

РОЛЬ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНУ В МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ ВТОРИННОГО ОСТЕОПОРОЗУ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК

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

Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків

Резюме. В молекулярних механізмах формування остеопорозу ключову роль відіграє остеопротегерин (ОПГ), сироватковий рівень якого зростає із прогресуванням хронічної хвороби нирок (ХХН). Був досліджений взаємозв'язок між рівнем остеопротегерину й антагоніста рецептора інтерлейкіну-1 у механізмах розвитку вторинного остеопорозу при моделюванні ХХН. Виявлено збільшення вмісту ОПГ у сироватці крові тварин у групі із ХХН, що можна розглядати як компенсаторну реакцію на підвищення активності остеокластів, а також як Т-клітинну імунну відповідь на запалення. Таким чином, можна припустити, що ОПГ відіграє значну роль у порушеннях мінеральної щільності кістки при ХХН.

Ключові слова: остеопротегерин, цитокіни, ремоделювання кісткової тканини, хронічна хвороба нирок.

Актуальність

Проблема дефіциту кісткової маси та розвитку остеопорозу в структурі захворюваності посідає дуже важливе місце. При цьому в основі патогенезу остеопорозу як системної метаболічної патології може бути декілька видів первинних захворювань.

Відомо, що хронічна хвороба нирок (ХХН) є чинником порушення ремоделювання кісткової тканини й розвитку остеопорозу [1]. ХХН запускає складний комплекс патологічних реакцій, що призводять до порушень кісткового метаболізму [2].

Порушення мінерального та кісткового метаболізму характеризуються дисбалансом процесів ремоделювання кісткової тканини вже на ранніх етапах розвитку ХХН. Ці процеси регулюються багатьма з медіаторів імунних клітин, у тому числі цитокінами й факторами росту. Як основні сигнальні механізми, що контролюють резорбцію кістки у фізіологічних і патологічних умовах, розглядається система ОПГ – RANKL – RANK. Остеопротегерин (ОПГ) є членом надсімейства TNF-рецептора й функціонує як інгібітор кісткової резорбції, зв'язуючись з RANKL (лигандом активатора рецептора ядерного фактора транскрипції каппа В NF-κB), тим самим блокуючи взаємодію між RANKL і RANK на поверхні преостеокластів.

Недавні дослідження показали, що сироваткові рівні ОПГ збільшуються із прогресуванням ХХН [3] і негативно корелюють з мінеральною щільністю кісткової тканини [4]. Це свідчить про потенційну роль ОПГ у порушеннях мінеральної щільності кістки при ХХН.

Важливу роль у метаболізмі кісткової тканини відіграє рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1 (ІЛ-1 РА), який є одним з найважливіших протиза-

пальних факторів. ІЛ-1 РА блокує клітинний рецептор, специфічний для ІЛ-1α та ІЛ-1β, тим самим регулюючи активність потужного цитокіна запалення – ІЛ-1. Таким чином, оптимальний баланс співвідношення ІЛ-1 РА та ІЛ-1 забезпечує адекватну реакцію організму у відповідь на пошкодження, а його зміна неминуче призводить до порушення функціонування цитокінової мережі, а, отже, й імунної системи в цілому.

Мета дослідження – вивчити взаємозв'язок між рівнем остеопротегерину й антагоніста рецептора інтерлейкіну-1 у механізмах розвитку вторинного остеопорозу при моделюванні порушень стану нирок.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальне дослідження проводилось у 2 групах (по 50 тварин) білих щурів-самок віком 9 міс масою 210±30 г. Тварини були розподілені на дві групи: 1 – група контролю (інтактні тварини), 2 – група тварин з моделлю хронічної хвороби нирок.

Модель експериментального порушення ремоделювання кісткової тканини при ХХН, що розвивалася із плином часу після однократного впливу високої інтенсивності, який викликав гостру ниркову недостатність, створювали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 50% розчину гліцерину в дозі 10 мл/кг маси тіла тварини. Розвиток ХХН контролювали відповідно до методики авторів моделі [5].

Порушення ремоделювання кісткової тканини контролювали за допомогою прямого вимірювання щільності кістки, яку розраховували як відношення маси кістки (г) до об'єму даної кістки (см³) [6]. Об'єм кістки визначали за об'ємом витісненої рідини.

