Клинико-патогенетическое значение белков теплового шока с массой 70 и 27 кДа при остеоартрите

Кабалык М.А.

ФГБОУ ВО
«Тихоокеанский
государственный
медицинский
университет»
Минздрава России
690002, Владивосток,
пр-т Острякова, 2

Pacific State Medical
University, Ministry of
Health of Russia
2, Ostryakov Prospect,
Vladivostok 690002

Контакты: Максим
Александрович
Кабалык;
Maxi_maxim@mail.ru

Contact: Maksim
Kabalyk;
Maxi_maxim@mail.ru

Поступила 22.09.16

Цель исследования – установить особенности изменений уровней белков теплового шока (БТШ), хемокинов и маркера деградации коллагена в крови больных остеоартритом (ОА) в зависимости от стадии заболевания.

Материал и методы. В условиях ревматологического кабинета Владивостокской поликлиники №3 было обследовано 99 пациентов с ОА коленных суставов. Диагноз был верифицирован в соответствии с критериями Европейской антиревматической лиги (EULAR) 2010 г. В этой группе было 87 (88%) женщин и 12 (12%) мужчин, средний возраст больных составил $66,7 \pm 7,9$ года, длительность заболевания – $5,9 \pm 4,0$ года. В качестве контрольной группы в исследование были включены 21 практически здоровая женщина и 9 мужчин в среднем возрасте $59,6 \pm 8,3$ года. Для определения концентраций искомым молекул в крови пациентов, включенных в исследование, проводился иммуноферментный анализ. Использовали ELISA kits HSP70, HSP27 (SunLong Biotech Co. Ltd, КНР), CRTAP (cartilage associated protein – хрящ-ассоциированный белок, ХАБ), TNF α (tumor necrosis factor α – фактор некроза опухоли α , ФНО α), CXCL17 (хемокин класса CXCL) (Cloud-Clone Corp., США).

Результаты и обсуждение. Уровни БТШ27, БТШ70, их соотношение и ХАБ при ОА были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе. Уровни ФНО α и CXCL17, наоборот, значимо превышали показатели контрольной группы. У больных ОА БТШ70 продемонстрировал обратную корреляционную связь с уровнями ХАБ и ФНО α . ХАБ статистически значимо коррелировал с ФНО α . ФНО α имел прямую связь с CXCL17. При длительности заболевания 10 лет и более уровень ХАБ был достоверно выше, чем у больных, у которых анамнез ОА составлял 5–9 лет ($p < 0,05$), и не отличался от такового у пациентов с продолжительностью ОА 1–4 года ($p > 0,05$). Уровень CXCL17 статистически значимо снижался по мере увеличения продолжительности заболевания ($p < 0,05$). В группе пациентов с давностью ОА 1–4 года длительность заболевания имела прямую значимую корреляционную связь с уровнями ХАБ и ФНО α . При давности анамнеза 5–9 лет наблюдалась достоверная прямая связь продолжительности ОА с ХАБ и CXCL17. У заболевших 10 лет назад и более длительность болезни прямо коррелировала с ХАБ, ФНО α и CXCL17.

Ключевые слова: остеоартрит; хемокин; фактор некроза опухоли; белок теплового шока; хрящ-ассоциированный протеин; патогенез.

Для ссылки: Кабалык М.А. Клинико-патогенетическое значение белков теплового шока с массой 70 и 27 кДа при остеоартрите. Научно-практическая ревматология. 2017;55(2):187–191.

THE CLINICAL AND PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF 70- AND 27-kDa HEAT SHOCK PROTEINS IN OSTEOARTHRITIS Kabalyk M.A.

Objective: to establish the specific features of changes in the levels of heat shock proteins (HSP), chemokines, and a marker for collagen degradation in the blood of patients with osteoarthritis (OA) depending on the stage of the disease.

Subjects and methods. 99 patients with knee OA were examined in the rheumatology room, Vladivostok Polyclinic Three. The diagnosis was verified in accordance with the 2010 European League Against Rheumatism (EULAR) criteria. This group comprised 87 (88%) women and 12 (12%) men; the patients' mean age was 66.7 ± 7.9 years; the disease duration was 5.9 ± 4.0 years. A control group included 21 apparently healthy women and 9 men; their mean age was 59.6 ± 8.3 years. Enzyme immunoassay was carried out to determine the concentrations of query molecules in the blood of the patients included in the investigation. The investigators used ELISA kits for HSP70, HSP27 (SunLong Biotech Co. Ltd, China), CRTAP (cartilage-associated protein, CAP), TNF- α (tumor necrosis factor- α), and CXCL17 (chemokine (C-X-C motif) ligand 17) (Cloud-Clone Corp., USA).

