

**Abstract****R. A. Moskalenko,***Sumy State University, 2 Rymsko-go-Korsakova str., Sumy, 40007, Ukraine***ROLE OF CALPROTECTIN S100A8/S100A9 IN PATHOLOGICAL BIOMINERALIZATION**

Calprotectin has two calcium-binding proteins S100A8 (calgranulin A) and S100A9 (calgranulin B), which belong to the family of S100 proteins. These proteins are involved in intracellular signaling, affecting on the level of  $\text{Ca}^{2+}$  and as  $\text{Ca}^{2+}$ -buffer proteins. S100 proteins are involved in many cellular processes, such as cell cycle regulation, cell growth, differentiation and chemotaxis.

Today, metabolic disorders with S100 protein family are associated with development and progress of such pathologies as cardiomyopathy, atherosclerosis, neurodegenerative diseases, connective tissue diseases. Besides calprotectins take part in inflammation, reports about their antimicrobial activity, regulatory activity against cells, which are involved in immune reactions, carcinogenesis, development of amyloid-associated diseases are accumulated.

The aim is to analyze the data of scientific literature to establish the role of proteins calgranulins A and B and their complex (calprotectin) in the development of pathological biomineralization of soft tissues in human body.

Calprotectin is expressed by granulocytes, monocytes and macrophages in early stages of differentiation. For example, proteins S100A8 and S100A9 take up 45% of all cytoplasmic proteins in neutrophils, and in monocytes - only about 1% of protein cytoplasm. Also calprotectins expression was described in fibroblasts and endothelial cells, activated mature macrophages, osteoblasts and keratinocytes.

The main part of cytokino- and chemokino-like calprotectin activity is caused by its connection with RAGE receptors (receptor of advanced glycation and end products) and TLR4 (toll-like receptor 4) that trigger signaling pathways, which contribute to calcification in the vascular system, prostate, regulate cytoskeleton structure through polymerization of tubulin and more.

Calgranulin A (S100A8) and calgranulin B (S100A9) alone and as part of calprotectins complex are extremely interesting objects for studying their possible role in the pathological process of biomineralization. In addition to chemokine and cytokine activity and influence on different specific receptors, these molecules have important constitutive feature: the binding of calcium and some other two valence ions. The combination of proteins S100A8 and S100A9 with biomineralization in such pathological processes as inflammation, tumor growth and atherosclerosis, says about their obvious correlation.

Calprotectin-dependent endothelial damage may be a critical element in vascular morphogenesis biomineralization during chronic inflammation, atherosclerosis and cancer.

During analysis of the literature a concentration-dependent effect of S100A8/S100A9 on tumor cells is revealed: calprotectin and its components contribute to tumor growth and spread at low concentrations,

at high concentrations – cause apoptosis of neoplastic cells. Besides, calprotectin affect directly tumor cells through interaction with TLR4, which are expressed in them and they are endogenous receptors for S100A8/S100A9.

The number of calgranulin A and B increases at the early stages of complicated atherosclerosis while the development of biomineralization. S100A8 and S100A9 in atherosclerotic plaque may significantly affect the redox and calcium-dependent processes of atherosclerosis pathogenesis and its chronic complications, including abnormal biomineralization. Numerous properties of calgranulin S100A8/S100A9 and its components can be a point of the promising new drugs and finding new biomarkers of disease.

**Keywords:** calprotectin, biomineralization, calgranulin A, calgranulin B, atherosclerosis.

**Corresponding author:** r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

### Резюме

**Р. А. Москаленко,**

*Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, Україна, 40007*

### РОЛЬ КАЛЬПРОТЕКТИНУ S100A8/S100A9 У ПРОЦЕСАХ ПАТОЛОГІЧНОЇ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ

Кальпротектин складається з двох кальційзв'язуючих білків S100A8 (кальгрануліну А) та S100A9 (кальгрануліну В), які належать до сімейства S100 протеїнів. Ці білки беруть участь у внутрішньоклітинній передачі сигналів, впливаючи на рівень іонів  $\text{Ca}^{2+}$  або як  $\text{Ca}^{2+}$ -буферні білки. Білки S100 залучені до багатьох клітинних процесів, таких як регуляція клітинного циклу, клітинний ріст, диференціація та хемотаксис.

