

## УЧАСТЬ АДИПОКІНІВ У РЕГУЛЯЦІЇ КІСТКОВОГО РЕМОДЕЛЮВАННЯ ПРИ ЙОГО ПОРУШЕННІ ПІД ДІЄЮ ГЛЮКОКОРТИКОЇДІВ

Павлов С.Б., Гончарова А.В., Кумечко М.В.

*Харківська медична академія післядипломної освіти*

**Резюме.** Вивчено рівень адипокінів у щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушень ремоделювання кісткової тканини. Рівень адипонектину в порівнянні з інтактними тваринами виявляється зниженим. Рівень вісфатину не змінюється. Це свідчить про безпосередню участь адипонектину в регуляції кісткового ремоделювання в процесі енергетичного метаболізму. Ступінь участі вісфатину в цих процесах вимагає подальшого вивчення.

**Ключові слова:** кісткове ремоделювання, глюкокортикоїди, адипонектин, вісфатин, кісткова тканина.

**Вступ.** У складних процесах регуляції ремоделювання кісткової тканини крім цитокінів – учасників сигнального шляху RANKL/RANK/остеопротегерин беруть також участь і адипокіни, наприклад, адипонектин та вісфатин. Найвідоміша їх функція – регуляція прийому їжі та енергетичного обміну.

Адипонектин є білковим гормоном, який секретується переважно в жировій тканині, забезпечує чутливість до інсуліну, він знижений у осіб з ожирінням та у хворих на діабет. Даний білок є одним із ключових білків-регуляторів найважливіших метаболічних і катаболічних процесів. Він впливає на вуглеводний і ліпідний обміни, бере участь у регуляції кров'яного тиску, запобігає виникненню запальних процесів в ендотелії кровоносних судин [1]. Припускався негативний вплив адипонектину на кісткову масу та зв'язок його рівня з більш низькою кістковою масою.

Вісфатин – білок, що циркулює в кровотоці у вигляді мономерних і димерних форм і має властивості цитокіну й ферменту, що бере участь у біосинтезі нікотинамід-аденін-динуклеотиду. Вісфатин синтезується переважно у вісцеральній жировій тканині. Він має інсулін-імітуючу дію, стимулюючи транспорт глюкози в периферичні тканини й гальмуючи продукцію глюкози гепатоцитами. Подібно до інсуліну, вісфатин зв'язує інсуліновий рецептор і стимулює автофосфорилування рецептора й фосфорилування тирозину інших білків, включаючи білки-субстрати рецептора інсуліну. Цей адипокін має інші місця зв'язування з рецепторами клітинної поверхні, ніж інсулін, і не конкурує з ним [2].

Іншим важливим аспектом біологічної ролі вісфатину є його імуномодуляторний ефект. Ра-

зом з адипоцитами, значна кількість циркулюючого вісфатину виробляється макрофагами. При впливі на судинну стінку прозапальних агентів (наприклад, ліпопротеїдів низької щільності) експресія вісфатину макрофагами в місці пошкодження значно підвищується [3]. Рекombінантний вісфатин активізує лейкоцити й стимулює синтез цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ ) [4].

Актуальним на сьогодні є вивчення ролі адипокінів у регуляції кісткового метаболізму в умовах його порушень.

**Мета дослідження:** дослідження рівнів адипонектину та вісфатину при порушеннях метаболізму кісткової тканини, викликаних дією глюкокортикоїдів.

### Матеріали та методи дослідження

Експериментальне дослідження проводилось на 2 групах (по 50 тварин) білих щурів – самок віком 9 міс масою  $210 \pm 30$  г у відповідності із принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та “Загальними принципами експериментів на тваринах”, схваленими I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [5].

Створення моделі експериментального порушення ремоделювання кісткової тканини глюкокортикоїдами проводили шляхом введення дексаметазону фосфату 7,5 мг/кг ваги внутрішньом'язово двічі на тиждень упродовж місяця.

Контрольна група – інтактні тварини.

Проводились імуноферментні дослідження в сироватці крові. Визначення рівня адипонектину проводилося за допомогою набору BioVendor (Чехія), вісфатину – набором RayBio (США).

Кров для дослідження тварин брали із серця. Для знеболювання використовували хлороформ.

Порушення ремоделювання кісткової тканини верифікувалося вимірюванням щільності кістки [6].

Математична обробка результатів була проведена із застосуванням пакету статистичного аналізу Statistica 6.0. Відмінності між порівнювальними показниками вважали достовірними, якщо значення вірогідності було більшим чи дорівнювало 95% ( $p < 0,05$ ).

### Результати дослідження та їх обговорення

При дослідженні рівня адипонектину в щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини виявилось, що медіана вмісту адипонектину в сироватці склала 0,624 (0,581; 0,664) мкг/мл. Середній рівень адипонектину в щурів цієї групи був нижче, ніж у тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ) (табл.).

Таблиця. Значення середніх рівнів адипонектину та вісфатину в щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушень ремоделювання кісткової тканини

Групи	Адипонектин, мкг/мл	Вісфатин, нг/мл
К	0,663±0,008	141,606±8,69
ГК	0,631±0,007*	133,246±10,27

Примітка. \* – ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контрольною групою.

При дослідженні рівня вісфатину медіана його вмісту в сироватці щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини склала 141,305 (61,964; 186,968) нг/мл. Середній рівень вісфатину в щурів цієї групи не відрізнявся від рівня тварин контрольної групи (табл.).

Виміряна щільність кістки в щурів із глюкокортикоїдним порушенням ремоделювання кісткової тканини була зниженою в порівнянні з контрольною групою (1,41 г/см<sup>3</sup> та 1,62 г/см<sup>3</sup> відповідно ( $p < 0,05$ )).

