

УДК 618.173-097.1/.3:575

DOI: 10.18413/2075-4728-2018-41-2-235-244

**УРОВНИ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *IL-6*, *TNFSF11* И *TNFRSF11B*****CYTOKINE LEVELS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN DEPENDING ON *IL-6*,  
*TNFSF11* AND *TNFRSF11B* GENES POLYMORPHISMS****Э.А. Майлян****E.A. Maylyan**

Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького,  
Донецкая Народная Республика, 283003, г. Донецк, проспект Ильича, 16

Donetsk National Medical University named after M. Gorky,  
16 Illicha Ave, Donetsk, 283003, Donetsk People's Republic

E-mail: mea095@yandex.ru

**Аннотация**

У 180 женщин в постменопаузу исследованы концентрации интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), гамма-интерферона (INF- $\gamma$ ), остеопротегерина, лиганда активатора рецептора ядерного фактора кВ (RANKL). Установлено, что при постменопаузальном остеопорозе увеличены концентрации в сыворотке крови IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ , RANKL и снижены уровни IL-4, IL-10 ( $P < 0.05$ ). Аналогичные изменения показателей большинства из вышеуказанных цитокинов характерны и для носителей тех генотипов полиморфизмов генов *IL-6* (rs1800795) и *TNFSF11* (rs9594738, rs9594759), которые одновременно являются и предикторами постменопаузального остеопороза. Полиморфные варианты гена *TNFRSF11B* (rs3134069 и rs3102735) не имеют ассоциаций с изменениями уровней исследованных цитокинов. Полученные данные отражают важные патогенетические аспекты постменопаузального остеопороза, в том числе в зависимости от генетических факторов, и могут быть использованы для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

**Abstract**

Concentrations of IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (INF- $\gamma$ ), osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) are investigated in blood serum samples of 180 postmenopausal women. Results were analyzed depending on degree of bone tissue osteoporotic changes and genetic polymorphisms of *IL-6* (rs1800795), *TNFSF11* (rs9594738, rs9594759), *TNFRSF11B* (rs3134069, rs3102735) genes. It is established that patients with postmenopausal osteoporosis had increased IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ , RANKL concentrations, but decreased IL-4, IL-10 ones ( $P < 0,05$ ). Similar changes in levels of most of above-stated cytokines are detected also at patients with genotypes of *IL-6* and *TNFSF11* genes polymorphisms, which were also postmenopausal osteoporosis predictors. *TNFRSF11B* (rs3134069 and rs3102735) gene polymorphic options had no associations with changes of the studied cytokines levels. The obtained data reflect important pathogenetic aspects of postmenopausal osteoporosis, including depending on genetic factors, and can be used for development of the individualized schemes of treatment-and-prophylactic actions.

**Ключевые слова:** гены, *IL-6*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, полиморфизмы, цитокины, женщины, постменопауза, остеопороз.

**Keywords:** genes, *IL-6*, *TNFSF11*, *TNFRSF11B*, polymorphisms, cytokines, women, postmenopause, osteoporosis.

## Введение

Постменопаузальный остеопороз (ОП) – это хроническое системное прогрессирующее метаболическое заболевание скелета многофакторной природы, которое развивается у женщин в постменопаузальный период и характеризуется снижением минеральной плотности костной ткани, нарушением ее микроархитектоники, увеличением частоты переломов. Основной причиной патологии костной системы у женщин в постменопаузу являются физиологические изменения в продукции ряда гормонов, в первую очередь – эстрогенов [Поворознюк и др., 2013б].

Риск развития заболевания на фоне снижения эстрогенов у женщин в постменопаузу зависит как от внешних, так и от генетических факторов [Майлян, 2015]. В этиопатогенезе ОП участвуют многие взаимовлияющие друг на друга гены, фенотипические проявления которых зависят от воздействия широкого спектра внешних факторов (выраженность дефицита эстрогенов, витамина D и кальция, возраст, гиподинамия, курение, алкоголь, расовые различия и т.д.).

Следует отметить, что вклад генетической составляющей в этиопатогенез заболевания достигает 60–80% [Boudin, Van Hul, 2017]. К настоящему времени определен широкий перечень генов, полиморфизмы которых могут влиять на риск развития постменопаузального ОП [Urano, Inoue, 2014; Rocha-Braz, Ferraz-de-Souza, 2016]. К ним относят гены *IL-6*, *TNFSF11* и *TNFRSF11B*, которые кодируют соответственно молекулы цитокинов интерлейкина-6, лиганда активатора рецептора ядерного фактора κB (RANKL) и остеопротегерина (OPG).

Выполненные к настоящему времени исследования демонстрируют значимость отдельных полиморфизмов вышеуказанных генов в формировании остеопоротических изменений. Так, показаны ассоциации низких показателей минеральной плотности костной ткани и/или развития ОП с генотипом GG и аллелем G полиморфизма rs1800795 гена *IL-6* [Czerny et al., 2009; Wang et al., 2013; Ni et al., 2014; Майлян, 2017а], с генотипом TT и аллелем T полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* [Юренева и др., 2015; Dastgheib et al., 2016; Майлян, Резниченко, 2017б], с генотипами CT или TT полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11* [Юренева и др., 2015; Майлян, 2017б], с генотипами AC и CC полиморфизма rs3134069, генотипами TC и CC полиморфизма rs3102735 гена *TNFRSF11B* [Rojano-Mejía et al., 2012; Cvijetic et al., 2016; Майлян, Резниченко, 2017а].

