

**МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ПРОЦЕССОВ
РЕГУЛЯЦИИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ****Харьковская медицинская академия последипломного образования****(г. Харьков)****cndl@med.edu.ua**

Публикация является фрагментом научно-исследовательской работы Харьковской медицинской академии последипломного образования «Клеточно-молекулярные механизмы воспаления, ассоциированного с хроническими заболеваниями», № государственной регистрации 0115U001186.

Вступление. Воспаление является патологическим признаком широкого спектра хронических заболеваний и оказывает существенное влияние на ремоделирование кости, вызывая остеопороз. Воспаление модулирует резорбцию костной ткани главным образом за счет способности провоспалительных цитокинов вызывать дисбаланс в системе RANKL/OPG, стимулируя остеокластогенез [10].

Применение глюкокортикоидов приводит к снижению активности воспалительных процессов, что должно способствовать нормализации ремоделирования кости. Однако имеются данные, что сами глюкокортикоиды оказывают значительное негативное воздействие на кости, которое трудно отделить от последствий собственно воспаления [13]. Возникает своеобразный баланс между положительным и отрицательным действием глюкокортикоидов, которое во многом реализуется через одни и те же медиаторы, в том числе медиаторы воспаления. В нашем исследовании изучалось влияние глюкокортикоидов на ремоделирование кости, реализуемое посредством медиаторов воспаления. Глюкокортикоиды уменьшают выработку провоспалительных цитокинов, но вызывают резорбцию костной ткани за счет увеличения экспрессии RANKL и снижения экспрессии остеопротегерина в клетках остеобластов. Как следствие, наблюдается увеличение продолжительности жизни остеокластов, контрастирующее с уменьшением продолжительности жизни остеобластов, что приводит к уменьшению образования костной ткани [3]. Глюкокортикоиды оказывают прямое воздействие на остеокласты, стимулируя внутриклеточные сигнальные пути, связанные с воспалением. Глюкокортикоиды влияют на формирование остеокластов, не непосредственно стимулируя активность сигнального пути RANK, а путем ингибирования продукции интерферона-бета (ИФН-β) [4]. ИФН-β оказывает существенное ингибирующее действие на RANKL и замедляет остеокластогенез. Таким образом, глюкокортикоиды могут снижать подавляющие остеокластогенез уровни цитокинов, такие как ИФН-β, что приводит к увеличению числа остеокластов и потере костной ткани.

Для оценки выраженности воспалительной реакции применяется определение уровня С-реактивного

белка (СРБ), который является наиболее специфичным и чувствительным клинико-лабораторным индикатором воспаления, а также может быть полезным для оценки тяжести заболеваний [8]. СРБ производится главным образом в печени и синтезируется гепатоцитами в ответ на действие провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 и ИЛ-6. Высокие уровни этого маркера связаны с большим риском переломов. СРБ индуцирует экспрессию RANKL (активатора рецептора NF-κB-лиганд), стимулирует остеокластогенез и резорбцию костной ткани [11].

Важную роль в активации воспалительного процесса играет галектин-3, который представляет собой b-галактозид-связывающий белок, принадлежащий к семейству галектинов и состоящий из более чем десяти белков. Он является одним из ключевых звеньев между воспалением и фиброзом и играет немаловажную роль в синтезе фибриллярного коллагена [9].

Цель исследования: изучение клеточно-молекулярных механизмов нарушения процессов регуляции ремоделирования костной ткани, отражаемых маркерами воспаления (на примере С-реактивного белка и галектина-3), при экспериментальном глюкокортикоидном остеопорозе.

Объект и методы исследования. Экспериментальное исследование проводилось в 2 группах белых крыс самок в возрасте 9 мес. массой 250 + 30 г. 1 группа – группа животных с нарушением ремоделирования костной ткани с помощью глюкокортикоидов – 18 крыс, 2 группа (контроль) – 10 крыс. Создание модели экспериментального нарушения ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами проводили путем введения дексаметазона фосфата 6 мг/кг веса внутримышечно дважды в неделю в течение месяца [7]. Контрольная группа – интактные животные.