**Метою роботи** є проведення аналізу даних наукової літератури для встановлення ролі білків кальгранулінів А і В та їх комплексу (кальпротектину) у розвитку патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму.

Кальпротектин експресується гранулоцитами, моноцитами і ранніх стадіях диференціації макрофагів. Основна частина цитокіно- і хемокінопоподібної активності кальпротектину обумовлена його зв'язуванням з рецепторами RAGE (receptor of advanced glycation and end products) та TLR4 (toll-like receptor 4), які запускають сигнальні шляхи, які сприяють кальцифікації у судинній системі, передміхуровій залозі, регулюють структуру цитоскелету через полімерізацію тубуліну та інше.

Кальпротектин-залежне uszkodження ендотелію може бути критичним елементом у морфогенезі судинної біомінералізації при хронічному запаленні, атеросклерозі та пухлинному процесі. При аналізі літературних джерел виявляється концентраційно-залежний ефект впливу S100A8/S100A9 на пухлинні клітини: у низьких концентраціях кальпротектин та його компоненти сприяють пухлинному росту та поширенню, у високих концентраціях – призводять до апоптозу неопластичних клітин. Окрім цього, кальпротектин прямо впливає на пухлинні клітини через взаємодію з TLR4, які в них експресуються і є ендогенними рецепторами для S100A8/S100A9.

Кількість кальгранулінів А та В збільшується на початку стадій ускладненого атеросклерозу у зв'язку з розвитком біомінералізації. S100A8 та S100A9 в атеросклеротичній бляшці можуть суттєво впливати на редокс- і Ca-залежні процеси патогенезу атеросклерозу і його хронічних ускладнень, у тому числі патологічної біомінералізації.



Численні властивості кальпротектину S100A8/S100A9 та його компонентів можуть бути перспективними точками прикладення нових лікарських засобів та пошуку нових біомаркерів хвороб.

**Ключові слова:** кальпротектин, біомінералізація, кальгранулін А, кальгранулін В, атеросклероз.

#### Резюме

**Р. А. Москаленко,**

*Сумський державний університет, ул. Римського-Корсакова, 2, г. Сумы, Україна, 40007*

#### РОЛЬ КАЛЬПРОТЕКТИНА S100A8/S100A9 В ПРОЦЕССАХ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ

Кальпротектин состоит из двух кальцийсвязывающих белков S100A8 (кальгранулин А) и S100A9 (кальгранулин В), которые принадлежат к семейству S100 протеинов. Эти белки участвуют во внутриклеточной передаче сигналов, воздействуя на уровень ионов  $Ca^{2+}$  или как  $Ca^{2+}$ -буферные белки. Белки S100 вовлечены во многие клеточные процессы, такие как регуляция клеточного цикла, клеточный рост, дифференциация и хемотаксис.

Целью работы является проведение анализа данных научной литературы для установления роли белков кальгранулинов А и В их комплекса (кальпротектина) в развитии патологической биоминерализации мягких тканей человеческого организма.

Кальпротектин экспрессируется гранулоцитами, моноцитами и ранних стадиях дифференциации макрофагов. Основная часть цитокино- и хемокиноподобной активности кальпротектину обусловлена его связыванием с рецепторами RAGE (receptor of advanced glycation and end products) и TLR4 (toll-like receptor 4), которые запускают сигнальные пути, которые способствуют кальцификации в сосудистой системе, предстательной железе, регулируют структуру цитоскелета через полимеризации тубулина и прочее.

Кальпротектин-зависимое повреждение эндотелия может быть критическим элементом в морфогенезе сосудистой биоминерализации при хроническом воспалении, атеросклерозе и опухолевом процессе.