Наряду с вышеизложенным необходимо отметить, что результаты многочисленных исследований в области остеоиммунологии свидетельствуют о ключевой роли в развитии постменопаузального ОП иммунных факторов [Поворознюк и др., 2013а; Ginaldi, De Martinis, 2016; Liu et al., 2017]. Уменьшение продукции эстрогенов у женщин в постменопаузальном возрасте обуславливает изменения баланса цитокинов. Характерные для постменопаузы повышение синтеза провоспалительных и снижение – противовоспалительных цитокинов приводят к угнетению остеобластогенеза и увеличению активности остеокластов, следствием чего является усиление резорбции костной ткани.

Учитывая генетическую составляющую в этиопатогенезе ОП и важную роль цитокинов в регуляции костного метаболизма, тем не менее, к настоящему времени отсутствуют работы, направленные на исследование особенностей статуса цитокинов у женщин постменопаузального возраста, имеющих различные полиморфные варианты генов *IL-6*, *TNFSF11* и *TNFRSF11B*.

**Цель исследования** – изучить сывороточные уровни провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при постменопаузальном остеопорозе, а также их изменения в зависимости от полиморфизмов rs1800795 гена *IL-6*, rs9594738 и rs9594759 гена *TNFSF11*, rs3134069 и rs3102735 гена *TNFRSF11B*.

## Объекты и методы исследования

Обследовано 180 женщин в постменопаузе. Возраст обследованных составил  $60,0 \pm 0,77$  лет, а длительность постменопаузального периода –  $11,0 \pm 0,73$  лет. Для исследования были отобраны женщины, не принимавшие заместительную гормональную и ан-

тиостеопоротическую терапию, глюкокортикостероидные препараты. Исключались также пациенты с наличием овариоэктомии, эндокринных и метаболических расстройств, гематологических заболеваний, неопластических состояний, хронических заболеваний почек и печени, аутоиммунной патологии, системных заболеваний соединительной ткани, хронических воспалительных заболеваний.

У женщин методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии определялись показатели костной ткани поясничных позвонков L1-L4, проксимальных отделов и шеек левой и правой бедренных костей. Для этого использовались денситометры «Discovery W QDR Series X-Ray Bone Densitometer» (HOLOGIC Inc., США) и «Prodigy» (GE Medical Systems LUNAR, США). Результаты выражались в виде показателей минеральной плотности кости и T-критерия. Исходя из результатов остеоденситометрии, все обследованные были распределены в 3 группы – здоровые (n=37, показатели T-критерия до –1.0 стандартных отклонений от пиковой костной массы), с остеопенией (n=84, значения T-критерия ниже –1.0 до –2.5 стандартных отклонений) и ОП (n=59, T-критерий равен –2.5 стандартных отклонений и ниже). При этом контрольная группа, группы женщин с остеопенией и ОП существенно не отличались по возрасту (соответственно 59.0±1.71, 60.5±1.09 и 60.0±1.44 лет, P>0.05) и длительности постменопаузального периода (соответственно 10.0±1.73, 10.0±1.09 и 12.0±1.22 лет, P>0.05).

Уровни цитокинов исследовались с помощью иммуноферментных тест-систем производства «Вектор-Бест» (п. Кольцово, Новосибирская обл., РФ), «eBiosciences» (San Diego, CA, США), «Biomedica Medizinprodukte» (GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Германия). В образцах сыворотки крови женщин определялись концентрации интерлейкинов (IL) IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), гамма-интерферона (INF-γ), остеопротегерина (OPG), лиганда активатора рецептора ядерного фактора κB (RANKL).

Детекция полиморфизмов rs1800795 гена *IL-6*, rs9594738 и rs9594759 гена *TNFSF11*, rs3134069 и rs3102735 гена *TNFRSF11B* осуществлялась методом полимеразной цепной реакции с использованием соответствующих наборов и амплификатора ДТ-96 производства «ДНК-Технология» (Москва, РФ).

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась при помощи программ «MedStat» и «STATISTICA for Windows 6.0» (StatSoft, Inc.). Для проверки распределения показателей на нормальность использовался критерий хи-квадрат ( $\chi^2$ ). В связи с тем, что распределение большинства изученных показателей отличалось от нормального, в описательной статистике использовались непараметрические методы. Вычислялись медиана (Me) и интерквартильный размах (Q1-Q3). Для парных сравнений центров двух независимых выборок использовался U-тест Манна-Уитни. При множественных сравнениях для трех независимых выборок использовался ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, а затем для попарного сравнения – критерий Данна. Статистически значимыми отличия считались при p<0.05.