Эксперименты проведены в соответствии с принципами «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1986) и «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Нарушение ремоделирования костной ткани верифицировалось измерением плотности кости [2].

Для количественного определения уровня С-реактивного белка в сыворотке крови животных был использован набор реагентов СРБ-ИФА-Бест (высокочувствительный) (Россия). Уровень галектина-3 определяли с помощью набора eBioscience (Австрия). Исследования проводили методом иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка результатов была проведена 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 исследований и их обсуждение. Измеренная минеральная плотность костной ткани (МПКТ) животных группы с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами была пониженной по сравнению с МПКТ животных контрольной группы (1,41 г/см³ и 1,62 г/см³, соответственно ($p < 0,05$)).

В группе животных с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами уровни воспалительных маркеров были ниже по сравнению с концентрациями этих биомаркеров у крыс контрольной группы (**табл.**).

Снижение концентрации СРБ в сыворотке крови экспериментальных животных является действием выраженного противовоспалительного действия глюкокортикоидов. Дексаметазон ингибирует накопление макрофагов и нейтрофилов на участках воспаления, что приводит к снижению продукции провоспалительных медиаторов [12]. Вероятно, глюкокортикоиды сокращают производство СРБ посредством подавления экспрессии провоспалительных цитокинов, являющихся основным путем сигнализации для экспрессии СРБ гепатоцитами. Таким образом, снижение уровня сывороточного СРБ в группе животных с глюкокортикоидной моделью нарушений костного метаболизма происходит из-за сокращения объемов производства провоспалительных цитокинов, что является результатом действия дексаметазона, с помощью которого в этой группе создавались нарушения ремоделирования костной ткани.

Дексаметазон также вызывает снижение экспрессии галектина-3, а интенсивность изменения уровня галектина-3 зависит от вида и концентрации препарата [6]. Кроме того, противовоспалительная активность глюкокортикоидов обусловлена их способностью оказывать угнетающее действие на функциональную активность клеток путем запуска программы апоптоза [1]. Вероятно, на более поздних стадиях экспериментального остеопороза усиливается апоптоз клеток, вызванный действием глюкокортикоидов, что характеризуется снижением экспрессии галектина-3. Клетки теряют способность к пролиферации и их гибель путем апоптоза преобладает над компенсаторной пролиферацией, что приводит к снижению уровня галектина-3.

В группе животных с глюкокортикоидной моделью нарушений костного ремоделирования была выявлена отрицательная корреляция между уровнем СРБ и минеральной плотностью костной ткани ($r = -0,75$ ($p < 0,05$)) (**рис.**). Обратная связь между СРБ (надежным маркером воспаления) и минеральной плотностью костной ткани была обнаружена другими исследователями [5]. В контрольной группе статистически достоверная корреляция между этими показателями обнаружена не была, но наблюдалась такая же тенденция изменения уровней данных маркеров ($r = -0,47$).

Таблица.

Маркеры воспаления у крыс контрольной и экспериментальной групп

Маркеры воспаления	Группы	
	Контрольная (К)	Группа с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами
СРБ, мг/л	1,036 ± 0,05	0,664 ± 0,032*
Галектин-3, нг/мл	1,151 ± 0,072	1,117 ± 0,069

Примечание. * — ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Хроническое воспаление характеризуется повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов, что приводит к нарушению равновесия между про- и противовоспалительными цитокинами. Основным эффектом глюкокортикоидов является ингибирование синтеза провоспалительных цитокинов путем подавления экспрессии генов, которые их кодируют. Действие глюкокортикоидов при экспериментальном остеопорозе смещает баланс в сторону противовоспалительных цитокинов, что характеризуется снижением СРБ в нашем исследовании. Однако повышение уровней противовоспалительных цитокинов, по-видимому, приводит по принципу обратной связи к увеличению производства провоспалительных цитокинов, стимулирующих остеокластогенез, что находит отражение в снижении минеральной плотности костной ткани в группе животных с глюкокортикоидной моделью нарушений костного ремоделирования. Снижение уровней СРБ при низких показателях МПКТ у крыс этой группы может свидетельствовать о сложности и неоднозначности процессов регуляции костного ремоделирования, отражаемых маркером воспаления.