Results and discussion. The levels of HSP27 and HSP70, their ratio, and CAP in OA were significantly lower than those in the control group. Those of TNF- α and CXCL17 were, on the contrary, considerably higher than those in the control group. In the patients with OA, HSP70 demonstrated an inverse correlation with the levels of CAP and TNF- α . CAP was statistically significantly correlated with TNF- α . The latter was directly related to CXCL17. When the duration of the disease was 10 or more years, the level of CAP was significantly higher than that in patients with a 5–9-year history of OA ($p < 0.05$) and did not differ from that in those with OA of 1–4-year duration ($p > 0.05$). The level of CXCL17 reduced statistically significantly with longer disease duration ($p < 0.05$). In a group of patients with a 1–4-year history of OA, the disease duration had a direct significant correlation with the levels of CAP and TNF- α . When the history of the disease was 5–9 years, there was a significant direct relationship of the duration of OA to CAP and CXCL17. In the patients who fell ill 10 or more years ago, the duration of the disease was directly correlated with the levels of CAP, TNF- α , and CXCL17.

Key words: osteoarthritis; chemokine; tumor necrosis factor; heat shock protein; cartilage-associated protein; pathogenesis.

For reference: Kabalyk M.A. The clinical and pathogenetic significance of 70- and 27-kDa heat shock proteins in osteoarthritis. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2017;55(2):187–191 (In Russ.).

doi: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2017-187-191>

Экспериментальные и клинические исследования системы белков теплового шока (БТШ; heat shock proteins, Hsp) свидетельствуют о ее важной роли в регуляции внутриклеточной сигнализации, организации межклеточных взаимодействий при сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ), онкопатологии, в развитии патофизиологических феноменов окислительного стресса, воспаления, старения и др. [1]. Установлено, что БТШ активируются под влиянием стрессовых факторов, обеспечивая репаративные внутриклеточные процессы и выполняя при этом функцию молекулярных шаперонов [2]. Во внеклеточной среде БТШ регулируют тонус сосудов [1], участвуют в активации клеток врожденного иммунитета [3]. Снижение их концентрации сопровождается активацией ядерного фактора каппа В (NF-κB), матриксных металлопротеиназ, цитокинов [1, 4], снижением толерантности к гипоксии [3]. Таким образом, БТШ выполняют разнообразные функции, выступая участниками патогенеза целого ряда заболеваний. Однако в патогенезе остеоартрита (ОА) данные молекулы остаются незаслуженно малоизученными. На экспериментальных моделях было показано, что воздействие интерлейкина 1 (ИЛ1) и перекиси водорода на здоровые хондроциты активировало БТШ с молекулярной массой 70 кДа [4]. Однако другие данные показывают, что хондроциты при ОА теряют возможность активировать систему БТШ70 [5]. Малоизученной остается роль БТШ с молекулярной массой 27 кДа в патогенезе заболеваний. Ранее считалось, что БТШ27 обладает мощным антиоксидантным потенциалом [3], однако последние данные А. Bianchi и соавт. [2] опровергли активацию БТШ27 в культуре хондроцитов под воздействием окислительного стресса. Более того, повышение концентрации продуктов гликолиза (метилгликоксаль) в раковых клетках и при сахарном диабете приводит к супрессии БТШ27 [6]. Малоизученными остаются эффекты взаимодействия БТШ с компонентами иммунной системы. Известно лишь, что БТШ участвуют в презентации антигена макрофагам, выполняя функцию шаперокинов [7].

Приведенные факты указывают на потенциальное участие системы БТШ в патогенезе ОА и обуславливает необходимость изучения новых интегративных звеньев патогенеза ОА.

Цель исследования – установить особенности изменений уровней БТШ, хемокинов и маркера деградации коллагена в крови больных ОА в зависимости от стадии заболевания.