### Результаты и их обсуждение

В таблице 1 представлены результаты определения сывороточных уровней исследованных цитокинов в трех группах женщин – здоровых, с остеопенией и ОП. Установлено, что пациенты с ОП, по сравнению с контрольной группой, характеризовались более высокими значениями в сыворотке крови IL-1β (p<0.01), IL-8 (p<0.05), IL-17A (p<0.01), TNF-α (p<0.05), RANKL (p<0.05) и сниженными уровнями IL-4 (p<0.05), IL-10 (p<0.01). Аналогичной направленности различия были выявлены также и между группами женщин с ОП и остеопенией по уровням IL-17A (p<0.01), TNF-α (p<0.01), RANKL (p<0.05). Больные с остеопенией отличались от контрольной группы значениями IL-1β (увеличение, p<0.05) и IL-10 (снижение, p<0.05).

Таблица 1  
Table 1

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста, имеющих остеопению и остеопороз  
Cytokines serum concentrations in postmenopausal women with osteopenia and osteoporosis

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин			P*	P** между группами
	здоровых, n=37 (группа 1)	с остеопенией, n=84 (группа 2)	с остеопорозом, n=59 (группа 3)		
IL-1 $\beta$ , пг/мл	1.7 (0.6-2.2)	2.2 (1.7-3.1)	2.8 (2.0-3.3)	<0.001	1-2: <0.05 1-3: <0.01
IL-4, пг/мл	2.2 (1.1-3.8)	2.1 (1.3-2.7)	1.6 (0.8-2.5)	0.048	1-3: <0.05
IL-6, пг/мл	0.4 (0.0-1.4)	0.9 (0.2-2.0)	1.3 (0.0-2.8)	0.116	-
IL-8, пг/мл	5.7 (2.2-17.3)	8.05 (4.3-12.8)	10.3 (5.5-16.8)	0.042	1-3: <0.05
IL-10, пг/мл	4.1 (2.7-6.0)	3.05 (1.6-4.3)	2.0 (1.2-3.4)	<0.001	1-2: <0.05 1-3: <0.01
IL-17A, пг/мл	1.4 (0.0-3.0)	1.65 (0.5-3.0)	3.0 (1.2-6.8)	<0.001	1-3: <0.01 2-3: <0.01
TNF- $\alpha$ , пг/мл	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-4.1)	0.004	1-3: <0.05 2-3: <0.01
INF- $\gamma$ , пг/мл	9.5 (1.6-11.8)	8.8 (5.2-11.9)	9.6 (7.6-11.8)	0.588	-
OPG, пг/мл	74.7 (44.7-122.0)	73.35 (44.8-114.6)	94.2 (54.4-120.5)	0.402	-
RANKL, пг/мл	2.5 (1.9-3.6)	2.6 (1.6-3.6)	3.3 (2.3-4.8)	0.038	1-3: <0.05 2-3: <0.05
OPG/RANKL	28.0 (16.6-65.0)	25.05 (12.3-57.8)	23.1 (15.6-38.3)	0.669	-

Примечание: \* – множественные сравнения для 3 выборок выполнялись при помощи рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса; \*\* – попарные сравнения между группами выполнялись при помощи критерия Данна.

Анализ уровней цитокинов в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-6* (табл. 2) показал, что показатели IL-6 имели динамику увеличения от группы женщин с генотипом CC до обладателей генотипа CG ( $p < 0.01$ ) и далее от последних лиц до носителей генотипа GG ( $p < 0.01$ ). Кроме того, женщины с генотипами CG и GG полиморфизма rs1800795 характеризовались повышением концентраций в сыворотке крови IL-8 ( $p < 0.05$ ) и IL-17A ( $p < 0.05$  и  $p < 0.01$  соответственно). Также обнаружено увеличение уровней RANKL у носителей генотипа GG по сравнению с женщинами, имеющими генотип CC ( $p < 0.05$ ).

Таблица 2  
Table 2

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизма rs1800795 гена *IL-6*  
Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on the *IL-6* gene rs1800795 polymorphism

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена <i>IL-6</i>			P*	P** между группами
	CC, n=39 (группа 1)	CG, n=94 (группа 2)	GG, n=47 (группа 3)		
1	2	3	4	5	6
IL-1 $\beta$ , пг/мл	2.3 (1.7-3.0)	2.2 (1.7-3.0)	2.5 (1.7-3.3)	0.779	
IL-4, пг/мл	2.2 (0.9-3.1)	1.8 (0.9-2.5)	1.8 (1.1-2.8)	0.391	