Выводы. Применение глюкокортикоидов привело к снижению уровней СРБ и галектина-3 в группе животных с нарушением ремоделирования костной ткани, что отражает нарушения процессов регуляции ремоделирования костной ткани и может являться одним из звеньев в механизмах развития патологического процесса.

Обнаруженная обратная связь между уровнем С-реактивного белка и минеральной плотностью

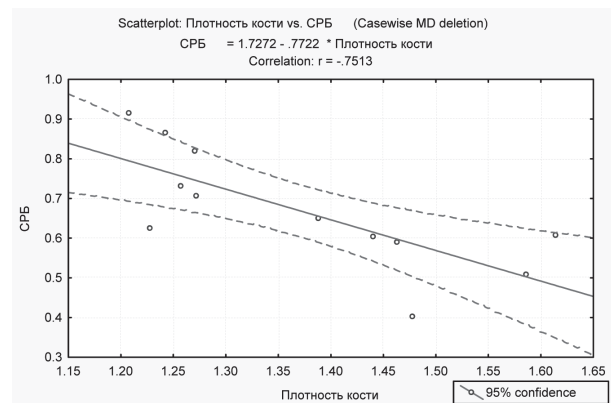


Рис. Корреляция между уровнем СРБ и минеральной плотностью костной ткани в группе животных с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами.

костной ткани и ее отсутствие для галектина-3 дает возможность использовать СРБ в качестве маркера нарушений ремоделирования костной ткани при воздействии глюкокортикоидов.

Перспективы дальнейших исследований. Дальнейшие исследования должны определить степень участия С-реактивного белка и галектина-3 в регуляции процесса ремоделирования костной ткани с учетом их роли в воспалительных процессах.

Литература

1. Мустафин И.Г. Механизмы глюкокортикоид-индуцированного апоптоза лимфоцитов крови при atopической бронхиальной астме / И.Г. Мустафин, Р.С. Фассахов, С.В. Бойчук // Казанский медицинский журнал. – 2002. – № 3. – С. 182-185.
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. Briot K. Glucocorticoid-induced osteoporosis / K. Briot, C. Roux // RMD Open. – 2015. – Vol. 1 (1): e000014. — doi:10.1136/rmdopen-2014-000014.
4. Cooper M.S. Sensitivity of bone to glucocorticoids / M.S. Cooper // Clinical Science. – 2004. – Vol. 107 (2). – P. 111-123. — doi:10.1042/CS20040070.
5. C-Reactive Protein, Bone Strength, and Nine-Year Fracture Risk: Data From the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) / S. Ishii, J.A. Cauley, G.A. Greendale [et al.] // J Bone Miner Res. – 2013. – Vol. 28 (7). — 21 p. — doi: 10.1002/jbmr.1915.
6. Dabelic S. Hydrocortisone and dexamethasone affect galectin-3 expression / S Dabelic, J. Dumic, M. Flögel // Periodicum Biologorum. – 2005. – Vol. 107 (2). – P. 175-181.
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. 737-43, 747. [Article in Chinese]
8. Iqbal T. Dexamethasone in treatment of community acquired pneumonia in children: a randomised control trial / T. Iqbal, A.K. Jaiswal, A. Kumar // Int J Contemp Pediatr. – 2017. – Vol. 4 (1). – P. 9-14. — doi: http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20164180.
9. Li L. Functions of Galectin-3 and Its Role in Fibrotic Diseases / L. Li, J. Li, J. Gao // J Pharmacol Exp Ther. – 2014. – Vol. 351 (2). – P. 336-343. — doi: https://doi.org/10.1124/jpet.114.218370.
10. Redlich K. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention / K. Redlich, J.S. Smolen // Nature Reviews Drug Discovery. – 2012. – Vol. 11. – P. 234-250. — doi:10.1038/nrd3669.
11. Role of C-reactive protein in osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis / K.W. Kim, B.M. Kim, H.W. Moon [et al.] // Arthritis Res Ther. – 2015. – Vol. 17 (1). — P. 41. — doi:10.1186/s13075-015-0563-z.
12. The Effect of Dexamethasone on the Dynamics of Inflammation, Cortisol and analgesia in Lower Limb Surgery / A.T. Musba, H. Tanra, I. Yusuf, R. Ahmad // J Pain Relief. – 2015. – Vol. 4 (4). — P. 186. — doi:10.4172/2167-0846.1000186.
13. Weinstein R.S. Glucocorticoid-Induced Bone Disease / R.S. Weinstein // N Engl J Med. – 2011. – Vol. 365. – P. 62-70. — doi:10.1056/NEJMcp1012926.