При анализе литературных источников оказывается концентрационно-зависимый эффект воздействия S100A8/S100A9 на опухолевые клетки: в низких концентрациях кальпротектин и его компоненты способствуют опухолевому росту и распространению, в высоких концентрациях - приводят к апоптозу неопластических клеток. Кроме этого, кальпротектин прямо влияет на опухолевые клетки через взаимодействие с TLR4, которые в них экспрессируются и являются эндогенными рецепторами для S100A8/S100A9.

Количество кальгранулинов А и В увеличивается в начале стадий осложненного атеросклероза в связи с развитием биоминерализации. S100A8 и S100A9 в атеросклеротической бляшке могут существенно влиять на редокс- и  $Ca$ -зависимые процессы патогенеза атеросклероза и его хронических осложнений, в том числе патологической биоминерализации.

Многочисленные свойства кальпротектина S100A8/S100A9 и его компонентов могут быть перспективными точками приложения новых лекарственных средств и поиска новых биомаркеров болезней.

**Ключевые слова:** кальпротектин, биоминерализация, кальгранулин А, кальгранулин В, атеросклероз.

**Автор, відповідальний за листування:** [r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua](mailto:r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua)



**Вступ**

Білки S100 — велика група кальцій-зв'язуючих кислих білків з невеликою молекулярною вагою (10-12 кДа) та двома кальцій-зв'язуючими сайтами в структурі білка за типом спіраль-поворот-спіраль (EF-hand). Назва S100 походить від властивостей представників цієї родини протеїнів розчинятись в 100 % розчині сульфату амонію при нормальному рН (англ. 100% soluble) [1].

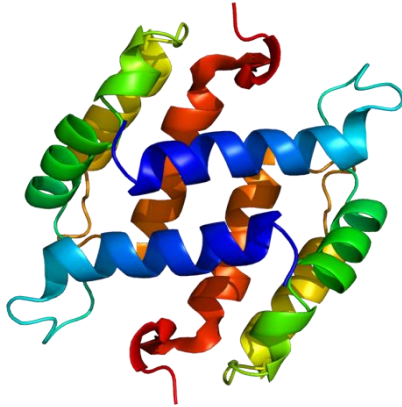


Рисунок 1 – Структура S100A8/S100A9

Невеликі розміри та стабільним функціональні домени білків групи S100 обумовлюють їх широку участь у тканино-специфічних внутрішньо- і позаклітинних процесах [2]. Майже всі білки сімейства S100 беруть участь у внутрішньоклітинній передачі сигналів, впливаючи на рівень іонів  $Ca^{2+}$  або як  $Ca^{2+}$ -буферні білки. Білки S100 залучені до багатьох клітинних процесів, таких як регуляція клітинного циклу, клітинний ріст, диференціація та хемотаксис [3].

На сьогодні, з порушенням обміну різних білків сімейства S100 пов'язують розвиток і перебіг такої патології, як кардіоміопатії, атеросклероз, нейродегенеративні захворювання, захворювання сполучної тканини [4-10]. Окрім участі кальпротектинів в процесах запалення, накопичуються повідомлення про їх антимікробну активність [11], регуляторну активність відносно клітин, які беруть участь у імунних реакціях [12, 13], канцерогенезі [14-18], розвитку амілоїд-асоційованих захворювань [19, 20].

*Метою роботи* є проведення аналізу даних наукової літератури для встановлення ролі білків кальгранулінів А і В та їх комплексу (кальпротектину) у розвитку патологічної біомінералізації м'яких тканин людського організму.

*Клітини-джерела кальпротектинів.* Два представники сімейства кальційзв'язуючих білків S100, кальгрануліни S100A8 (MRP-8) та S100A9 (MRP14), пов'язані з запаленням і посилено експресуються при запальних станах [2, 9, 21]. Важливою особливістю білків S100A8 та S100A9, в порівнянні з іншими представниками цієї родини, є те, що вони існують переважно у вигляді S100A8/S100A9 гетеродимеру, який має назву кальпротектин [3, 11, 13]. Самозбирання гетеродимеру кальпротектину є  $Ca^{2+}$ - та  $Zn^{2+}$  залежним процесом [21, 22]. Комплекс S100A8/S100A9 був ідентифікований як важлива частина аларміну або внутрішнього, асоційованого з пошкодженням молекулярного патерну (DAMP - damage associated molecular pattern). До системи DAMP також належать інші білки сімейства S100, включаючи S100A7, S100A12, S100A15 [24, 25]. DAMP – молекули продукуються клітинами внаслідок активації або як результат некротичної загибелі клітин, але не після апоптозу [20].