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6
IL-6, пг/мл	0.0 (0.0-0.8)	0.85 (0.2-2.2)	1.8 (1.2-3.8)	<0.001	1-2: <0.01 1-3: <0.01 2-3: <0.01
IL-8, пг/мл	4.2 (2.1-10.8)	8.4 (5.0-16.3)	10.8 (5.0-15.2)	0.007	1-2: <0.05 1-3: <0.05
IL-10, пг/мл	3.3 (1.8-4.6)	3.05 (1.5-4.6)	2.4 (1.3-3.7)	0.301	-
IL-17A, пг/мл	0.9 (0.0-3.0)	2.05 (1.0-3.9)	2.8 (1.3-5.4)	0.001	1-2: <0.05 1-3: <0.01
TNF-α, пг/мл	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-1.7)	0.478	-
INF-γ, пг/мл	9.7 (5.4-12.6)	9.55 (3.7-12.3)	8.8 (2.1-11.3)	0.514	-
OPG, пг/мл	68.2 (44.3-110.3)	74.5 (42.2-118.3)	94.5 (56.0-124.4)	0.122	-
RANKL, пг/мл	2.5 (1.7-3.3)	3.0 (1.5-4.2)	3.1 (2.1-4.4)	0.047	1-3: <0.05
OPG/RANKL	30.5 (17.0-54.7)	22.1 (14.2-57.5)	26.6 (12.9-44.9)	0.635	-

Примечание: \* – множественные сравнения для 3 выборок выполнялись при помощи рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса; \*\* – попарные сравнения между группами выполнялись при помощи критерия Данна.

Женщины с генотипом ТТ полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11* по сравнению с лицами, имеющими генотип СС, характеризовались существенным увеличением ( $p < 0.05$ ) уровней IL-1β, IL-6, IL-8, IL-17A, TNF-α (табл. 3). Наличие у женщин генотипа СТ сочеталось с более высокими значениями IL-8 ( $p < 0.01$ ), чем при генотипе СС.

Таблица 3  
Table 3

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*  
Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on the *TNFSF11* gene rs9594738 polymorphism

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594738 гена <i>TNFSF11</i>			P*	P** между группами:
	СС, n=52 (группа 1)	СТ, n=90 (группа 2)	ТТ, n=38 (группа 3)		
IL-1β, пг/мл	1.95 (1.5-2.7)	2.25 (1.7-3.1)	2.70 (1.9-3.7)	0.012	1-3: <0.05
IL-4, пг/мл	2.2 (1.2-3.1)	1.85 (1.0-2.8)	1.55 (0.9-2.4)	0.218	-
IL-6, пг/мл	0.5 (0.0-1.5)	1.1 (0.0-2.0)	1.85 (0.3-3.3)	0.033	1-3: <0.05
IL-8, пг/мл	6.2 (4.0-11.4)	7.15 (3.7-13.7)	14.75 (8.1-25.2)	<0.001	1-3: <0.01 2-3: <0.01
IL-10, пг/мл	2.95 (1.5-4.6)	3.0 (1.5-4.6)	2.6 (1.6-3.7)	0.864	
IL-17A, пг/мл	1.3 (0.35-3.0)	2.25 (0.9-4.0)	2.8 (1.1-6.4)	0.011	1-3: <0.05
TNF-α, пг/мл	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-4.8)	0.048	1-3: <0.05
INF-γ, пг/мл	9.6 (2.2-12.5)	8.7 (3.6-11.5)	10.0 (5.6-12.5)	0.478	-
OPG, пг/мл	97.4 (52.6-116.3)	72.2 (30.6-118.1)	76.4 (59.8-126.7)	0.229	-
RANKL, пг/мл	2.75 (1.6-3.6)	2.85 (1.9-4.0)	3.3 (1.3-5.2)	0.205	-
OPG/RANKL	29.75 (16.7-62.1)	21.85 (12.4-43.5)	23.7 (1.7-64.5)	0.092	-

Примечание: \* – множественные сравнения для 3 выборок выполнялись при помощи рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса; \*\* – попарные сравнения между группами выполнялись при помощи критерия Данна.

Полиморфизм rs9594759 гена *TNFSF11* также обнаруживал ассоциации с уровнями отдельных цитокинов у женщин постменопаузального возраста (табл. 4). В отличие от группы лиц, имеющих генотип СС, женщины с генотипом СТ имели более высокие показатели IL-17A ( $p<0.05$ ) и TNF- $\alpha$  ( $p<0.05$ ), а носители генотипа ТТ характеризовались достоверным увеличением значений IL-17A ( $p<0.05$ ).

Таблица 4  
Table 4

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизма rs9594759 гена *TNFSF11*  
Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on the *TNFSF11* gene rs9594759 polymorphism

