

УДК 616.71-007.234-076:616.61-036.1-092.9

С.Б. Павлов<sup>1</sup>, М.В. Кумечко<sup>1</sup>, А.В. Гончарова<sup>1</sup>,  
Н.М. Бабенко<sup>1</sup>, В.И. Савенков<sup>2</sup>

**РОЛЬ ЦИТОКИНОВ  
В РЕМОДЕЛИРОВАНИИ КОСТНОЙ  
ТКАНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ  
ХРОНИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ  
ПОЧЕК**

<sup>1</sup>*Харьковская медицинская академия  
последипломного образования*

<sup>2</sup>*Харьковский национальный медицинский  
университет*

S.B. Pavlov<sup>1</sup>, M.V. Kumechko<sup>1</sup>, A.V. Goncharova<sup>1</sup>,  
N.M. Babenko<sup>1</sup>, V.I. Savenkov<sup>2</sup>

**ROLE OF CYTOKINES IN BONE  
TISSUE REMODELING IN  
MODELING OF CHRONIC KIDNEY  
DISEASE**

<sup>1</sup>*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education*

<sup>2</sup>*Kharkiv National Medical University*

Выполнено исследование цитокинового профиля у экспериментальных животных при моделировании хронической болезни почек. Выявлены нарушения баланса между про- и противовоспалительными цитокинами, что отражается на метаболических процессах в костной ткани и на физиологической системе соединительной ткани в целом.

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

It was analyzed the cytokine profile on experimental model in chronic kidney disease. Imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines was detected. That affected on the metabolic processes in bone and physiological system of connective tissue as a whole.

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

Известно, что хроническая болезнь почек (ХБП) является фактором нарушения ремоделирования костной ткани и развития остеопороза [7, 11]. ХБП запускает сложный комплекс патологических реакций, приводящих к нарушениям костного метаболизма [9].

Важную роль в этом процессе играет неуклонно прогрессирующий склероз почки. Имеются сведения, что склероз носит вторичный заместительный характер и является следствием периодической реактивации воспалительного процесса в почке, который может иметь, например, инфекционный характер [8]. Известно также, что ХБП может развиваться после острого первичного инфекционного процесса на фоне отсутствия реинфицирования. Т.е. риск развития ХБП прочно ассоциируется с острой почечной недостаточностью (ОПН) [6, 13]. При этом решающую роль играет интенсивность первичного процесса, а не его природа [10]. При достижении тяжести ОПН определенного уровня может инициироваться хроническое прогрессирующее заболевание, носящее волнообразный характер, что, вероятно, происходит вследствие нарушений механизмов стереотипного ответа на повреждение.

Важную роль при этом могут играть нарушения со стороны физиологической системы соединительной ткани (ФССТ), все элементы которой находятся в тесной взаимосвязи и взаимозависимости, а изменения любого компонента этой системы отражаются на других, приводя к изменению всей системы в целом [1]. Можно предположить, что после полного устранения повреждающих факторов патологический процесс продолжает развиваться и углубляться, замыкая цепи обратной связи и вовлекая в себя новые компоненты ФССТ. Таким образом, ХБП приводит к нарушениям костного метаболизма, характеризующимся дисбалансом в механизмах ремоделирования костной ткани, которые, в свою очередь, могут приводить к развитию склероза почки, строма которой также является частью ФССТ. Механизмы реализации такого рода обратных связей стали проявляться только после открытия клеточных медиаторов – интерлейкинов, факторов роста и др. Поэтому изучение взаимосвязи между почечной и костной тканями посредством цитокинов представляет определенный интерес.

### Цель исследования

Изучение роли межклеточных медиаторов (на примере трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), интерлейкина-17 (ИЛ-17) и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (ИЛ-1 РА)) в механизмах нарушения ремоделирования костной ткани в эксперименте в процессе развития ХБП.

### Материалы и методы

Экспериментальное исследование проводилось в 2 группах (по 50 животных) белых крыс самок в возрасте 9 мес. массой  $210 \pm 30$  г в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Модель для изучения нарушений ремоделирования костной ткани выбиралась с учетом следующих

требований: индукция ХБП должна осуществляться посредством однократного воздействия высокой интенсивности, чему соответствует создание ОПН; фактор, создающий ОПН, должен иметь неинфекционную природу и полностью устраняться с течением времени; ХБП должна развиваться даже после устранения первичного воздействия, вызвавшего ОПН. Всем этим условиям отвечает модель индукции ХБП раствором глицерина [2].