Гени, які кодують S100A8 та S100A9, розміщені у першій хромосомі людини 1q12-q21 [26]. Кальпротектин також раніше ідентифікований як незалежний «фактор, який пригнічує клітинний ріст» (CGIF - Cell growth-inhibitory factor) [2]. Кальпротектин експресується гранулоцитами, моноцитами і ранніх стадіях диференціації макрофагів [15]. Наприклад, у нейтрофілах, білки S100A8 та S100A9 займають до 45% всіх цитоплазматичних протеїнів, а в моноцитах – лише приблизно 1% білків цитоплазми [2]. Також була описана експресія кальпротектинів у фібробластах та ендотеліоцитах, активованих зрілих макрофагах, остеобластах та кератиноцитах [5, 11]. Біологічне значення зазначених фактів повністю не встановлене.

*Механізми дії S100A8 та S100A9.* Основна частина цитокіно- і хемокіноподібної активності кальпротектину обумовлена його зв'язуванням з рецепторами RAGE (receptor of advanced glycation and end products) та TLR4 (toll-like receptor 4), які запускають сигнальні шляхи, які сприяють кальцифікації у судинній системі, передміхуровій залозі, регулюють структуру цитоскелету через полімерізацію тубуліну та інше [22].

S100A8/S100A9 взаємодіє з компонентами цитоскелету шляхом кальцій-залежного зв'язування. Було описано специфічне зв'язування кальпротектину з актиновими філаментами, кератином, віментином та мікротубулами [22, 27]. Зазначені властивості кальпротек-



тину вказують на його надважливе значення для швидкої зміни конфігурації цитоскелету фагоцитів, що є молекулярним підґрунтям виконання їх функції.

Окрім внутрішньоклітинних функцій, комплекс S100A8/S100A9 має значну екстрацелюлярну активність. Головним джерелом позаклітинного кальпротектину є некротичні тканини та фагоцити, активовані запальними цитокінами [27]. Позаклітинно комплекс S100A8 та S100A9 проявляє антимікробну активність, стимулює продукцію IL-8 в епітеліальних клітинах дихальних шляхів і транспорт арахідонової кислоти до ендотелію, обумовлюючи патологічну відповідь на запалення та атеросклероз [13].

За останні 20 років, S100A8/S100A9 став відмінним біомаркером запальних процесів, таких як ревматоїдний артрит, запальні захворювання товстої кишки, ювенільний ідіопатичний артрит, хвороба Альцгеймера [8, 9, 10]. На сьогодні, сироватковий рівень S100A8/S100A9 використовують як незалежний фактор ризику у здорових осіб щодо кардіоваскулярних хвороб і як диференційно-діагностичний фактор стабільних і нестабільних атеросклеротичних бляшок коронарних артерій, інфаркту міокарду при гострому коронарному синдромі [4, 6, 7]. Референтним показником для S100A8/S100A9 є <1 мг/л, тоді як при різних запальних захворюваннях виявляються надзвичайно високі показники кальпротектину – 1,4-6,5 г/л [28, 29].

Кальгранулін А (S100A8) та кальгрануліну В (S100A9) як поодиноці, так і у складі кальпротектинового комплексу, є надзвичайно цікавими об'єктами для вивчення їх можливої ролі у процесах патологічної біомінералізації. Окрім цитота хемокінової активності та впливу на різні специфічні рецептори, ці молекули володіють важливою конститутивною особливістю: зв'язування іонів кальцію та деяких інших двох валентних іонів. Поєднання білків S100A8 та S100A9 з біомінералізацією у таких патологічних процесах як запалення, пухлинний ріст та атеросклероз, говорить про їх очевидний зв'язок. Проте причинно-наслідкові відносини та деталі цього зв'язку залишаються неясними.