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизма rs9594759 гена <i>TNFSF11</i>			P*	P** между группами:
	СС, n=39 (группа 1)	СТ, n=90 (группа 2)	ТТ, n=51 (группа 3)		
IL-1 $\beta$ , пг/мл	2.0 (1.4-2.8)	2.45 (1.7-3.1)	2.5 (1.7-3.3)	0.131	-
IL-4, пг/мл	1.8 (0.7-2.7)	1.75 (1.1-2.9)	1.9 (1.1-2.7)	0.863	-
IL-6, пг/мл	0.5 (0.0-1.5)	1.1 (0.0-2.0)	1.3 (0.2-2.8)	0.211	-
IL-8, пг/мл	8.2 (4.4-14.8)	8.7 (4.1-14.2)	8.2 (4.9-17.0)	0.838	-
IL-10, пг/мл	2.7 (1.3-3.8)	2.7 (1.5-4.5)	3.3 (2.0-5.0)	0.156	-
IL-17A, пг/мл	1.1 (0.0-3.1)	2.4 (0.9-4.7)	2.1 (1.0-4.0)	0.026	1-2: <0.05 1-3: <0.05
TNF- $\alpha$ , пг/мл	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-3.3)	0.0 (0.0-0.0)	0.036	1-2: <0.05
INF- $\gamma$ , пг/мл	8.8 (2.4-12.1)	9.5 (4.3-11.7)	10.0 (2.2-11.8)	0.878	-
OPG, пг/мл	84.0 (56.5-118.3)	77.45 (36.5-118.7)	74.7 (50.0-110.9)	0.548	-
RANKL, пг/мл	2.7 (1.6-3.3)	3.0 (1.9-4.2)	2.8 (1.3-4.5)	0.442	-
OPG/RANKL	29.0 (16.8-71.4)	23.85 (11.8-41.4)	23.1 (15.4-54.7)	0.120	-

Примечание: \* – множественные сравнения для 3 выборок выполнялись при помощи рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса; \*\* – попарные сравнения между группами выполнялись при помощи критерия Данна.

В отличие от полиморфизмов генов *IL-6* и *TNFSF11*, полиморфные варианты гена *TNFRSF11B* (rs3134069 и rs3102735) не имели достоверных связей с изменениями цитокинового баланса (табл. 5).

Таблица 5  
Table 5

Концентрации цитокинов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизмов rs3134069 и rs3102735 гена *TNFRSF11B*  
Cytokines serum concentrations in postmenopausal women depending on the *TNFRSF11B* gene rs3134069 and rs3102735 polymorphisms

Показатели	Значения медианы и интерквартильного размаха (Q1-Q3) у женщин с генотипами полиморфизмов гена <i>TNFRSF11B</i>					
	rs3134069			rs3102735		
	AA (n=149)	AC (n=30) +CC (n=1)	P*	ТТ (n=121)	ТС (n=56) +CC (n=3)	P*
1	2	3	4	5	6	7
IL-1 $\beta$ , пг/мл	2.2 (1.7-3.0)	2.3 (1.5-3.4)	0.792	2.2 (1.7-3.0)	2.5 (1.7-3.1)	0.521

Окончание табл. 5

1	2	3	4	5	6	7
IL-4, пг/мл	1.9 (0.9-2.8)	1.8 (1.1-3.3)	0.656	2.0 (1.1-2.8)	1.6 (1.1-2.7)	0.327
IL-6, пг/мл	1.0 (0.2-2.6)	0.7 (0.0-1.9)	0.340	0.9 (0.0-1.8)	1.1 (0.2-2.8)	0.259
IL-8, пг/мл	8.2 (4.7-14.3)	8.8 (1.4-19.9)	0.712	8.2 (4.6-14.2)	9.2 (3.7-18.6)	0.654
IL-10, пг/мл	3.0 (1.7-4.5)	2.0 (0.8-4.1)	0.233	3.0 (1.6-4.6)	2.7 (1.4-4.0)	0.479
IL-17A, пг/мл	2.2 (0.9-4.0)	1.2 (0.0-3.0)	0.054	2.2 (0.9-3.9)	1.5 (0.5-4.1)	0.554
TNF- $\alpha$ , пг/мл	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-3.0)	0.682	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-3.7)	0.051
INF- $\gamma$ , пг/мл	9.6 (3.6-11.7)	8.7 (1.9-12.8)	0.772	9.6 (4.3-12.0)	8.8 (2.4-11.5)	0.363
OPG, пг/мл	80.3 (50.0-118.7)	60.9 (28.3-114.7)	0.170	76.6 (46.9-120.1)	76.7 (44.8-116.0)	0.706
RANKL, пг/мл	2.9 (1.8-4.0)	2.7 (1.7-4.2)	0.850	2.9 (1.7-3.9)	2.9 (1.8-4.5)	0.243
OPG/RANKL	24.7 (14.4-57.5)	23.4 (12.9-34.0)	0.407	27.4 (14.7-58.9)	23.6 (12.9-34.0)	0.115

Примечание: \* – сравнения между группами выполнялись при помощи U-теста Манна-Уитни.

Таким образом, сравнительный анализ цитокинового профиля трех групп женщин, выделенных исходя из результатов остеоденситометрии, позволил выявить существенные изменения сывороточных концентраций ряда цитокинов при постменопаузальном ОП. Установленное у женщин с ОП увеличение показателей провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ , RANKL) и снижение уровней противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) согласуется с современными представлениями о роли иммунной системы в развитии постменопаузального ОП [Поворозюк и др., 2013а; Ginaldi, De Martinis, 2016; Liu et al., 2017]. Считается, что снижение в постменопаузу продукции эстрогенов сопровождается усилением пролиферации и активацией Т-лимфоцитов, что приводит к превалированию секреции провоспалительных цитокинов над синтезом противовоспалительных. Итогом данных изменений является хроническая стимуляция остеокластов, приводящая к усилению резорбции костной ткани и развитию ОП.