Создание ОПН осуществляли путем однократного введения 50%-ного водного раствора глицерина в дозе 10 мл/кг массы тела животного. В данной экспериментальной модели через 8 недель после инъекции глицерина формируется хроническое нарушение выделительной функции почек. Основой ОПН являются дистрофические и некротические процессы в эпителии проксимальных и дистальных канальцев, а переход в стадию ХБП характеризуется формированием интерстициального нефрита и нефросклероза. Развитие ХБП контролировали в соответствии с методикой авторов модели. Нарушение ремоделирования костной ткани контролировали с помощью прямого измерения плотности кости, которую рассчитывали как отношение массы кости (г) к объему данной кости ( $\text{см}^3$ ) [3]. Объем кости определяли по объему вытесненной жидкости.

Контрольная группа – интактные животные. Исследование цитокинового профиля при моделировании остеопороза, являющегося последствием ХБП, проводилось через 12 недель после инъекции глицерина. Кровь для исследования животных брали из сердца.

Проводились исследования в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа. Уровни интерлейкина-17 и антагониста рецептора интерлейкина-1 (ИЛ-1 РА) определяли с помощью наборов реагентов Вектор-Бест (Россия, Новосибирск). Определение уровней TGF- $\beta 1$  производилось с помощью набора BioVendor (Чехия).

Математическая обработка результатов была проведена с помощью пакета статистического анализа Statistica 6.0. Различия между сравниваемыми показателями считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

При исследовании плотности кости было отмечено ее достоверное снижение в группе животных с моделью нарушения ремоделирования костной ткани при ХБП (экспериментальная группа) ( $1,431 \pm 0,038$  г/ $\text{см}^3$ ) по сравнению с контрольной группой ( $1,618 \pm 0,039$  г/ $\text{см}^3$ ), что подтверждает нарушение ремоделирования кости и развитие остеопороза в этой группе.

Как видно из рис. 1, у животных экспериментальной группы показатели содержания в крови цитокинов ИЛ-1 РА ( $4,207 \pm 0,546$  пг/мл) и ИЛ-17 ( $33,944 \pm 0,938$  пг/мл) были достоверно выше, чем у интактных животных ( $2,529 \pm 0,132$  пг/мл и  $28,166 \pm 0,526$  пг/мл соответственно) ( $p < 0,05$ ). Уровень TGF- $\beta 1$  ( $22,863 \pm 0,557$  нг/мл) был достоверно ниже показателей животных из контрольной группы ( $26,313 \pm 0,620$  нг/мл). Из этих цитокинов наименее значительным было увеличение уровня ИЛ-17, всего на 21 %. Содержание ИЛ-1 РА повышалось на 66%, TGF- $\beta 1$  – уменьшалось на 13 %. Наиболее значительным было увеличение содержания противовоспалительных