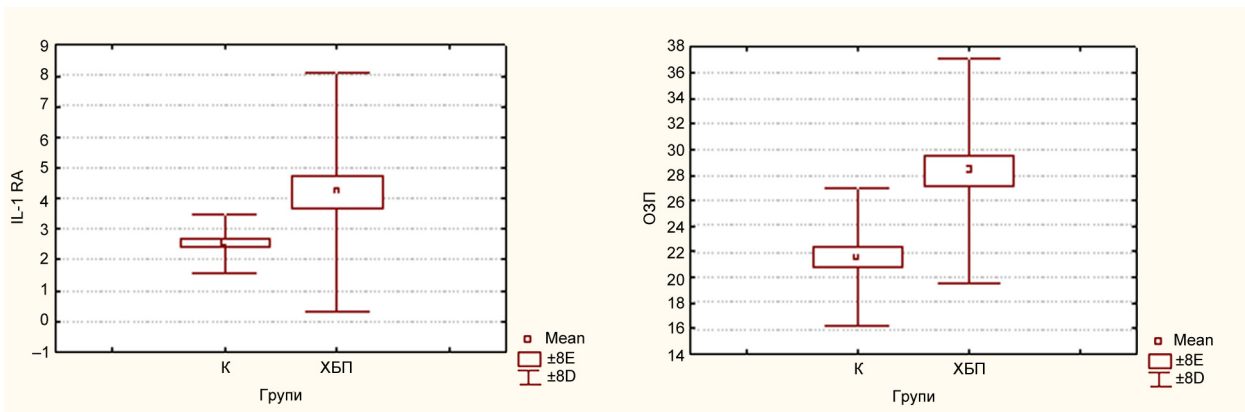


Рис. 1. Рівні цитокінів у контрольній та експериментальній групах

Кров для дослідження тварин брали із серця. Дослідження цитокінового профілю проводилося через 12 тижнів після ін'єкції гліцериним методом імуноферментного аналізу в сироватці крові. Визначення рівня антагоніста рецептора інтерлейкіну-1 здійснювали за допомогою набору Вектор-Бест (Росія, Новосибірськ). Визначення рівня остеопротегерину проводили із застосуванням набору (eBioscience, Австрія).

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

Результати дослідження та їх обговорення

При дослідженні щільності кістки було відзначено її достовірне зниження в групі тварин з моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини при ХХН (експериментальна група) ($1,431 \pm 0,038$ г/см³) порівняно з контрольною групою ($1,618 \pm 0,039$ г/см³), що підтверджує порушення ремоделювання кістки в цій групі.

Як видно з рис. 1, у тварин експериментальної групи показник вмісту в крові цитокіну ІЛ-1 РА ($4,2 \pm 0,55$ пг/мл) був достовірно вищим, ніж у інтактних тварин ($2,5 \pm 0,13$ пг/мл) ($p < 0,05$). Рівень ОПГ ($28,3 \pm 1,22$ пг/мл) був достовірно вищим за показники тварин з контрольної групи ($21,6 \pm 0,76$ пг/мл). Вміст ІЛ-1 РА підвищувався на 66%, ОПГ – на 31%. Найбільш значним було збільшення вмісту протизапального цитокіну ІЛ-1 РА, який синтезується для запобігання запальним реакціям, зумовленим ІЛ-1.

При проведенні кореляційного аналізу було виявлено, що рівень ІЛ-1 РА негативно корелював з рівнем ОПГ у контрольній групі й у групі із ХХН, однак кореляція в контрольній групі не була значущою (табл. 1).

Таблиця 1. Кореляції параметрів в контрольній та експериментальній групах

Групи	Контрольна група	Група з моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини при ХХН
Цитокіни	ІЛ-1 РА	ІЛ-1 РА
ОПГ	-0,25	-0,31*

Примітка. * – вірогідні відмінності між групами, $p < 0,05$.

Наші дослідження показали збільшення сироваткового рівня ОПГ у групі із ХХН, де підтверджено зниження мінеральної щільності кістки. Часто феномен підвищення ОПГ при ХХН пояснюють редукцією величини швидкості клубочкової фільтрації, тобто вміст ОПГ у сироватці крові негативно корелює зі швидкістю клубочкової фільтрації [7]. Можна також припустити, що підвищення рівня ОПГ являє собою гомеостатичну відповідь на запалення при ХХН й таким чином регулює рівень кісткової маси. Крім того, підвищення рівня ОПГ у групі із ХХН може свідчити про активацію Т-клітин. Ці припущення підтверджуються дослідженнями ряду авторів, які надали докази зв'язку між ОПГ і кістковими порушеннями в умовах хронічного запалення [8, 9]. Таким чином, збільшення вмісту ОПГ у сироватці крові тварин у групі із ХХН можна розглядати як компенсаторну реакцію на підвищення активності остеокластів, а також як Т-клітинну імунну відповідь на запалення, що також підтверджується негативною кореляцією рівня ОПГ з рівнем протизапального цитокіну ІЛ-1 РА.

Висновки

Кореляції рівнів цитокінів у тварин обох груп демонструють взаємозв'язок у системі регуляції ремоделювання кісткової тканини. Характер зміни рівнів ІЛ-1РА і остеопротегерину демонструє зворотню спрямованість процесів, що дозволяє припустити існування механізму зворотнього негативного зв'язку між порушеннями кісткового метабо-

лізму й нирковою патологією, що реалізується у вигляді міжклітинних медіаторів.

Також можна припустити, що остеопротегерин відіграє значну роль не тільки у процесях ремоделювання кістки, але й у розвитку ХБП.