Материал и методы

В условиях ревматологического кабинета Владивостокской поликлиники №3 было обследовано 99 паци-

ентов с ОА коленных суставов. Диагноз был верифицирован в соответствии с критериями Европейской антиревматической лиги (EULAR) 2010 г. В этой группе было 87 (88%) женщин и 12 (12%) мужчин, средний возраст больных составил 66,7±7,9 года, длительность заболевания – 5,9±4,0 года. Рентгенологическую стадию оценивали согласно классификации Kellgren: у 27 (27,3%) больных была I, у 51 (51,5%) – II и у 21 (21,2%) – III стадия ОА. По длительности анамнеза пациентов разделили на три группы: 1–4 года (n=31), 5–9 лет (n=44), 10 лет и более (n=24). В контрольную группу была включена 21 практически здоровая женщина и 9 мужчин (средний возраст 59,6±8,3 года), сопоставимых с основной группой по полу и возрасту. Критерии исключения: травмы коленных суставов и/или длительная иммобилизация в период 24 мес до включения в исследование, переломы мыщелков бедренных и проксимального отдела большеберцовых костей. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Тихоокеанского государственного медицинского университета. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Лабораторные методы исследования включали клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови. Для определения концентраций искомым молекул в крови пациентов, включенных исследование, проводился иммуноферментный анализ. Использовали коммерческие киты для определения БТШ70, БТШ27 (SunLong Biotech Co., LTD, КНР), CRTAP (cartilage associated protein; хрящ-ассоциированный белок – ХАБ), TNFα (tumor necrosis factor α; фактор некроза опухоли α – ФНОα), CXCL17 (хемокин класса CXC; Cloud-Clone Corp., США).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Распределение анализируемых показателей описывалось посредством медианы (Me) [25-го; 75-го перцентилей]. Достоверность различий распределения непрерывных переменных в разных группах определяли, используя непараметрический Z-критерий Манна–Уитни. Связь между непрерывными переменными выявляли с помощью коэффициентов ранговой корреляции Спирмена. Достоверными считали различия показателей при p<0,05.

Результаты

Уровни БТШ27, БТШ70, их соотношение и содержание ХАБ у больных ОА были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе (соответственно p=0,002; p=0,04; p=0,00001; табл. 1). Уровни ФНОα и CXCL17 при ОА, наоборот, значимо превышали пока-

Таблица 1 Уровни БТШ, ХАБ и ФНОα и в крови больных ОА и лиц контрольной группы, Me [25-й; 75-й перцентили]

Показатель	Группа ОА (n=99)	Контрольная группа (n=30)	p
БТШ70, пг/мл	2,2 [1,5; 3,3]	3,9 [3,2; 4,8]	0,002
БТШ27, пг/мл	0,4 [0,3; 0,5]	1,6 [0,7; 4,1]	0,00001
БТШ70/БТШ 27	5,1 [3,3; 6,8]	2,7 [1,43; 5,4]	0,04
ХАБ, нг/мл	11,1 [7,5; 17,5]	13,2 [10,25; 19,0]	0,04
ФНОα, пг/мл	6,1 [4,94; 8,59]	3,0 [2,1; 3,1]	0,0001
CXCL17, пг/мл	33,6 [29,8; 61,0]	25,1 [24,8; 32,0]	0,01

Таблица 2 Уровни БТШ, ХАБ, ФНО α и в крови больных ОА в зависимости от стадии заболевания, Ме [25-й; 75-й перцентили]

Показатель	Стадия		
	I	II	III
БТШ70, пг/мл	3,7 [1,5; 4,9]	2,2 [1,2; 2,7]* Z=2,08; p=0,04	1,8 [0,8; 3,8]*
БТШ27, пг/мл	0,3 [0,3; 0,7]	0,4 [0,3; 0,5]	0,3 [0,2; 0,4]
БТШ70/БТШ27	5,3 [4,7; 14,9]	4,9 [3,3; 6,2]	4,3 [1,9; 9,2]*
ХАБ, нг/мл	9,1 [7,2; 19,5]	9,5 [8,9; 12,9]	12,0 [8,0; 24,8]**
ФНО α , пг/мл	8,2 [6,1; 8,6]	6,0 [4,8; 6,25]* Z=2,08; p=0,04	6,4 [6,0; 8,9]* Z=2,03; p=0,04
СХСCL17, пг/мл	36,4 [31,2; 65,0]	32,0 [27,9; 61,0]	31,9 [29,5; 60,0] [†] Z=2,09; p=0,03

Примечание. * – статистически значимые различия с I стадией по критерию Манна–Уитни, p<0,05; [†] – статистически значимые различия со II стадией по критерию Манна–Уитни, p<0,05.