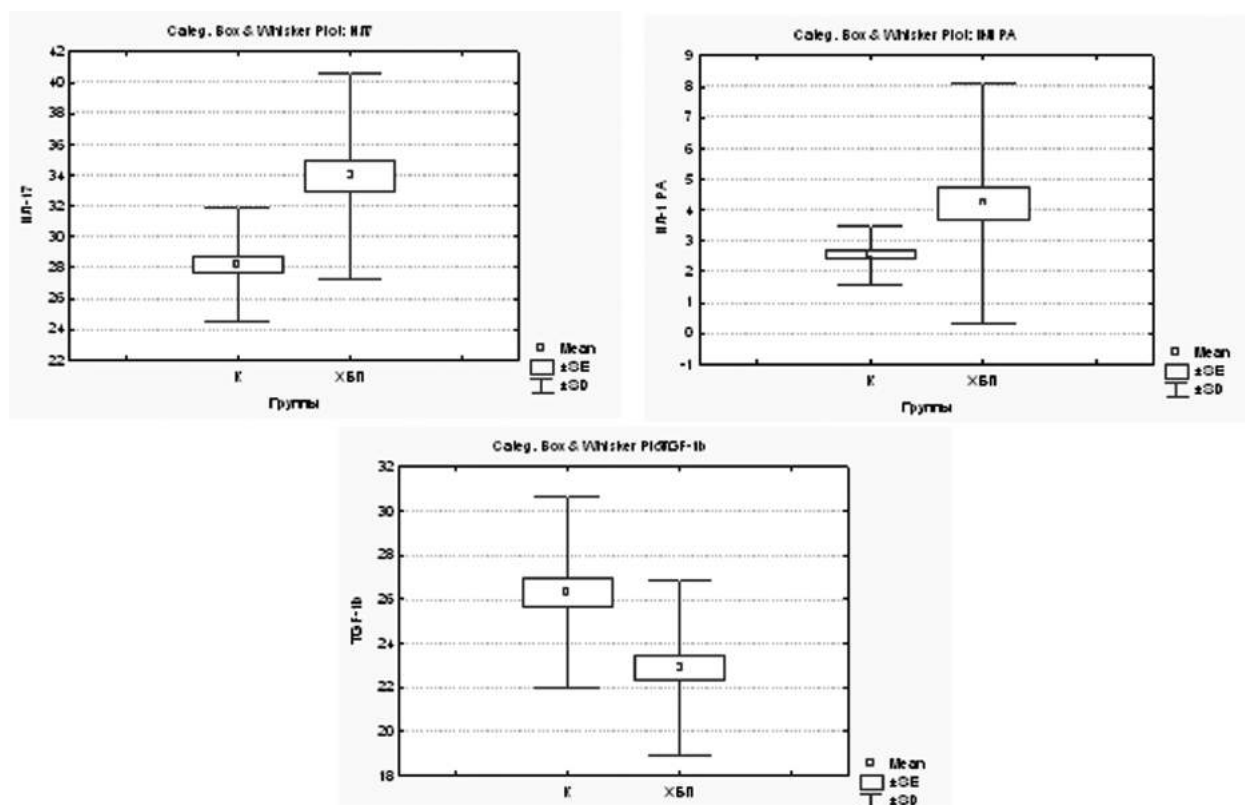


Рис. 1. Уровни цитокинов в контрольной и экспериментальной группах.

тельного цитокина ИЛ-1 РА, который синтезируется для предотвращения воспалительных реакций, опосредованных ИЛ-1. Одновременно с этим возрастала концентрация провоспалительного ИЛ-17, который стимулирует продукцию многих цитокинов, в том числе и ИЛ-1. Такой дисбаланс в содержании про- и противовоспалительных цитокинов в группе животных с ХБП характерен для сдвигов в системе Т-клеточного иммунного ответа, что, в свою очередь, свидетельствует о хронизации воспаления [12, 14].

Данные литературы свидетельствуют о повышенном содержании в сыворотке крови больных ХБП TGF-β1 как основного фактора, стимулирующего коллаген-продуцирующую активность фибробластов, что является одним из факторов прогрессирования заболеваний почек [4, 5]. На начальных этапах воспаления усиление продукции TGF-β1 ведет к восстановлению структуры поврежденного органа, обеспечивая быструю дифференцировку клеток и ремоделирование тканей. Результатом длительного синтеза TGF-β1 является гиперпролиферация фибробластов и развитие профибротических эффектов. В нашем случае в группе животных с ХБП наблюдается снижение уровня этого цитокина. Вероятно, это связано с длительным периодом формирования нару-

шений в экспериментальной модели. Процесс развития хронического воспаления в почке реализовался, а воспалительный процесс в кости перешел в фазу компенсаторных реакций.

При проведении корреляционного анализа было обнаружено 5 значимых корреляций параметров между собой ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Из них показателей с очень высокой ( $r > 0,8$ ) и высокой ( $0,8 > r > 0,6$ ) корреляцией не было; средние корреляции параметров ( $0,6 > r > 0,4$ ): уровень ИЛ-17 коррелировал с уровнем ИЛ-1 РА в контрольной и экспериментальной группах, причем в первом случае зависимость была прямой, а во втором – обратной. Уровень ИЛ-1 РА коррелировал с уровнем TGF-β1 в контрольной группе и в группе с ХБП, причем коэффициент корреляции также был положительным в первом случае и отрицательным во втором. Коэффициент корреляции остальных показателей был низким.

Рассматривая смену направлений корреляций между уровнями цитокинов ИЛ-1 РА и ИЛ-17 в контрольной и экспериментальной группах, можно предположить, что корреляция в группе с ХБП отражает взаимодействие цитокинов при развитии хронического воспаления. Этот этап характеризуется активностью провоспалительных цитокинов и недостаточ-

Таблица 1

**Корреляции параметров между собой в экспериментальных группах**

Группы	Контрольная группа		Группа с моделью нарушения ремоделирования костной ткани при ХБП	
	ИЛ-17	ИЛ-1 РА	ИЛ-17	ИЛ-1 РА
ИЛ-1 РА	0.41*		-0.58*	
TGF-β1	0.06	0.42*	0.29*	-0.53*

\*  $p < 0,05$

ным действием их ингибиторов и антагонистов. Что находит подтверждение в нашем случае, где присутствует обратная корреляция между провоспалительным ИЛ-17 и противовоспалительным ИЛ-1 РА. При этом средние уровни этих цитокинов в экспериментальной группе растут.

