sub> (а) і репрезентативні імуноблотограми (б). Дані представлено як  $M \pm m$ ,  $n = 5$ . \* –  $p \leq 0,05$  порівняно з контролем; # –  $p \leq 0,05$  порівняно з діабетом

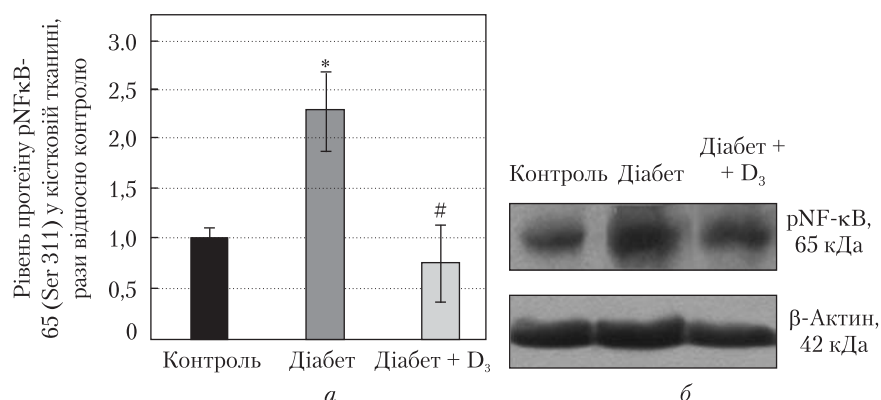
товували  $t$ -критерій Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності при  $p \leq 0,05$ . Опрацювання і статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програмами Microsoft Excel.

Показано, що через вісім тижнів розвитку ЦД 1 після ін'єкції STZ рівень глюкози в крові піддослідних тварин становив  $26,8 \pm 2,9$  ммоль/л проти  $4,9 \pm 0,2$  ммоль/л у контролі ( $p \leq 0,05$ ). Хронічна гіперглікемія на фоні ЦД 1 супроводжувалась істотним дефіцитом вітаміну D<sub>3</sub> в організмі тварин. На восьмому тижні розвитку ЦД 1 вміст 25ОНD, який є маркером забезпеченості організму вітаміном D<sub>3</sub>, у сироватці крові щурів становив  $50,2 \pm 3,0$  нмоль/л, тоді як у контрольних тварин цей показник сягав  $97,5 \pm 5,2$  нмоль/л ( $p \leq 0,05$ ).

Оскільки біологічні ефекти гормонально активної форми вітаміну D<sub>3</sub> у різних типах клітин реалізуються через специфічні рецептори до  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  – VDR, було досліджено їх експресію в кістковій тканині. Вітамін D-дефіцитний стан організму щурів з ЦД 1 призводив до падіння вмісту протеїну-рецептора вітаміну D<sub>3</sub> у кістковій тканині. За допомогою вестерн-блот аналізу встановлено, що відносний вміст протеїну VDR у кістковій тканині тварин з ЦД 1 був у 1,8 раза ( $p \leq 0,05$ ) нижчим порівняно з контролем (рис. 1). Показано, що рецептори вітаміну D<sub>3</sub> переважно локалізуються на остеоцитах та остеобластах, тоді як зрілі остеокласти їх не експресують [12]. Таким чином, зниження рівня протеїну VDR у тварин з експериментальним ЦД 1 може свідчити про зсув остеобластно-остеокластної рівноваги, результатом чого є порушення процесів моделювання/ремоделювання кісткової тканини та розвиток вторинного остеопорозу.