затели контрольной группы (соответственно p=0,0001 и p=0,01). У больных ОА концентрация БТШ70 продемонстрировала обратную корреляционную связь с уровнем ХАБ и ФНО α (R=-0,65, p<0,05; R=-0,38, p<0,05 соответственно). Уровень ХАБ статистически значимо коррелировал с ФНО α (R=0,34, p<0,05). Концентрация ФНО α имела прямую связь с уровнем СХСCL17 (R=0,83, p<0,05).

Для изучения зависимости концентраций изучаемых показателей от стадии заболевания пациенты были разделены на три группы. Ввиду незначительного числа больных с IV рентгенологической стадией ОА в настоящем исследовании они включены не были. Как показано в табл. 2, концентрации БТШ70, ФНО α и СХСCL17 у больных со II и III стадиями ОА были статистически значимо ниже, чем у пациентов с I стадией болезни (p<0,05). Содержание БТШ27 достоверно не изменялось по мере прогрессирования рентгенологических проявлений ОА (p>0,05), но имело место снижение соотношения уровней БТШ70/БТШ27 в пользу антиапоптотического БТШ27 (p<0,05). По мере прогрессирования ОА наблюдалось значимое увеличение уровня ХАБ (p<0,05).

Корреляционный анализ показал, что у больных с I стадией концентрация БТШ70 и БТШ27 прямо коррелировала с уровнем ФНО α (R=0,45, p<0,05 и R=0,34, p<0,05 соответственно) и СХСCL17 (R=0,34, p<0,05 и R=0,58, p<0,05). Концентрация ФНО α также имела прямую корреляционную связь с содержанием СХСCL17 (R=0,68, p<0,05). У больных со II стадией ОА уровень

БТШ70 был достоверно связан с концентрацией ФНО α (R=-0,32, p<0,05). Уровень ФНО α коррелировал с концентрацией СХСCL17 (R=0,78, p<0,05). На III стадии ОА концентрация ХАБ имела достоверную прямую связь с уровнями ФНО α и СХСCL17 (R=0,71, p<0,05; R=0,36, p<0,05 соответственно). Концентрация ФНО α имела прямую связь с уровнем СХСCL17 (R=0,49, p<0,05).

Для установления зависимости изучаемых показателей от длительности заболевания все больные были разделены на три группы. Концентрация БТШ70 у пациентов с продолжительностью болезни 10 лет и более была достоверно ниже по сравнению с другими группами (p<0,05; табл. 3). При длительности заболевания 10 лет и более уровень ХАБ был достоверно выше, чем у пациентов с анамнезом ОА от 5 до 9 лет (p<0,05), и не отличался от такового у пациентов с продолжительностью ОА 1–4 года (p>0,05). Уровень СХСCL17 статистически значимо снижался по мере увеличения продолжительности заболевания (p<0,05).

В группе пациентов с давностью ОА 1–4 года длительность заболевания имела прямую значимую корреляционную связь с уровнем ХАБ и ФНО α (соответственно R=0,64, p<0,05 и R=0,34, p<0,05). При давности анамнеза 5–9 лет наблюдалась достоверная прямая связь продолжительности ОА с концентрацией ХАБ и СХСCL17 (R=0,81, p<0,05 и R=0,75, p<0,05). У заболевших 10 лет назад и более длительность болезни прямо коррелировала с уровнем ХАБ (R=0,48, p<0,05), но обратно пропорционально с уровнем СХСCL17 (R=-0,59, p<0,05).

