

УЧАСТИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β И γ -ИНТЕРФЕРОНА В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

Харьковская медицинская академия последипломного образования (г. Харьков)

cndl@med.edu.ua

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

Вступление. Ремоделирование кости – это связанный цикл опосредованной остеокластами резорбции кости, за которой следует активированное остеобластами образование костной ткани. Нарушение ремоделирования костной ткани лежит в основе остеопороза, который может быть вызван многими факторами, в том числе осложнениями глюкокортикоидной терапии. Индуцированный глюкокортикоидами остеопороз характеризуется повышенным апоптозом остеобластов и остеоцитов, приводящим к уменьшению образования костей и нарушению ремоделирования костной ткани [1]. Важным молекулярным механизмом действия глюкокортикоидов является ингибирование факторов транскрипции NF- κ B и белка-активатора (activator protein) – AP-1. Наблюдается ингибирование синтеза провоспалительных цитокинов, прежде всего интерлейкина-1 (ИЛ-1), γ -интерферона (ИНФ- γ) и других [2].

Ремоделирование костной ткани регулируется различными медиаторами иммунной системы, такими как фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α), ИЛ-1 β , ИЛ-6 или ИНФ- γ [3]. Остеокластогенные цитокины, включая ИЛ-1, способствуют дифференцировке остеокластов, тогда как антиостеокластогенные цитокины, такие как ИНФ- γ , подавляют дифференцировку остеокластов [4].

Цель исследования: изучение роли межклеточных медиаторов (на примере интерлейкина-1 β и γ -интерферона) в механизмах регуляции процессов ремоделирования костной ткани под воздействием глюкокортикоидов.

Объект и методы исследования. Экспериментальное исследование проводилось в 2 группах (по 10 животных) белых крыс в возрасте 9 мес массой 210 $\pm$ 30 г. Создание модели экспериментального нарушения ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами проводили путем введения дексаметазона фосфата 1 мг/кг внутримышечно каждый день в течение 14 дней [5]. 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 контролировали с помощью прямого измерения плотности кости, которую рассчитывали как отношение массы кости (граммы) к ее объему (сантиметры кубические) [6].

Исследование интерлейкина-1 β и γ -интерферона проводилось методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови с использованием наборов реагентов Вектор-Бест (Россия).

Статистическая обработка результатов была проведена с применением пакета анализа Statistica 6.0. Для описания полученных результатов данные представляли в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего арифметического. Статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Измеренная минеральная плотность костной ткани животных группы с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами была достоверно ниже по сравнению с плотностью кости животных контрольной группы (1,477 $\pm$ 0,021 г/см³ и 1,584 $\pm$ 0,034 г/см³ соответственно, $p < 0,05$).

Уровень ИЛ-1 β у крыс группы с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами был достоверно выше в сравнении с контролем (5,227 $\pm$ 0,324 пг/мл и 1,846 $\pm$ 0,208 пг/мл соответственно, $p < 0,05$).

Уровень ИНФ- γ животных группы с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами был незначительно повышен в сравнении с интактными животными (29,59 $\pm$ 2,217 пг/мл и 28,569 $\pm$ 2,595 пг/мл соответственно, $p > 0,05$).

Известно, что ИЛ-1 β является многофункциональным и одним из наиболее мощных провоспалительных цитокинов [7]. Было показано, что он стимулирует резорбцию костей посредством регуляции лиганда рецептора активатора ядерного фактора κ B (RANKL) [8], стимулирует активность остеокластов за счет увеличения продуцирования макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) и ингибирует апоптоз остеокластов [9]. Также данный цитокин увеличивает синтез простагландинов, стимулирующих резорбцию кости [10]. Кроме того, ИЛ-1 β ингибирует остеобластогенез, уменьшая образование новой кости. Глюкокортикоиды частично ингибируют продукцию ИЛ-1, тем самым подавляя резорбцию костей [11].

Имеются данные, что глюкокортикоиды могут активировать воспалительные сигнальные пути. Так, фармакологические дозы дексаметазона увеличивают экспрессию TNF рецептора-ассоциированного фактора 6 (TRAF6), который соединяет воспалительные сигналы от мембранных рецепторов цитокинов, в том числе от рецептора ИЛ-1, с сетями транскрип-

ционных факторов, индуцирующих воспалительный ответ, такими, как NF-κB [12].

Увеличение содержания провоспалительного цитокина ИЛ-1β в нашем исследовании, можно, по-видимому, объяснить активированием воспалительных путей глюкокортикоидами, вступающим в противоречие с противовоспалительной ролью глюкокортикоидов.

ИНФ-γ – иммуномодулирующий цитокин с плейотропной ролью в костном метаболизме, по-видимому, является критическим регулятором резорбции кости. IFN-γ ингибирует дифференцировку остеокластов через деградацию TRAF6 [13]. В других исследованиях показано, что INF-γ опосредованно стимулирует образование остеокластов и способствует резорбции кости путем индукции антигензависимой активации Т-клеток и секреции Т-клеток остеокластогенными факторами [14].