Передбачається, що рецептори вітаміну D<sub>3</sub> можуть опосередковувати ефекти холекальциферолу на активність такого важливого та поширеного в різних типах клітин транскрипційного фактора, як NF-κB [13]. Відомо, що NF-κB бере участь у контролюванні великої різноманітності клітинних функцій, регулюючи імунну відповідь і розвиток запальних реакцій, апоптоз, ремоделювання кісткової тканини тощо. У різних клітинах найбільш поширена форма NF-κB складається з великої субодиниці RelA (p65), яка формує або гомодимер, або гетеродимер зі структурно спорідненим протеїном p50. Оскільки транскрипційна активація NF-κB є однією з ключових подій, що опосередковують генну експресію різних регуляторних пептидів та протеїнів, у тому числі остеотропних, а також є одним з маркерних показників інтенсивності остеокластогенезу [14], нашим завданням було визначити рівень фосфорильованої субодиниці p65 NF-κB у кістковій тканині.

**Рис. 2.** Відносний вміст субодиниці p65 ядерного фактора κB, фосфорильованої за Ser 311 (NF-κB/p-p65, Ser 311), у кістковій тканині діабетичних щурів та після введення вітаміну D<sub>3</sub> (а) і репрезентативні імуноблотграми (б). Дані представлено як  $M \pm m$ ,  $n=5$ . \* –  $p \leq 0,05$  порівняно з контролем; # –  $p \leq 0,05$  порівняно з діабетом



У відповідності з критичною роллю фосфорилування в транскрипційній активації NF-κB під дією різних сигнальних стимулів вестерн-блот аналіз показав, що в діабетичних щурів рівень протеїну NF-κB/p-p65, фосфорильованого за Ser 311, виявився в 2,3 раза вищим у кістковій тканині порівняно з контрольними тваринами (рис. 2). Останнім часом атипову протеїнкіназу ζ (PKC ζ) було запропоновано як кіназу фосфорилування Ser 311, що активується в результаті дії прозапального цитокіну TNFα і яка забезпечує звільнення димеру p65/p50 з-під гальмівного контролю з боку інгібітора κB-α (IkB-α) [15]. Отже підвищення на фоні діабету рівня фосфорильованої за Ser 311 NF-κB/p-p65 у кістковій тканині може свідчити про активацію та посилену транслокацію NF-κB/p-p65 з цитоплазми в ядро. NF-κB-залежна транскрипційна активація генів, імовірно, є результатом дії прозапальних та прорезорбтивних факторів. У сукупності отримані дані вказують на те, що дефіцит вітаміну D<sub>3</sub> та інтенсифікація прозапальних процесів можуть бути тісно пов'язані з порушенням дозрівання остеобластів та NF-κB/p-p65-опосередкованим підвищенням активності остеокластів внаслідок експериментального цукрового діабету. Результатом цих змін є дисбаланс процесів остеосинтезу з переважанням резорбції кісткової тканини над її формуванням, що може спричинити розвиток вторинного остеопорозу.

Введення холекальциферолу діабетичним щурам протягом 30 днів призводило до підвищення рівня 25ОНD у сироватці крові до  $71,0 \pm 3,1$  нмоль/л порівняно з групою діабету ( $p \leq 0,05$ ), хоча і не мало істотного глюкозознижувачого ефекту ( $21,7 \pm 2,5$  ммоль/л) порівняно з діабетом. Відновлення D-вітамінного статусу організму тварин сприяло поверненню рівня експресії протеїну VDR до контрольних значень (див. рис. 1). Натомість рівень протеїну NF-κB/p-p65 істотно знижувався (в 3 рази) порівняно з групою діабету,  $p \leq 0,05$  (див. рис. 2).