Результаты, аналогичные нашим, были получены и другими исследователями. Обследование женщин постменопаузального возраста показало, что при ОП значительно снижены концентрации в сыворотке крови IL-4 и увеличены – IL-17A [Zhang et al., 2015], резко возрастают уровни RANKL [Wei et al., 2016], наблюдается одновременное повышение концентраций IL-6, IL-17A и TNF- $\alpha$  [Zhao et al., 2016]. Исследование продукции цитокинов в ответ на воздействие митогенов в культуре лейкоцитов продемонстрировало, что низкие показатели МПК сочетаются с увеличенной секрецией вышеуказанными клетками IL-6, IL-17A, TNF- $\alpha$  и сниженной – IL-4, IL-10 [Azizieh et al., 2017].

Анализ уровней цитокинов у женщин в зависимости от генетических маркеров показал, что генотипы полиморфизмов rs3134069 и rs3102735 гена *TNFRSF11B* не обнаруживали связей с изменениями иммунных факторов. Следует отметить, что в других исследованиях также не было выявлено влияния полиморфизмов гена *TNFRSF11B* на уровни отдельных цитокинов, в том числе OPG и RANKL [Kim et al., 2007; Mencej-Bedrač et al., 2011]. К настоящему времени не определены механизмы, посредством которых полиморфизмы гена *TNFRSF11B*, который кодирует OPG, могут влиять на риск развития ОП. Можно было бы предположить, что мутации в данном гене вызывают количественные

и/или качественные изменения молекул OPG, вследствие чего снижается их эффективность как рецептора-ловушки по отношению к резорбтивному цитокину RANKL. Однако подтверждения этому пока нет. Поэтому не исключается даже вероятность того, что полиморфизмы *TNFRSF11B* находятся под влиянием и/или в неравновесном состоянии с соседними генетическими вариациями (локусы количественных признаков – QTLs, эпигенетические факторы и т.д.), которые могут являться фактическими причинами наблюдаемых ассоциаций с минеральной плотностью костной ткани [Lee et al., 2010; Michou, 2017; Mullin et al., 2018].

В отличие от мутаций гена *TNFRSF11B*, полиморфные варианты генов *IL-6* и *TNFSF11*, которые являются предикторами постменопаузального ОП [Майлян, 2017а; Майлян, Резниченко, 2017б], имели ассоциации с изменениями уровней цитокинов. Причем, характер этих ассоциаций в большинстве случаев был аналогичен тем, что были свойственны и для ОП. Кроме того, были обнаружены и особенности цитокинового статуса у женщин в зависимости от генетических полиморфизмов генов *IL-6* и *TNFSF11*.

Генотип GG полиморфизма rs1800795 гена *IL-6*, который по результатам ранее выполненного исследования является фактором риска развития постменопаузального ОП [Майлян, 2017а], показал ассоциацию с увеличением провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IL-17A, RANKL. Причем, наиболее выраженную связь генотип GG имел с уровнем IL-6. Только по повышенным уровням последнего цитокина женщины, имеющие генотип GG, отличались и от носителей генотипа CC ( $P < 0,01$ ), и от лиц с генотипом CG ( $P < 0,01$ ). Данный факт согласуется с полученными данными, свидетельствующими о том, что аллель G, по сравнению с аллелем C, ассоциирован с повышенной промоторной активностью гена *IL-6*, следствием чего является увеличение продукции иммунокомпетентными клетками цитокина IL-6 и нарастание его концентраций в сыворотке крови при дефиците эстрогенов [Wang et al., 2015]. Следует отметить, что наличие генотипа GG у обследованных женщин в постменопаузу сочеталось с повышением и других цитокинов. Это можно объяснить тем, что IL-6 представляет собой плейотропный цитокин, который играет центральную роль в иммунных, воспалительных реакциях, в том числе через инициацию синтеза других взаимосвязанных между собой провоспалительных цитокинов, одним из которых является RANKL, непосредственно участвующий в остеокластогенезе и способствующий резорбции костной ткани [Ginaldi, De Martinis, 2016].

Генотип TT полиморфизма rs9594738 гена *TNFSF11*, который определяет повышенный риск остеопоротических изменений у женщин в постменопаузу [Майлян, Резниченко, 2017б], сочетался с достоверным увеличением концентраций IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ . Сравнительный анализ женщин в зависимости от другого полиморфизма гена *TNFSF11* (rs9594759) позволил установить, что для его генотипов CT и/или TT были свойственны ассоциации с более высокими показателями IL-17A и TNF- $\alpha$  по сравнению с генотипом CC. Эти генотипы (CT и TT) также являются предикторами постменопаузального ОП [Майлян, 2017б]. К настоящему времени механизмы, которыми можно было бы объяснить связи генотипов полиморфизмов гена *TNFSF11*, кодирующего молекулы RANKL, как с остеопоротическими нарушениями кости, так и с изменениями иммунных показателей, остаются неизвестными. Не исключено, что роль полиморфизмов вышеуказанного гена заключается в их влиянии не столько на интенсивность продукции молекул RANKL, сколько на их функциональные характеристики, которые обуславливают более выраженное воздействие данного резорбтивного цитокина на активность остеокластов.