УДК 616.71-007.23:616-002.2]-076-092.9

МАРКЕРИ ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ПОРУШЕННЯХ ПРОЦЕСІВ РЕГУЛЯЦІЇ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

Павлов С. Б., Кумечко М. В., Бабенко Н. М., Семко Н. Г.

Резюме. Метою роботи було вивчення клітинно-молекулярних механізмів порушення процесів регуляції ремоделювання кісткової тканини, що відображаються маркерами запалення (на прикладі С-реактивного білка і галектина-3), при експериментальному глюкокортикоїдному остеопорозі. Було виявлено зниження вмісту С-реактивного білка ($0,664 \pm 0,032$ мг/л) і галектина-3 ($1,117 \pm 0,069$ нг/мл) в сироватці крові тварин з порушенням ремоделювання кісткової тканини глюкокортикоїдами в порівнянні з вмістом досліджуваних маркерів запалення у тварин контрольної групи ($1,036 \pm 0,05$ мг/л, $1,151 \pm 0,072$ нг/мл відповідно). Виявлений зворотний зв'язок між рівнем С-реактивного білка і мінеральною щільністю кісткової тканини і його відсутність для галектина-3 дає можливість використовувати СРБ як маркер порушень ремоделювання кісткової тканини при впливі глюкокортикоїдів.

Ключові слова: запалення, ремоделювання кісткової тканини, глюкокортикоїди, С-реактивний білок, галектин-3, цитокіни.

УДК 616.71-007.23:616-002.2]-076-092.9

МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ПРОЦЕССОВ РЕГУЛЯЦИИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

Павлов С. Б., Кумечко М. В., Бабенко Н. М., Семко Н. Г.

Резюме. Целью работы было изучение клеточно-молекулярных механизмов нарушения процессов регуляции ремоделирования костной ткани, отражаемых маркерами воспаления (на примере С-реактивного белка и галектина-3), при экспериментальном глюкокортикоидном остеопорозе. Было обнаружено снижение содержания С-реактивного белка ($0,664 \pm 0,032$ мг/л) и галектина-3 ($1,117 \pm 0,069$ нг/мл) в сыворотке крови животных с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами по сравнению с содержанием исследуемых маркеров воспаления у животных контрольной группы ($1,036 \pm 0,05$ мг/л, $1,151 \pm 0,072$ нг/мл соответственно). Обнаруженная обратная связь между уровнем С-реактивного белка и минеральной плотностью костной ткани и ее отсутствие для галектина-3 дает возможность использовать СРБ в качестве маркера нарушений ремоделирования костной ткани при воздействии глюкокортикоидов.

Ключевые слова: воспаление, ремоделирование костной ткани, глюкокортикоиды, С-реактивный белок, галектин-3, цитокины.

UDC 616.71-007.23:616-002.2]-076-092.9

MARKERS OF INFLAMMATION IN THE VIOLATION OF THE PROCESSES OF REGULATION OF BONE RE-MODELING

Pavlov S. B., Kumechko M. V., Babenko N. M., Semko N. G.

Abstract. Inflammation is a pathological symptom of a wide spectrum of chronic diseases and has a significant impact on bone remodeling, causing osteoporosis. Glucocorticoids also have a significant negative impact on the bones, which are difficult to separate from the effects of the inflammation. Glucocorticoids decrease the production of proinflammatory cytokines, is associated with bone resorption by increasing the expression of RANKL and decrease osteoprotegerin expression by osteoblasts. They have a direct effect on osteoclasts by activating intracellular signaling pathways related to inflammation.