Таблица 3 Уровни БТШ, ХАБ и ФНО α и в крови больных ОА в зависимости от длительности заболевания, Ме [25-й; 75-й перцентили]

Показатель	Длительность ОА, годы		
	1-4	5-9	≥10
БТШ70, пг/мл	2,3 [1,2; 3,6]	2,4 [1,5; 3,3]	1,9 [1,7; 2,2]**
БТШ27, пг/мл	0,3 [0,2; 0,5]	0,4 [0,3; 0,7]	0,4 [0,3; 0,5]
БТШ70/БТШ27	4,9 [3,2; 9,2]	4,9 [1,0; 10,1]	5,3 [4,7; 5,7]
ХАБ, нг/мл	10,5 [5,8; 12,0]	9,5 [7,3; 19,5]	12,3 [9,4; 25,8] [†]
ФНО α , пг/мл	6,27 [4,8; 8,9]	6,0 [4,9; 8,5]	6,0 [4,9; 8,8]
СХСCL17, пг/мл	46,1 [28,6; 65,0]	36,1 [32,0; 62,5]	30,0 [28,7; 31,4]**

Примечание. * – статистически значимые различия с продолжительностью заболевания 1–4 года, p<0,05; [†] – статистически значимые различия с продолжительностью заболевания 5–9 лет, p<0,05.

Обсуждение

Согласно полученным данным, у больных ОА наблюдаются значимо более низкие уровни БТШ по сравнению с группой контроля. При этом концентрация БТШ70 имеет тенденцию к снижению по мере прогрессирования заболевания и увеличения продолжительности болезни, в то время как уровень БТШ27 значимо не меняется, оставаясь достоверно ниже контроля.

Мы показали, что реакция БТШ при ОА является неполноценной, поскольку не наблюдается синергичной активации БТШ в ответ на стимуляцию. Это отчасти согласуется с данными G. Schett и соавт. [5], которые показали, что при ОА, в отличие от ревматоидного артрита, БТШ70 не активируется под действием провоспалительных цитокинов. Также было показано, что снижение активности БТШ70 защищает синовиальные клетки от апоптоза [8]. Роль малых БТШ, к которым относится БТШ27, изучена плохо [7]. Однако известно, что снижение уровня данного шаперона в суставных тканях при ОА сопровождается снижением толерантности их к провоспалительным цитокинам, главным образом ФНО и ИЛ6 [9]. Главными функциями БТШ27 являются защита клетки от стресса и ингибирование внешнего пути апоптоза [10]. Согласно нашим данным, уровень БТШ27 при ОА не меняется, но значительно снижается соотношение БТШ70/БТШ27 в сторону антиапоптотических значений. Мы предполагаем, что снижение уровня провоспалительного цитокина ФНО α и хемокина CXCL17, выполняющего функции активатора дендритных клеток и макрофагов, связано с уменьшением концентрации БТШ70, который, как известно, обладает иммунологической активностью, вызывая перекрестные реакции между компонентами иммунной системы [11]. Снижение же содержания БТШ70 способно уменьшать активацию клеточного звена иммунитета из-за разрыва паттернов с молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса [7]. С другой стороны, известно, что БТШ активируются ИЛ и ФНО α [5]. Таким образом, при ОА БТШ демонстрируют эффекты: с одной стороны, снижение иммунологической активности за счет уменьшения уровня БТШ70, с другой – уменьшение апоптотического потенциала БТШ.

CXCL17 – цитокин, принадлежащий к семейству хемокинов CXС. Известен также как VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) корегулируемый хемокин 1 и хемокиноподобный белок привлечения дендритных клеток и моноцитов (DMC – dendritic cell- and monocyte-attracting chemokine-like protein) [12]. Данный хемокин участвует в привлечении и регуляции дендритных клеток, моноцитов в ряде тканей. Как предполагается, взаимодействие CXCL17 с клеткой осуществляется через G-рецептор 35 [13] и запускает внутриклеточную сигнализацию через различные пути, в том числе циклический аденозинмонофосфат, ERK1/2 и др. [14], инициируя тем самым воспаление. Мы показали, что уровень CXCL17 достоверно повышен у больных ОА, но имеет тенденцию к снижению по мере прогрессирования заболевания. Снижение концентрации данного хемокина прямо ассоциировано с уровнями БТШ70 и ФНО α . Дело в том, что экспрессия CXCL17 активируется в клетках под воздействием ИЛ1 β и ФНО α и совместно регулируется с VEGF [12, 15], что объясняет выявленные нами тенденции.