Участь адипонектину в кістковому метаболізмі обговорюється вже протягом деякого часу, але її характер досить складний та неоднозначний. Підвищені рівні адипонектину можуть справляти руйнівний вплив на кістку шляхом підвищення рівня RANKL та інгібування продукції остеопротегерину, що підсилює кісткову резорбцію [7]. Деякі дослідження показали значне зворотне відношення між адипонектином та мінеральною кістковою щільністю, незалежною від маси тіла [8, 9]. Остеобласти мають адипокінові рецепто-

ри. Адипонектин посилює процеси проліферації, диференціації та мінералізації остеобластів [10].

У даному дослідженні знижений рівень адипонектину в щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушень кісткового метаболізму може бути пояснений прямим впливом глюкокортикоїдів на загальний енергетичний метаболізм, який складними взаємозв'язками комплексно регулює процеси ремоделювання кістки. При надмірному тривалому надходженні глюкокортикоїдів до організму регуляторні механізми вичерпують адаптаційні резерви, знижується рівень адипонектину і його активуючий вплив на остеобласти. Відбувається посилення процесів резорбції в балансі ремоделювання кісткової тканини. Незмінний рівень вісфатину може свідчити про складність та неоднозначність його ролі в регуляції кісткового метаболізму. Подальші дослідження мають визначити ступінь участі в регуляторних взаємодіях кісткового та енергетичного метаболізму як кожного окремого адипокіну, так і з урахуванням їх взаємозв'язків.

### Висновки

У щурів із глюкокортикоїдною моделлю порушень кісткового метаболізму знижується рівень адипонектину в сироватці, рівень же вісфатину залишається незмінним. Адипонектин як одна з ланок, що пов'язують енергетичний метаболізм із кістковим, має прямий зв'язок зі станом ремоделювання кістки. Вісфатин, на відміну від нього, має більш складні відносини з кістковим метаболізмом.

### Література

1. Sun Y., Xun K., Wang C. et al. Adiponectin, an Unlocking Adipocytokine // Cardiovascular Therapeutics. – 2009. – Vol. 27. – P. 59–75.
2. Fukuhara A., Matsuda M., Nishizawa M. et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. // Science. – 2005. – Vol. 307. – P. 426–430.
3. Dahl T.B., Yndestad A., Skjelland M. et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization // Circulation. – 2007. – Vol. 115. – P. 972–980.
4. Moschen A.R., Kaser A., Enrich B. et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178. – P. 1748–1758.
5. Общие этические принципы экспериментов на животных: Материалы I Национального конгресса по биоэтике. / К.: НАНУ, 2001. – 16 с.
6. Подковкин В.Г., Иванов Д.Г., Иванов Г.А. Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции // Успехи современного естествознания. – 2008. – №7. – С. 13–16.

7. Barrett-Connor E., Kritz-Silverstein D. Adipose tissue produces and releases a variety of proinflammatory and antiinflammatory factors including TNF- $\alpha$ , leptin, adiponectin, and resistin // *Diabetes Care*. – 1996. – Vol.19, №12. – P. 1388–1392.
8. Rondinone C.M. Adipocyte-derived hormones, cytokines, and mediators // *Endocrine*. – 2006. – Vol.29, №1. – P. 81–90.
9. Tilg H., Moschen A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol.6, №10. – P. 772–783.
10. Kanazawa I., Yamaguchi T., Yano S. et al. Adiponectin and AMP kinase activator stimulate proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblastic MC3T3–E1 cells // *BMC Cell Biology*. – 2007. – Vol.8. – P. 51–62.

## ABSTRACT

### ADIPOKINES INVOLVEMENT IN THE REGULATION OF BONE REMODELING IN ITS DISORDER BY GLUCOCORTICOID ACTION

Pavlov S.B., Goncharova A.V., Kumechko M.V.

Adipokine levels in rats with glucocorticoid model of bone remodeling disorder has been studied. Adiponectin concentration is reduced compared to intact animals. Visfatin level is not changed. It indicates the direct involvement of adiponectin in the bone remodeling regulation by the energy metabolism. The degree of visfatin involvement to these processes requires further investigation.

**The aim.** To investigate adiponectin and visfatin levels in bone metabolism disorders caused by the action of glucocorticoids.

**Methods.** We measured adiponectin and visfatin and bone mineral density in female rats (50 animals) with glucocorticoid model of bone metabolism disorder and intact female rats (50 animals). Rats were injected intramuscularly twice a week with 7,5 mg/kg body weight for four weeks. Intact rats were the control group. Rats were euthanized by chloroform and blood and bone tissue were collected.

The blood was analyzed for the levels of adiponectin and visfatin by enzyme-linked immunosorbent assay. Adiponectin was quantified using the Adiponectin assay distributed by BioVendor (Czech Republic). Visfatin was quantified using the Visfatin assay distributed by RayBio (USA). Bone mineral density was also measured.

**Results.** Adiponectin level in the group of rats with glucocorticoid disorder of bone remodeling was lower than adiponectin level in the group of intact rats. Visfatin level in the group of rats with bone remodeling disorder did not differ from such level in the group of intact rats.

Bone mineral density in the group of rats with glucocorticoid disorder of bone remodeling was lower than that one in the group of intact rats (1,41 g/cm<sup>3</sup> and 1,62 g/cm<sup>3</sup> respectively (p<0,05)).

**Conclusions.** Adiponectin concentration is reduced compared to intact animals. Visfatin level is not changed. It indicates the direct involvement of adiponectin in the bone remodeling regulation by the energy metabolism. The degree of visfatin involvement to these processes requires further investigation.

*Key words:* bone remodeling, glucocorticoids, adiponectin, visfatin, bone tissue.