Aim. Studied cell-like and molecular mechanisms of disorders of bone remodeling, at the experimental osteoporosis caused by glucocorticoids. Assessment of the role of inflammation in these processes was carried out through analysis of serum C-reactive protein (CRP) and galectin-3.

Material and methods. In an experiment 2 groups of white rats of females were investigated. Violation of bone remodeling was verified by measurement of bone density. Levels of serum CRP and galectin-3 were studied by ELISA in blood serum of the animals.

Results. The mineral density of a bone in animals from group with violation of bone remodeling by glucocorticoids, was lower, than in animals of control group. Decrease in content of C-reactive protein ($0,664 \pm 0,032$ mg/l) and galectin-3 ($1,117 \pm 0,069$ ng/ml) in blood serum of animals with violation of bone remodeling by glucocorticoids, compared with the control, was revealed ($1,036 \pm 0,05$ mg/l, $1,151 \pm 0,072$ ng/ml respectively). The decrease of the level of CRP in the group of animals with the glucocorticoid model of disorders of bone metabolism likely occurs because of reduced production of proinflammatory cytokines. What is the result of the action of glucocorticoids. In the later stages of experimental osteoporosis increases the apoptosis induced by the glucocorticoids. This is accompanied by reduced expression of galectin-3. Effect of glucocorticoids in experimental osteoporosis shifts the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines towards anti-inflammatory cytokines. This is manifested as a reduction in the level of CRP. Increasing levels of anti-inflammatory cytokines, apparently, leads to a feedback increase the production of pro-inflammatory cytokines, stimulating osteoclastogenesis. This leads to a reduction of bone mineral density in the group of animals with the glucocorticoid model of disorders of bone metabolism.

Conclusions. The use of glucocorticoids led to lower levels of CRP and galectin-3 in the group of animals with impaired bone remodeling. This affects the violation of the processes of regulation of bone remodeling and may be one link in the mechanisms of development of pathological process. There was an inverse relationship between the level of C-reactive protein and bone mineral density. For galectin-3, this interaction is not detected. This indicates the important role of the features of inflammation in the mechanisms of disorders of bone remodeling. We assume that it is possible to use CRP as a marker of disorders of bone remodeling under the influence of glucocorticoids.

Keywords: inflammation, bone remodeling, C-reactive protein, galectin-3, glucocorticoids, cytokines.

Рецензент — проф. Скрипник І. М.

Стаття надійшла 09.02.2017 року

© Палиця Л. М., Корда М. М.

УДК 617.155.34-002.4/826:547.533-06

Палиця Л. М., Корда М. М.

**ФУЛЕРЕНИ C₆₀ ПІДВИЩУЮТЬ ВИКЛИКАНИЙ ТОЛУОЛОМ
РІВЕНЬ АПОПТИЧНО ТА НЕКРОТИЧНО
ЗМІНЕНИХ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)**

palicalm@tdmu.edu.ua

Дана робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу», № державної реєстрації 0116U003353.

Вступ. XXI століття — це час нанотехнологій, наномедицини, нанобіології, нанофармакології [2,7]. В умовах масового екологічного навантаження наноматеріалів на навколишнє середовище вони можуть впливати на організм людини не ізольовано, а і в поєднанні з великим числом різних речовин хімічного та біологічного походження, що є контамінтами об'єктів навколишнього середовища. Це становить

особливу небезпеку, оскільки існує вірогідність посилення токсичних ефектів хімічних речовин під дією наночастинок, що пов'язано з можливістю адсорбції традиційних токсикантів на наночастинках і, як результат, полегшення їх транспорту в клітини організму. Тому виникає питання про необхідність фундаментального розуміння токсикологічних властивостей наночастинок при їх попаданні в організм разом з «класичними» хімічними токсикантами.

Мета дослідження. Метою даної роботи було оцінити інтегральний ефект фулеренів (C₆₀) і хімічного токсиканта толуолу на ступінь утворення активних