ХАБ является активатором пролил-3-гидроксилазы 1, мутация его гена связана с несовершенным остеогенезом VII типа [16]. Активация пролил-3-гидроксилазы – обязательное условие синтеза α -цепи коллагенов всех типов [17]. Снижение экспрессии ХАБ связано с угнетением синтеза коллагенового матрикса хрящевой и, главным образом, костной ткани [16]. Обратная корреляционная связь уровня данного белка с концентрацией БТШ70 и ФНО α , вероятно, является свидетельством тормозного влияния провоспалительных и проапоптотических влияний на активацию пролил-3-гидроксилазы и, соответственно, на синтез коллагеновых цепей. Это обстоятельство подтверждается повышением концентрации ХАБ по мере снижения уровня БТШ70 и ФНО α . Однако заслуживает внимание вопрос о полноценности вновь синтезируемых фибриллярных белков на поздних стадиях ОА.

Участие БТШ в патогенезе ОА представляется сложным и многоуровневым процессом. Сложность определяется множественными функциями БТШ во внутриклеточных и внеклеточных коммуникациях, специфичностью БТШ в отношении выполняемых функций. Можно предположить, что под влиянием внешних факторов риска БТШ70 выступает в качестве адьюванта иммунологической реакции с участием CXCL17. Низкие уровни БТШ не позволяют им выступать в качестве фактора активации врожденного иммунитета взаимодействия с Toll-подобными рецепторами иммунокомпетентных клеток, но, очевидно, способствуют CXCL17-зависимой активации дендритных клеток и макрофагов, которые инициируют локальное воспаление с участием ключевых цитокинов, в том числе ФНО α . Хондроциты и остеобласты, подвергшиеся цитокиновой атаке, не способны по тем или иным причинам полноценно ответить усиленной экспрессией БТШ70 и БТШ27. Развитие сценария внутриклеточной сигнализации через активацию фактора транскрипции NF- κ B, как известно, ведет к экспрессии матриксных металлопротеиназ, цитокинов, приводя к деградации межклеточного матрикса [18]. Мы предполагаем, что в дальнейшем процесс патогенеза ОА переходит в фазу местной тканевой реакции, где существенную роль играют процессы гипертрофической дифференцировки хондроцитов и остеоподобных клеток субхондральной кости [19]. Снижение проапоптотических влияний БТШ70 и сохранение постоянного уровня БТШ27 поддерживают данный процесс. Гипертрофированные хондроциты и остеобласты на II и III стадиях ОА, по-видимому, восстанавливают возможность активировать пролил-3-гидроксилазу через ХАБ, обеспечивая межклеточный матрикс неполноценными грубоволокнистыми фибриллярными белками, приводя в конечном итоге к ремоделированию субхондральной кости и деградации суставного хряща [20].