Порушення функцій та uszkodження судин є важливим елементом запального процесу, розвитку і росту пухлин та, в особливості, атеросклерозу. Тому важливо відслідкувати взаємодію кальпротектинового комплексу та кальгранулінів з активним компонентом судин – ЕК. Було встановлено, що взаємодія фагоцитів і ак-

тивованих ЕК є важливим стимулом для секреції кальпротектину [30]. Зв'язування S100A8/S100A9 до ЕК відбувається за допомогою глікозаміноглікановому механізму (гепарансульфатів та карбоксильованих гліканів) [31]. Експерименти *in vitro* показали, що кальпротектин сприяє втраті клітино-клітинних контактів та підвищенню проникливості ендотеліального моношару [21]. Також було встановлено, що впродовж запального процесу саме мономерна форма S100A9 сприяє підвищенню спорідненості інтегринових рецепторів (CD11b/CD18) нейтрофілів до ЕК, що покращує екстравазацію фагоцитів [32]. Цікава інформація про направленість впливу S100A8/S100A9 виявилась у ході вивчення експресії апоптоз-залежних генів у ЕК [33]. Було виявлено, що експресія антиапоптозних генів пригнічується, а проапоптозних – таких як p53, bax, bak, навпаки, посилюється. Тривалий вплив S100A8/S100A9 на ендотелій запускає не тільки процеси апоптозу (з залученням мітохондріального шляху та каспази-3 та каспази-9), але також може призвести до некрозу [33]. Морфологічно це проявляється десквамацією та відшаруванням ендотелію, глибоким uszkodженням судинної стінки. Отже, кальпротектин-залежне uszkodження ЕК може бути критичним елементом у морфогенезі судинної біомінералізації при хронічному запаленні, атеросклерозі та пухлинному процесі.

Факт підвищеної експресії S100A8/S100A9 у хворих з різними пухлинами є відомим та активно досліджуваним [18]. Окрім зв'язку через запалення, кальпротектин прямо впливає на пухлинні клітини через взаємодію з TLR4, які в них експресуються і є ендогенними рецепторами для S100A8/S100A9 [34].

Численні дослідження ролі S100A8/S100A9 у канцерогенезі не дають однозначної відповіді щодо направленості впливу кальпротектинового комплексу і його компонентів. Дослідження *in vitro* показують індукцію апоптозу у різних культурах ліній пухлинних клітин людини і тварин [16, 35]. Однак доказів анти-пухлинної активності у дослідженнях *in vivo* дещо бракує [3]. Більше того, частина досліджень показує, що кальпротектин сприяє проліферації клітин [14]. Також був запропонований механізм, який пояснює про-пухлинну активність S100A8/S100A9. Згідно нього, внутрішньоклітинний кальпротектин регулює накопичення кістовий мозок-залежного супресора клітин (MDSC – myeloid dependent suppressor cells),



який обумовлює пригнічення активності дендритичних клітин, що спричиняє погіршення протипухлинного імунітету [17, 36]. Загалом, при аналізі літературних джерел виявляється концентраційно-залежний ефект впливу S100A8/S100A9 на пухлинні клітини: у низьких концентраціях кальпротектин та його компоненти сприяють пухлинному росту та поширенню [14-16], у високих концентраціях – призводять до апоптозу неопластичних клітин [16].

Патологічна біомінералізація і компоненти кальпротектинового комплексу ще більше перебиваються при атеросклеротичному процесі. Прогресуючий атеросклероз часто асоційований з дистрофічною кальцифікацією, існує зв'язок між кальцифікацією та серйозністю коронарної хвороби [37]. Дистрофічна кальцифікація веде до втрати еластичності і більшої схильності до розриву стінок судин, розвитку ішемічних і тромботичних ускладнень.