Вероятно, влияние ИНФ-γ на образование остеокластов зависит от конкретных условий в микроокружении и концентраций других цитокинов, регулирующих дифференцировку предшественников остеокластов. В нашем исследовании уровень ИНФ-γ в основном не изменился, но это косвенно привело к изменению баланса противовоспалительных цитокинов.

Выводы. Таким образом, в группе животных с моделью нарушения ремоделирования костной ткани под воздействием глюкокортикоидов наблюдается увеличение уровней интерлейкина-1β и γ-интерферона, что приводит к дисбалансу в системе регуляции ремоделирования костной ткани.

Перспективы дальнейших исследований. Сложное взаимодействие между глюкокортикоидами и измененным гомеостазом кости является предметом интенсивного клинического интереса и требует дальнейших исследований.

Литература

1. Buehring B, Viswanathan R, Binkley N, Busse W. Glucocorticoid-induced osteoporosis: An update on effects and management. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:1019-30. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.08.040
2. Hudson WH, de Vera IMS, Nwachukwu JC, Weikum ER, Herbst AG, Yang Q, et al. Cryptic glucocorticoid receptor-binding sites pervade genomic NF-κB response elements. *Nat Commun.* 2018;9(1):1337. DOI: 10.1038/s41467-018-03780-1
3. Tilg H, Moschen AR, Kaser A, Pines A, Dotan I. Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts. *Gut.* 2008;57(5):684-94. DOI: 10.1136/gut.2006.117382
4. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Netw.* 2018;18(1):e8. DOI: 10.4110/in.2018.18.e8
5. Liu Y, Chen Y, Zhao H, Zhong L, Wu L, Cui L. Effects of different doses of dexamethasone on bone qualities in rats. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* 2011;28(4):737-43, 747. [in Chinese].
6. Podkovkin VG, Ivanov DG, Ivanov GA. Vliyanie postoyannogo magnitnogo polya na sostoyanie kostnoy tkani kryis s povyshennym urovnem rezorbtzii. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya.* 2008;7:13-6. [in Russian].
7. Piccioli P, Rubartelli A. The secretion of IL-1β and options for release. *Semin Immunol.* 2013;25:425-9. DOI: 10.1016/j.smim.2013.10.007
8. Ruscitti P, Cipriani P, Carubbi F, Liakouli V, Zazzeroni F, Di Benedetto P, et al. The Role of IL-1 β in the Bone Loss during Rheumatic Diseases. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:782382. DOI: 10.1155/2015/782382
9. Lacativa PGS, de Farias MLF. Osteoporosis and inflammation. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2010;54(2):123-32. DOI: 10.1590/S0004-27302010000200007
10. Redlich K, Smolen JS. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11(3):234-50. DOI: 10.1038/nrd3669
11. Ilias I, Ghayee H. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2015 Jan 7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278968/>
12. Sun H, Gong Y, Qiu J, Chen Y, Ding F, Zhao Q. TRAF6 inhibition rescues dexamethasone-induced muscle atrophy. *Int J Mol Sci.* 2014;15:11126-41. DOI: 10.3390/ijms150611126
13. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-γ. *Nature.* 2000;408(6812):600-5. DOI: 10.1038/35046102
14. Gao Y, Grassi F, Ryan MR, Terauchi M, Page K, Yang X, et al. IFN-γ stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. *J Clin Invest.* 2007;117(1):122-32. DOI: 10.1172/JCI30074

УЧАСТЬ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1β І γ-ІНТЕРФЕРОНУ В МЕХАНІЗМАХ РЕГУЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПІД ВПЛИВОМ ГЛЮКОКОРТИКОЇДІВ

Павлов С. Б., Бабенко Н. М., Кумечко М. В., Семко Н. Г., Кочкіна С. В., Хлібосолюва Т. О.

Резюме. Метою роботи було вивчення ролі міжклітинних медіаторів (на прикладі інтерлейкіну-1β і γ-інтерферону) у механізмах регуляції процесів ремоделювання кісткової тканини під впливом глюкокортикоїдів. Було виявлено підвищення вмісту інтерлейкіну-1β ($5,227 \pm 0,324$ пг/мл) і γ-інтерферону ($29,59 \pm 2,217$ пг/мл) в сироватці крові тварин з порушенням ремоделювання кісткової тканини глюкокортикоїдами в порівнянні з вмістом досліджуваних цитокінів у тварин контрольної групи ($1,846 \pm 0,208$ пг/мл і $28,569 \pm 2,595$ пг/мл відповідно). Підвищення рівня досліджуваних цитокінів призводить до дисбалансу в системі регуляції ремоделювання кісткової тканини, що свідчить про важливу роль цих міжклітинних медіаторів у патогенезі індукованого глюкокортикоїдами остеопорозу.

Ключові слова: ремоделювання кісткової тканини, інтерлейкін-1β, γ-інтерферон, глюкокортикоїди, цитокіни, остеопороз.

УЧАСТИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β И γ -ИНТЕРФЕРОНА В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

Павлов С. Б., Бабенко Н. М., Кумечко М. В., Семко Н. Г., Кочкина С. В., Хлебосолова Т. А.

Резюме. Целью работы было изучение роли межклеточных медиаторов (на примере интерлейкина-1 β и γ -интерферона) в механизмах регуляции процессов ремоделирования костной ткани под воздействием глюкокортикоидов. Было обнаружено повышение содержания интерлейкина-1 β ($5,227 \pm 0,324$ пг/мл) и γ -интерферона ($29,59 \pm 2,217$ пг/мл) в сыворотке крови животных с нарушением ремоделирования костной ткани глюкокортикоидами по сравнению с содержанием исследуемых цитокинов у животных контрольной группы ($1,846 \pm 0,208$ пг/мл и $28,569 \pm 2,595$ пг/мл соответственно). Повышение уровня исследуемых цитокинов приводит к дисбалансу в системе регуляции ремоделирования костной ткани, что свидетельствует о важной роли этих межклеточных медиаторов в патогенезе индуцированного глюкокортикоидами остеопороза.

Ключевые слова: ремоделирование костной ткани, интерлейкин-1 β , γ -интерферон, глюкокортикоиды, цитокины, остеопороз.

PARTICIPATION OF INTERLEUKIN-1 β AND γ -INTERFERON IN MECHANISMS OF REGULATION OF BONE TISSUE REMODELATION PROCESSES UNDER IMPACT OF GLUCOCORTICOIDS

Pavlov S. B., Babenko N. M., Kumetchko M. V., Semko N. G., Kochkina S. V., Khlebosolova T. A.

Abstract. Disturbance of bone remodeling underlies osteoporosis, which can be caused by many factors, including complications of glucocorticoid therapy. Glucocorticoid-induced osteoporosis is characterized by increased apoptosis of osteoblasts and osteocytes, leading to a decrease in bone formation and alteration of bone tissue remodeling. Osteoclastogenic cytokines, including IL-1, contribute to the differentiation of osteoclasts, whereas anti-osteoclastogenic cytokines, such as INF- γ , inhibit the differentiation of osteoclasts.

Aim. To study the role of intercellular mediators (on the example of interleukin-1 β and γ -interferon) in the mechanisms of regulation of bone tissue remodeling processes under the influence of glucocorticoids.

Object and methods. Two groups of white rats were studied. Disorders of bone remodeling were verified by measurement of bone density. Levels of IL-1 β and INF- γ were determined by ELISA in the serum of animals.

Results. The mineral density of the bone tissue of the animals of the group with a violation of bone tissue remodeling by glucocorticoids was significantly lower in comparison with the bone density of the animals in the control group. The level of IL-1 β in the rats of the group with impaired bone remodeling of glucocorticoids was significantly higher in comparison with the control ($5,227 \pm 0,324$ pg/ml and $1,846 \pm 0,208$ pg/ml, respectively, $p < 0,05$). The level of the INF- γ group of animals with a violation of bone tissue remodeling by glucocorticoids was slightly increased in comparison with intact animals ($29,59 \pm 2,217$ pg/ml and $28,569 \pm 2,595$ pg/ml, respectively, $p > 0,05$).

IL-1 β is one of the most potent pro-inflammatory cytokines. It stimulates bone resorption by regulating the κ B (RANKL) nuclear factor activator receptor ligand and inhibits osteoclasts apoptosis. In addition, IL-1 β inhibits osteoblastogenesis, reducing the formation of a new bone. Glucocorticoids partially inhibit the production of IL-1, thereby inhibiting the resorption of bones. At the same time, glucocorticoids can activate inflammatory signaling pathways by increasing the expression of TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6), which connects inflammatory signals from the membrane receptors of cytokines, including the IL-1 receptor, to the networks of transcription factors inducing an inflammatory response. The increase in the content of the pro-inflammatory cytokine IL-1 β in our study can apparently be explained by the activation of inflammatory pathways by glucocorticoids, which contradict the anti-inflammatory role of glucocorticoids.

INF- γ is an immunomodulating cytokine with a pleiotropic role in bone metabolism, and its effect on the formation of osteoclasts depends on the specific conditions in the microenvironment and the concentrations of other cytokines that regulate the differentiation of osteoclast precursors. In our study, the level of INF- γ did not generally change, but this indirectly led to a change in the balance of anti-inflammatory cytokines.

Conclusions. In the group of animals with a model of disturbed bone tissue remodeling under the influence of glucocorticoids, an increase in the levels of interleukin-1 β and γ -interferon is observed, which leads to an imbalance in the system of regulation of bone remodeling. The complex interaction between glucocorticoids and altered bone homeostasis is the subject of intense clinical interest and requires further research.

Key words: bone remodeling, interleukin-1 β , γ -interferon, glucocorticoids, cytokines, osteoporosis.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Статья надійшла 11.05.2018 року