Прозрачность исследования

Исследование выполнено при финансовой поддержке внутривузовского гранта ТГМУ. Автор несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Окончательная версия рукописи была одобрена автором. Автор не получал гонорар за статью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кабалык МА, Гельцер БИ, Осипов АЛ, Фадеев МФ. Белки теплового шока – участники патогенеза остеоартроза. Казанский медицинский журнал. 2016;(5):624-30 [Kabalyk MA, Geltser BI, Osipov AL, Fadeev MF. Heat shock proteins – participants in osteoarthritis pathogenesis. *Kazanskiy Meditsinskiy Jurnal*. 2016;(5):24-30 (In Russ.)].
2. Bianchi A, Moulin D, Hupont S, et al. Oxidative stress-induced expression of HSP70 contributes to the inhibitory effect of 15d-PGJ2 on inducible prostaglandin pathway in chondrocytes. *Free Radic Biol Med*. 2014;76:114-26. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.028
3. Hsu HC, Chang WM, Wu JY, et al. Folate deficiency triggered apoptosis of synoviocytes: Role of overproduction of reactive oxygen species generated via NADPH oxidase/mitochondrial complex II and calcium perturbation. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146440. doi: 10.1371/journal.pone.0146440
4. Кабалык МА, Дубиков АИ, Петрикеева ТЮ и др. Феномен микрокристаллического стресса при остеоартрозе. Тихоокеанский медицинский журнал. 2014;(1):70-4 [Kabalyk MA, Dubikov AI, Petrikeeva TY, et al. Osteoarthritis and microcrystalline stress phenomenon. *Tikhookeanskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2014;(1):70-4 (In Russ.)].
5. Schett G, Redlich K, Xu Q, et al. Enhanced expression of heat shock protein 70 (hsp70) and heat shock factor 1 (HSF1) activation in rheumatoid arthritis synovial tissue. Differential regulation of hsp70 expression and HSF1 activation in synovial fibroblasts by proinflammatory cytokines, shear stress, and antiinflammatory drugs. *J Clin Invest*. 1998;102:302-11. doi: 10.1172/JCI2465
6. Pollack M, Phaneuf S, Dirks A, Leeuwenburgh C. The role of apoptosis in the normal aging brain, skeletal muscle, and heart. *Ann NY Acad Sci*. 2002;959:93-107. doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02086.x
7. Auger I, Escola JM, Gorvel JP, et al. HLA-DR4 and HLA-DR10 motifs that carry susceptibility to rheumatoid arthritis bind 70-kD heat shock proteins. *Nat Med*. 1996;2:306-10. doi: 10.1038/nm0396-306
8. Kang EH, Kim DJ, Lee EY, et al. Downregulation of heat shock protein 70 protects rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes from nitric oxide-induced apoptosis. *Arthritis Res Ther*. 2009;11:R130. doi: 10.1186/ar2797
9. Fan Z, Bau B, Yang H, et al. Freshly isolated osteoarthritic chondrocytes are catabolically more active than normal chondrocytes, but less responsive to catabolic stimulation with interleukin-1beta. *Arthritis Rheum*. 2005;52:136-43. doi: 10.1002/art.20725
10. Lambrecht S, Juchtmans N, Elewaut D. Heat-shock proteins in stromal joint tissues: innocent bystanders or disease-initiating proteins? *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(2):223-32. doi: 10.1093/rheumatology/ket277
11. Shields AM, Panayi GS, Corrigan VM. A new-age for biologic therapies: long-term drug-free therapy with BiP? *Front Immunol*. 2012;3:17. doi: 10.3389/fimmu.2012.00017
12. Lee WY, Wang CJ, Lin TY, et al. CXCL17, an orphan chemokine, acts as a novel angiogenic and anti-inflammatory factor. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013 Jan 1;304(1):E32-40. doi: 10.1152/ajpendo.00083.2012
13. Divorcy N, Mackenzie AE, Nicklin SA, Milligan G. G protein-coupled receptor 35: an emerging target in inflammatory and cardiovascular disease. *Front Pharmacol*. 2015;10;6:41. doi: 10.3389/fphar.2015.00041
14. Luttrell LM, Gesty-Palmer D. Beyond desensitization: physiological relevance of arrestin-dependent signaling. *Pharmacol Rev*. 2010;62:305-30. doi: 10.1124/pr.109.002436
15. Dwinell MB, Luger N, Eckmann L, Kagnoff MF. Regulated production of interferon-inducible T-cell chemoattractants by human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*. 2001;120:49-59. doi: 10.1053/gast.2001.20914
16. Grafe I, Alexander S, Yang T, et al. Sclerostin antibody treatment improves the bone phenotype of *crtap(-/-)* mice, a model of recessive osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res*. 2016;31(5):1030-40. doi: 10.1002/jbmr.2776
17. Holmes DF, Graham HK, Trotter JA, et al. STEM/TEM studies of collagen fibril assembly. *Micron*. 2001;32:273-85. doi: 10.1016/S0968-4328(00)00040-8
18. Yang RC, Chang CC, Sheen JM, et al. Davallia bilabiata inhibits TNF- α -induced adhesion molecules and chemokines by suppressing IKK/NF- κ B pathway in vascular endothelial cells. *Am J Chin Med*. 2014;42(6):1411-29. doi: 10.1142/S0192415X1450089X
19. Yoda M, Sakai T, Mitsuyama H, et al. Geranylgeranylacetone suppresses hydrogen peroxide-induced apoptosis of osteoarthritic chondrocytes. *J Orthop Sci*. 2011;16(6):791-8. doi: 10.1007/s00776-011-0138-z
20. Кабалык МА. Текстуальные характеристики субхондральной кости при остеоартрозе. Казанский медицинский журнал. 2016;97(4):518-23 [Kabalyk MA. Textural characteristics of subchondral bone in osteoarthritis. *Kazanskiy Meditsinskiy Jurnal*. 2016;5:24-30 (In Russ.)]. doi: 10.17750/KMJ2016-518