### Заключение

Таким образом, при постменопаузальном остеопорозе увеличены концентрации в сыворотке крови IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17A, TNF- $\alpha$ , RANKL и снижены уровни IL-4, IL-10 ( $P < 0,05$ ). Аналогичные изменения показателей большинства из вышеуказанных цитокинов характерны и для носителей тех генотипов полиморфизмов генов *IL-6* и *TNFSF11*, кото-

рые одновременно являются и предикторами постменопаузального остеопороза. Полиморфные варианты гена *TNFRSF11B* (rs3134069 и rs3102735) не имеют ассоциаций с изменениями уровней исследованных цитокинов. Полученные данные отражают важные патогенетические аспекты постменопаузального остеопороза, в том числе в зависимости от генетических факторов, и могут быть использованы для разработки индивидуализированных схем лечебно-профилактических мероприятий.

### Список литературы References

1. Майлян Э.А. 2015. Современные представления об этиологии и патогенезе постменопаузального остеопороза. Проблемы остеологии, 2: 3–11.  
Maylyan E.A. 2015. The modern ideas about the postmenopausal osteoporosis etiology and pathogenesis. Problems of Osteology, 2: 3–11. (in Russian)
2. Майлян Э.А. 2017. Ассоциации отдельных полиморфизмов генов LRP5 и IL-6 с постменопаузальным остеопорозом. Сибирское медицинское обозрение, 6: 98–103. doi: 10.20333/2500136-2017-6-98-103.  
Maylyan E.A. 2017. Associations between separate LRP5 and IL-6 genes polymorphisms and postmenopausal osteoporosis. Siberian Medical Review, 6: 98–103. doi: 10.20333/2500136-2017-6-98-103. (in Russian)
3. Майлян Э.А. 2017. Ассоциации полиморфизма rs9594759 гена TNFSF11 с риском развития постменопаузального остеопороза. Забайкальский медицинский вестник, 2: 78–85.  
Maylyan E.A. 2017. Associations between TNFSF11 gene rs9594759 polymorphism and postmenopausal osteoporosis development risk. Transbaikal Medical Bulletin, 2: 78–85. (in Russian)
4. Майлян Э.А., Резниченко Н.А. 2017. Ассоциации минеральной плотности костной ткани у женщин в постменопаузу с полиморфизмами гена TNFRSF11B. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины, 7 (3): 38–45.  
Maylyan E.A., Reznichenko N.A. 2017. Associations between bone tissue mineral density and TNFRSF11B gene polymorphisms in postmenopausal women. Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine, 7 (3): 38–45. (in Russian)
5. Майлян Э.А., Резниченко Н.А. 2017. Роль полиморфизма rs9594738 гена TNFSF11 в развитии постменопаузального остеопороза. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины, 7 (2): 64–70.  
Maylyan E.A., Reznichenko N.A. 2017. Role of TNFSF11 gene rs9594738 polymorphism in postmenopausal osteoporosis development. Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine, 7 (2): 64–70. (In Russian)
6. Поворознюк В.В., Резниченко Н.А., Майлян Э.А. 2013. Роль иммунных факторов в патогенезе постменопаузального остеопороза. Проблемы остеологии, 3: 3–7.  
Povoroznyuk V.V., Reznichenko N.A., Maylyan E.A. 2013. The role of immune factors in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. Problems of Osteology, 3: 3–7. (in Russian)
7. Поворознюк В.В., Резниченко Н.А., Майлян Э.А. 2013. Современные представления о механизмах прямой регуляции эстрогенами процессов ремоделирования костной ткани. Проблемы остеологии, 4: 19–23.  
Povoroznyuk V.V., Reznichenko N.A., Maylyan E.A. 2013. The modern ideas about the mechanisms of the direct estrogen-associated regulation of the bone tissue remodeling processes. Problems of Osteology, 4: 19–23. (in Russian)
8. Юренева С.В., Донников А.Е., Бордакова Е.В., Якушевская О.В., Сметник А.А., Трофимов Д.Ю. 2015. Клинико-прогностическое значение молекулярно-генетических факторов при постменопаузальном остеопорозе. Остеопороз и остеопатии, 1: 3–6.  
Yureneva S.V., Donnikov A.E., Bordakova E.V., Yakushevskaya O.V., Smetnik A.A., Trofimov D.Yu. 2015. Clinical and prognostic significance of molecular genetic factors in postmenopausal osteoporosis. Osteoporosis and osteopathy, 1: 3–6. (in Russian)
9. Azizieh F., Raghupathy R., Shehab D., Al-Jarallah K., Gupta R. 2017. Cytokine profiles in osteoporosis suggest a proresorptive bias. Menopause, 24 (9): 1057–1064. doi: 10.1097/GME.0000000000000885