Таким чином, отримані нами дані можуть свідчити про VDR-опосередковану інгібувальну дію холекальциферолу на посилену за умов ЦД 1 активацію асоційованих з NF-κB сигнальних шляхів. Загалом це узгоджується з літературними даними щодо важливої ролі вітаміну D<sub>3</sub> в регулюванні прозапальних реакцій у тканинах тваринного організму. Досягнення нормального рівня забезпеченості організму тварин вітаміном D<sub>3</sub> сприяє гальмуванню NF-κB-залежної експресії прозапальних/прорезорбтивних цитокінів, що може супроводжуватися нормалізацією стану ремоделювання кісткової системи у разі діабету.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Cooper J.D., Smyth D.J., Walker N.M, Stevens H., Burren O.S, Wallace C., Greissl C., Ramos-Lopez E., Hyppönen E., Dunger D.B., Spector T.D., Ouwehand W.H., Wang T.J., Badenhoop K., Todd J.A. Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. *Diabetes*. 2011. № 5. P. 1624–1631. doi: <https://doi.org/10.2337/db10-1656>
2. Poudyal H., Brown L. Osteoporosis and its association with non-gonadal hormones involved in hypertension, adiposity and hyperglycaemia. *Curr. Drug. Targets*. 2013. № 14. P. 1694–1706.
3. Saccone D., Asani F., Bornman L. Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene*. 2015. № 2. P. 171–180. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.02.024>
4. Lin Z., Chen H., Belorousova A.Y., Bollinger J.C., Tang E.K.Y., Janjetovic Z., Kim T., Wu Z., Miller D.D., Slominski A.T., Postlethwaite A.E., Tuckey R.C., Rochel N., Li W.  $1\alpha,20S$ -Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> interacts with vitamin D receptor: Crystal structure and route of chemical synthesis. *Sci. Rep*. 2017. № 1. P. 1–10. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10917-7>
5. Tai K., Need A.G., Horowitz M., Chapman I.M. Vitamin D, glucose, insulin, and insulin sensitivity. *Nutrition*. 2008. № 24. P. 279–285. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.11.006>
6. Dhaon P., Shah V.N. Type 1 diabetes and osteoporosis: A review of literature. *Indian J. Endocrinol. Metab*. 2014. № 18. P. 159–165. doi: <https://doi.org/10.4103/2230-8210.129105>
7. Coe L.M., Irwin R., Lippner D., McCabe L.R. The bone marrow microenvironment contributes to type I diabetes induced osteoblast death. *J. Cell. Physiol*. 2011. № 2. P. 477–483. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.22357>
8. Romeo G., Liu W.H., Asnaghi V., Kern T.S., Lorenzi M. Activation of nuclear factor- $\kappa$ B induced by diabetes and high glucose regulates a proapoptotic program in retinal pericytes. *Diabetes*. 2002. № 7. P. 2241–2248. doi: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.7.2241>
9. Abu-Amer Y. NF- $\kappa$ B signaling and bone resorption. *Osteoporos. Int*. 2013. № 9. P. 2377–2386. doi: <https://doi.org/10.1007/s00198-013-2313-x>
10. Riccio P., Rossano R., Larocca M., Trotta V., Mennella I., Vitaglione P. Anti-inflammatory nutritional intervention in patients with relapsing-remitting and primary-progressive multiple sclerosis: A pilot study. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2016. № 6. P. 620–635. doi: <https://doi.org/10.1177/1535370215618462>
11. Mazanova A.O., Shymanskyi I.O., Veliky M.M. Development and validation of immunoenzyme test-system for determination of 25-hydroxyvitamin D in blood serum. *Biotechnol. Acta*. 2016. № 2. P. 28–36. doi: <https://doi.org/10.15407/biotech9.02.028>
12. Wang Y., Zhu J., Deluca H.F. Identification of the vitamin D receptor in osteoblasts and chondrocytes but not osteoclasts in mouse bone. *J. Bone. Miner. Res*. 2014. № 3. P. 685–692. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2081>
13. Mutt S.J., Karhu T., Lehtonen S., Lehenkari P., Carlberg C., Saarnio J., Sebert S., Hyppönen E., Järvelin M.R., Herzig K.H. Inhibition of cytokine secretion from adipocytes by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> via the NF- $\kappa$ B pathway. *FASEB J*. 2012. № 11. P. 4400–4407. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.12-210880>
14. Brendan F.B., Zhenqiang Y., Lianping X. Functions of NF- $\kappa$ B in Bone. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2010. № 1192. P. 367–375. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05315.x>
15. Moscat J., Diaz-Meco M.T. Fine tuning NF- $\kappa$ B: new openings for PKC- $\zeta$ . *Nat. Immunol*. 2011. № 1. P. 12–14. doi: <https://doi.org/10.1038/ni0111-12>