Вероятно, изменение направления корреляции между содержанием ИЛ-1 РА и TGF-β1 в экспериментальной группе связано с тем, что хроническое воспаление, перешедшее в компенсаторную фазу на уровне ФССТ, выступает как фактор, вызывающий повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-1РА и ингибирование TGF-β1. При этом баланс между уровнями цитокинов ИЛ-1 РА и TGF-β1 в контрольной группе смещается в сторону увеличения уровня ИЛ-1 РА и снижения уровня TGF-β1 в группе животных с ХБП.

### Заключение

Корреляции уровней цитокинов у животных обеих групп демонстрируют взаимосвязи в системе регуляции ремоделирования костной ткани. Появление новых взаимосвязей между парами цитокинов, а также смена их направлений свидетельствует о нарушениях в работе регуляторных механизмов при ХБП. Поскольку межклеточные медиаторы играют важную роль в ремоделировании костной ткани и склерозировании почки, можно предположить, что между нарушениями костного метаболизма и почечной патологией существует механизм обратной связи, реализующийся посредством цитокинов.

Таким образом, патологические процессы, лежащие в основе ХБП, сопровождаются нарушением баланса между про- и противовоспалительными цитокинами, что отражается на всей ФССТ и на метаболических процессах в костной ткани.

### Список литературы

1. *Богомолец А.А.* Патологическая физиология: в 2-х томах. Саратов: Госиздат, 1924. Т. 1. 238 с., Т. 2. 240 с.
2. *Кондаков І.І., Топчій 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.
3. *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;
4. *August P., Suthanthiran M.* Transforming growth factor beta and progression of renal disease // *Kidney Int Suppl.* 2003. Vol. 87. P. 99–104.
5. *Böttinger EP., Bitzer M.* TGF-beta signaling in renal disease // *J Am Soc Nephrol.* 2002. Vol. 13(10). P. 2600-10.

6. *Chawla LS., Kimmel PL.* Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome // *Kidney Int.* 2012. Vol. 82(5). P. 516–24.

7. *Gal-Moscovici A., Sprague S.M.* Bone health in chronic kidney disease mineral and bone disease // *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2007. Vol. 14(1). P. 27–36.

8. *Kanasaki K., Taduri G., Koya D.* Diabetic nephropathy: the role of inflammation in fibroblast activation and kidney fibrosis // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013; Vol. 4: 7. Published online 2013 February 6. doi: 10.3389/fendo.2013.00007 PMID: PMC3565176.

9. *Lewis R.* Mineral and bone disorders in chronic kidney disease: new insights into mechanism and management // *Ann Clin Biochem.* 2012. Vol. 49(5). P. 432–440.

10. *Libby P.* Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. // *Nutr Rev.* 2007. Vol. 65(12. Pt 2). S. 140-6.

11. *Martin KJ., Gonzalez EA.* Metabolic Bone Disease in Chronic Kidney Disease // *J Am Soc Nephrol.* 2007. Vol. 18(3). P. 875–885.

12. *Moss RB., Moll T., El-Kalay M.* [et al]. Th1/Th2 cells in inflammatory disease states: therapeutic implications // *Expert Opin Biol Ther.* 2004. Vol. 4(12). P. 1887-96.

13. *Palevsky PM.* Chronic-on-acute kidney injury // *Kidney Int.* 2012. Vol. 81. P. 430–431.

14. *Sester U., Sester M., Hauk M.* [et al]. T-cell activation follows Th1 rather than Th2 pattern in haemodialysis patients // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000. Vol. 15 (8). P. 1217–1223.

### Сведения об авторах

**Павлов Сергей Борисович** – кандидат биологических наук, заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией Харьковской медицинской академии последипломного образования, e-mail: psb@ua.fm.

**Кумечко Марина Валентиновна** – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Харьковской медицинской академии последипломного образования, e-mail: marina\_sash@mail.ru.

**Гончарова Алина Валерьевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Харьковской медицинской академии последипломного образования, e-mail: aligon@mail.ru.

**Бабенко Наталия Михайловна** – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Харьковской медицинской академии последипломного образования.

**Савенков Владимир Ильич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры урологии, нефрологии и андрологии Харьковского национального медицинского университета, e-mail: visavenkov1992@ Rambler.ru.