10. Boudin E., Van Hul W. 2017. Mechanisms in Endocrinology: Genetics of human bone formation. *Eur. J. Endocrinol*, 177 (2): 69–83. doi: 10.1530/EJE-16-0990
11. Cvijetic S., Grazio S., Kosovic P., Uremovic M., Nemicic T., Bobic J. 2016. Osteoporosis and polymorphisms of osteoprotegerin gene in postmenopausal women – a pilot study. *Reumatologia*, 54 (1): 10–13. doi: 10.5114/reum.2016.58755
12. Czerny B., Kaminski A., Kurzawski M., Kotrych D., Safranow K., Dziedziczko V., Bohatyrewicz A., Pawlik A. 2010. The association of IL-1beta, IL-2, and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis in postmenopausal women. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, 149 (1): 82–85. doi: 10.1016/j.ejogrb.2009.12.010
13. Dastgheib S.A., Gartland A., Tabei S.M., Omrani G.R., Teare M.D. 2016. A Candidate Gene Association Study of Bone Mineral Density in an Iranian Population. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 7: 141. doi: 10.3389/fendo.2016.00141
14. Ginaldi L., De Martinis M. 2016. Osteoimmunology and Beyond. *Curr Med Chem*, 23(33): 3754–3774.
15. Kim J.G., Kim J.H., Kim J.Y., Ku S.Y., Jee B.C., Suh C.S., Kim S.H., Choi Y.M. 2007. Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Menopause*, 14 (5): 913–918.
16. Lee Y.H., Woo J.H., Choi S.J., Ji J.D., Song G.G. 2010. Associations between osteoprotegerin polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Mol. Biol. Rep.*, 37 (1): 227–234. doi: 10.1007/s11033-009-9637-9
17. Liu H., Luo T., Tan J., Li M., Guo J. 2017. Osteoimmunology' Offers New Perspectives for the Treatment of Pathological Bone Loss. *Curr Pharm Des*, 23. doi: 10.2174/1381612823666170511124459
18. Mencej-Bedrač S., Preželj J., Marc J. 2011. TNFRSF11B gene polymorphisms 1181G>C and 245T>G as well as haplotype CT influence bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas*, 69(3): 263–267. doi: 10.1016/j.maturitas.2011.02.010
19. Michou L. 2017. Epigenetics of bone diseases. *Joint Bone Spine*, dec. 12. pii: S1297-319X(17)30208-7. doi: 10.1016/j.jbspin.2017.12.003. [Epub ahead of print]
20. Mullin B.H., Zhu K., Xu J., Brown S.J., Mullin S., Tickner J., Pavlos N.J., Dudbridge F., Walsh J.P., Wilson S.G. 2018. Expression quantitative trait locus study of bone mineral density GWAS variants in human osteoclasts. *J. Bone Miner Res.*, feb. 23. doi: 10.1002/jbmr.3412. [Epub ahead of print]
21. Ni Y., Li H., Zhang Y., Zhang H., Pan Y., Ma J., Wang L. 2014. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 32 (2): 167–73. doi: 10.1007/s00774-013-0477-2
22. Rocha-Braz M.G., Ferraz-de-Souza B. 2016. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility. *Arch Endocrinol Metab*, 60 (4): 391–401. doi: 10.1590/2359-3997000000178
23. Rojano-Mejía D., Coral-Vázquez R.M., Espinosa L.C., Romero-Hidalgo S., López-Medina G., García Mdel C., Coronel A., Ibarra R., Canto P. 2012. TNFRSF11B gene haplotype and its association with bone mineral density variations in postmenopausal Mexican-Mestizo women. *Maturitas*, 71 (1): 49–54. doi: 10.1016/j.maturitas.2011.10.009
24. Urano T., Inoue S. 2014. Genetics of osteoporosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 452(2): 287–293. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.07.141
25. Wang C., Ge J., Ni S. 2015. Effect of interleukin-6 polymorphism on fracture risk. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 8 (6): 9599–9602.
26. Wang Z., Yang Y., He M., Wang R., Ma J., Zhang Y., Zhao L., Yu K. 2013. Association between interleukin-6 gene polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 17 (12): 898–909. doi: 10.1089/gtmb.2013.0223
27. Wei Q.S., Huang L., Tan X., Chen Z.Q., Chen S.M., Deng W.M. 2016. Serum osteopontin levels in relation to bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women. *Scand J Clin Lab Invest*, 76 (1): 33–39. doi: 10.3109/00365513.2015.1087045.
28. Zhang J., Fu Q., Ren Z., Wang Y., Wang C., Shen T., Wang G., Wu L. 2015. Changes of serum cytokines-related Th1/Th2/Th17 concentration in patients with postmenopausal osteoporosis. *Gynecol Endocrinol*, 31 (3): 183–190. doi: 10.3109/09513590.2014.975683.
29. Zhao R., Wang X., Feng F. 2016. Upregulated Cellular Expression of IL-17 by CD4+ T-Cells in Osteoporotic Postmenopausal Women. *Ann Nutr Metab*, 68: 113–118. doi: 10.1159/000443531.