Надійшло до редакції 20.10.2017

REFERENCES

1. Cooper, J. D., Smyth, D. J., Walker, N. M, Stevens, H., Burren, O. S, Wallace, C., Greissl, C., Ramos-Lopez, E., Hyppönen, E., Dunger, D. B., Spector, T. D., Ouwehand, W. H., Wang, T. J., Badenhoop, K. & Todd, J. A. (2011). Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. *Diabetes*. No. 5, pp. 1624-1631. doi: <https://doi.org/10.2337/db10-1656>
2. Poudyal, H. & Brown, L. (2013). Osteoporosis and its association with non-gonadal hormones involved in hypertension, adiposity and hyperglycaemia. *Curr. Drug. Targets*. No. 14, pp. 1694-1706.
3. Saccone, D., Asani, F. & Bornman, L. (2015). Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene*, No. 2, pp. 171-180. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.02.024>

4. Lin, Z., Chen, H., Belorusova, A. Y., Bollinger, J. C., Tang, E. K. Y., Janjetovic, Z., Kim, T., Wu, Z., Miller, D. D., Slominski, A. T., Postlethwaite, A. E., Tuckey, R. C., Rochel, N. & Li, W. (2017). 1α,20S-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> interacts with vitamin D receptor: Crystal structure and route of chemical synthesis. *Sci Rep.*, No. 1, pp. 1-10. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10917-7>
5. Tai, K., Need, A. G., Horowitz, M. & Chapman, I. M. (2008). Vitamin D, glucose, insulin, and insulin sensitivity. *Nutrition.*, No. 24, pp. 279-285. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.11.006>
6. Dhaon, P. & Shah, V. N. (2014). Type 1 diabetes and osteoporosis: A review of literature. *Indian J. Endocrinol. Metab.*, No. 18, pp. 159-165. doi: <https://doi.org/10.4103/2230-8210.129105>
7. Coe, L. M., Irwin, R., Lippner, D. & McCabe, L. R. (2011). The bone marrow microenvironment contributes to type I diabetes induced osteoblast death. *J. Cell. Physiol.*, No. 2, pp. 477-483. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.22357>
8. Romeo, G., Liu, W. H., Asnaghi, V., Kern, T. S. & Lorenzi, M. (2002). Activation of nuclear factor-κB induced by diabetes and high glucose regulates a proapoptotic program in retinal pericytes. *Diabetes*, No. 7, pp. 2241-2248. doi: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.7.2241>
9. Abu-Amer, Y. (2013). NF-κB signaling and bone resorption. *Osteoporos. Int.*, No. 9, pp. 2377-2386. doi: <https://doi.org/10.1007/s00198-013-2313-x>
10. Riccio, P., Rossano, R., Larocca, M., Trotta, V., Mennella, I. & Vitaglione, P. (2016). Anti-inflammatory nutritional intervention in patients with relapsing-remitting and primary-progressive multiple sclerosis: A pilot study. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, No. 6, pp. 620-635. doi: <https://doi.org/10.1177/1535370215618462>
11. Mazanova, A. O. Shymanskyi, I. O. & Veliky, M.M. (2016). Development and validation of immuno-enzyme test-system for determination of 25-hydroxyvitamin D in blood serum. *Biotechnol. Acta.*, No. 2, pp. 28-36. doi: <https://doi.org/10.15407/biotech9.02.028>
12. Wang, Y., Zhu, J. & Deluca, H. F. (2014). Identification of the vitamin D receptor in osteoblasts and chondrocytes but not osteoclasts in mouse bone. *J. Bone. Miner. Res.*, No. 3, pp. 685-692. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2081>
13. Mutt, S. J., Karhu, T., Lehtonen, S., Lehenkari, P., Carlberg, C., Saarnio, J., Sebert, S., Hyppönen, E., Järvelin, M. R. & Herzig, K. H. (2012). Inhibition of cytokine secretion from adipocytes by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> via the NF-κB pathway. *FASEB J.*, No. 11, pp. 4400-4407. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.12-210880>
14. Brendan, F. B., Zhenqiang, Y. & Lianping, X. (2010). Functions of NF-κB in Bone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, No. 1192, pp. 367-375. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05315.x>
15. Moscat, J. & Diaz-Meco, M. T. (2011) Fine tuning NF-κB: new openings for PKC-ζ. *Nat. Immunol.*, No. 1, pp. 12-14. doi: <https://doi.org/10.1038/ni0111-12>