Література

1. Gal-Moscovici A., Sprague S.M. Bone health in chronic kidney disease mineral and bone disease // *Adv. Chronic Kidney Dis.* – 2007. – 14 (1). – P. 27–36.
2. Lewis R. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease: new insights into mechanism and management // *Ann Clin Biochem.* – 2012. – 49 (5). – P. 432–440.
3. Ford M.L., Smith E.R., Tomlinson L.A. et al. FGF-23 and osteoprotegerin are independently associated with myocardial damage in chronic kidney disease stages 3 and 4. Another link between chronic kidney disease-mineral bone disorder and the heart // *Nephrol Dial Transplant.* – 2012. – 27 (2). – P. 727–733.
4. Jiang J.Q., Lin S., Xu P.C. et al. Serum osteoprotegerin measurement for early diagnosis of chronic kidney disease-mineral and bone disorder // *Nephrology (Carlton).* – 2011. – 16 (6). – P. 588–594.
5. Кондаков І.І., Топчий І.І., Кірієнко О.М. Вплив гліцеролу на функціонально-морфологічні показники нирок при моделюванні гострої та хронічної ниркової недостатності у щурів // *Український журнал нефрології та діалізу.* – 2013. – №3 (39). – С. 14–20.
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. Kazama J.J., Shigematsu T., Yano K. et al. Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure // *Am J Kidney Dis.* – 2002. – 39 (3). – P. 525–532.
8. Moschen A.R., Kaser A., Enrich B. et al. The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss // *Gut.* – 2005. – 54. – P. 479–487.
9. Nascimento M.M., Hayashi S.Y., Riella M.C. et al. Elevated levels of plasma osteoprotegerin are associated with all-cause mortality risk and atherosclerosis in patients with stages 3 to 5 chronic kidney disease // *Braz J Med Biol Res.* – 2014. – 22. – P. 1–8.

РОЛЬ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ВТОРИЧНОГО ОСТЕОПОРОЗА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

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

*Харьковская медицинская академия
последипломного образования*

Резюме. В молекулярных механизмах формирования остеопороза ключевую роль играет остеопротегерин (ОПГ), сывороточный уровень которого возрастает с прогрессированием хронической болезни почек (ХБП). Была исследована взаимосвязь между уровнем остеопротегерина и антагониста рецептора интерлейкина-1 в механизмах развития вторичного остеопороза при моделировании ХБП. Выявлено увеличение содержания ОПГ в

сыворотке крови животных в группе с ХБП, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию на повышенные активности остеокластов, а также как Т-клеточный иммунный ответ на воспаление. Таким образом, можно предположить, что ОПГ играет значительную роль в нарушениях минеральной плотности кости при ХБП.

Ключевые слова: остеопротегерин, цитокины, ремоделирование костной ткани, хроническая болезнь почек.

ROLE OF OSTEOPROTEGERIN IN THE MECHANISMS OF SECONDARY OSTEOPOROSIS IN MODELING CHRONIC KIDNEY DISEASE

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

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate
Education*

Summary. In base of pathogenesis of osteoporosis may lie several types of primary disease. Chronic kidney disease (CKD) is a factor of violations of bone remodeling and osteoporosis. In the molecular mechanisms of formation of osteoporosis a key role plays osteoprotegerin (OPG), which is a glycoprotein belonging to a family of tumor necrosis factor receptors. It blocks the binding of RANK and RANK-ligand, thereby inhibiting the mobilization, proliferation and activation of osteoclasts. At the same time, serum OPG increased with the progression of CKD, which may indicate a potential role of OPG in violations of bone mineral density in CKD.

The aim. We examine the relationship between the level of OPG and receptor antagonist of interleukin-1 (IL-1 RA) in the mechanisms of secondary osteoporosis in simulating renal disorders.

Methods. The experiments were performed in 2 groups of albino rats: 1 – control group (intact animals), 2 – a group of animals with a model of chronic kidney disease. Experimental model of violation of bone remodeling in CKD was induced by acute kidney injury. Disorders of bone remodeling were monitored by direct measurement of bone density.

Results. Was confirmed a decrease in bone mineral density compared to the control in animals of the experimental group, while the parameters in the blood levels of the cytokine IL-1 RA and OPG were significantly higher than in control group of animals. Increase OPG level in the blood serum of animals in the group with CKD can be considered as a compensatory response to increased activity of the osteoclasts, as well as T-cell immune response to inflammation, which is also confirmed by a negative correlation of OPG level with level of anti-inflammatory cytokine IL-1 RA.

Conclusions. The nature of changes in the levels of IL-1 RA and osteoprotegerin demonstrates the opposite direction of processes, which suggests the existence of a mechanism of negative feedback between the disorders of bone metabolism and renal disease, which is realized in the form of data intercellular mediators. Also, it can be assumed that OPG plays an important role not only in the bone remodeling process, but also in the development of CKD.

Keywords: osteoprotegerin, cytokines, bone remodeling, chronic kidney disease.