Received 20.10.2017

*А.А. Мазанова, И.А. Шиманский, О.А. Лисаковская,  
В.Н. Василевская, Е.Е. Лотоцкая, Е.А. Макарова, Н.Н. Великий*  
Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, Киев  
E-mail: ann.mazanova@gmail.com

**НАРУШЕНИЕ СИНТЕЗА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D<sub>3</sub>  
И АКТИВНОЙ ФОРМЫ ЯДЕРНОГО ФАКТОРА κB В КОСТНОЙ ТКАНИ  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА  
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛОМ**

Показано, что стойкая гипергликемия, обусловленная развитием экспериментального сахарного диабета 1-го типа (СД 1), приводит к существенному снижению уровня 25ОНD в сыворотке крови крыс. Витамин D-дефицитное состояние организма животных с экспериментальным СД 1 сопровождается нарушением сигналинга кальцитриола в костной ткани из-за снижения уровня протеина-рецептора витамина D<sub>3</sub> (VDR) и повышением остеокластогенеза за счет увеличения содержания фосфорилированной в положении Ser 311 формы ядерного фактора κB (NF-κB/p-p65). Введение холекальциферола (витамин D<sub>3</sub>) крысам с СД 1 приводит к нормализации содержания 25ОНD в сыворотке крови, резуль-

татом чего может быть восстановление нарушенного остеобластно-остеокластного равновесия в костной ткани.

**Ключевые слова:** витамин D<sub>3</sub> (холекальциферол), рецепторы витамина D, ядерный фактор κB, остеопороз, сахарный диабет 1-го типа.

*A.O. Mazanova, I.O. Shymanskyi, O.O. Lisakovska,  
V.M. Vasylevska, O.Yu. Lototska, O.O. Makarova, M.M. Veliky*  
Palladin Institute of Biochemistry of the NAS of Ukraine, Kiev  
E-mail: ann.mazanova@gmail.com

CHANGES IN THE LEVELS OF VITAMIN D RECEPTOR  
AND ACTIVE FORM OF THE NUCLEAR FACTOR κB IN BONE TISSUE  
OF RATS WITH EXPERIMENTAL TYPE 1 DIABETES MELLITUS  
AND THEIR CORRECTION WITH CHOLECALCIFEROL

It has been shown that chronic hyperglycemia, caused by the development of experimental type 1 diabetes mellitus (DM 1), leads to a significant decrease in the blood serum level of 25OHD. Vitamin D<sub>3</sub> deficiency in rats with DM 1 is accompanied by the impaired signaling of calcitriol in bone tissue, as is evident from a decrease in the expression of the vitamin D<sub>3</sub> receptor protein (VDR). The elevated level of nuclear factor κB (NF-κB) subunit p65 phosphorylated at Ser 311 in bone tissue is found. This may contribute to an increase in osteoclastogenesis. Supplementation of cholcalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) to rats with DM 1 leads to a normalization of 25OHD in blood serum, which can result in the restoration of the osteoblastic-osteoclastic balance in bone tissue.

**Keywords:** vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol), vitamin D receptor, nuclear factor-κB, osteoporosis, type 1 diabetes mellitus.