Кількість кальгранулінів А та В збільшується на початку стадій ускладненого атеросклерозу у зв'язку з розвитком біомінералізації [5, 6]. Також повідомляється, що моноцити на ранніх стадіях атеросклеротичного процесу і макрофаги всередині зрілої бляшки мишей з фенотипом ApoE<sup>-/-</sup>, експресують S100A8 та S100A9 [38]. Мишачий (м) S100A8 розглядається як потенційний хемоатрактант. Макрофаги з фенотипом мS100A8 проявляють «проатерогенний фенотип», експресуючи високі рівні CD 11b/CD18, Fc та скавенжерні рецептори до ліпопротеїдів низької щільності *in vitro* та *in vivo*, з холестерол-ефірним профілем, подібним до атеросклеротичної бляшки людини [38]. Таким чином, це може призвести до розвитку пінистої клітини.

Блок і мРНК S100A8 та S100A9 також експресуються в мікросудинах у ділянках неоваскулогенезу. Мономерна та комплексні форми S100A9 переважають у мікровезикулах (МВ), виділених з людської сонної артерії і аорти, що підтверджує його роль у патологічній біомінералізації [5]. Значна кількість S100A8 та S100A9 комплексів спостерігається у екстрактах з бляшок. S100A8 є надзвичайно чутливим до окислення, особливо до пероксидів та гіпохлоритів, що вказує на можливу роль білка в антиоксидантному захисті. Гіпохлорит з активованих нейтрофілів створює внутрішньо- і міжмолекулярні ковалентні цистеїн-лізинові сульфін-амідні зв'язки в S100A8. Гіпохлорит генерується мілопероксидазою, яка ко-локалізується з макрофагами в атеросклеротичних бляшках з проате-

рогенними формами окислених ЛПНЩ (ліпопротеїди низької щільності), Внутрішньоклітинно комплекс S100A8 та S100A9 формує матрицю для компонентів NADPH-оксидази і регулює активність кінази казеїну, що може через вплив на протеази сприяти розриву бляшки [13].

Артерії без ознак атеросклеротичного ураження не експресують S100A8 та S100A9 в інтимі [5]. Всі відділи судин, уражені ранніми або пізніми стадіями атеросклерозу містять велику кількість неправильно (хаотично) розподілених, інтенсивно забарвлених S100A8-позитивних пінистих клітин і макрофагів, деякі з них S100A8<sup>+</sup> - CD 68<sup>+</sup> розташовані головним чином біля новоутворених судин, деякі CD 68<sup>+</sup> клітини мають негативний S100A8<sup>-</sup> статус. Близько 50% ЕК новоутворених судин є S100A8<sup>+</sup>. У ділянці інтими міститься багато CD 68<sup>+</sup> макрофагів та багато пінистих клітин з S100A8<sup>+</sup> статусом. S100A9 присутній в пінистих клітинах і в CD 68<sup>+</sup> макрофагах навколо новоутворених судин та в ЕК всіх новоутворених судин. Навколишній екстрацелюлярний матрикс (ЕЦМ) показує відносно інтенсивну S100A9 імунореактивність. *In situ* гібридизація S100A8 і S100A9 мРНК зазначається у пінистих клітинах, позасудинних моноцитах навколо новоутворених судин і мікросудин у ділянках неоваскулогенезу. S100A8 і S100A9 не виявляються в люмінальному ендотелії артерій та у великих *vasa vasorum* [5]. У цьому ж дослідженні послідовні зрізи не містили експресії S100A8 і S100A9 в Т-лімфоцитах або гладеньких міоцитах (ГМК). Анти-S100A9 імунореактивність була асоційована з ранніми та пізніми кальцієвими депозитами, які оточені S100A9<sup>+</sup> клітинами, переважно макрофагами і деякою кількістю плазмоцитів, деякі з них тісно приєднані до кальцієвих депозитів. У роботі було встановлено, що S100A9 асоційований з відкладеннями кальцію у всіх випадках [5].

Білки сімейства S100 проявляються як важливі медіатори різноманітних процесів хронічного запалення. S100 A1/B виявляється в дендритних клітинах асоційованих з Т-лімфоцитами і може представляти антиген-презентуючі клітини в бляшці. S100A9- та S100A12-позитивні моноцити виявлені у висхідній аорті мишей з негативним ApoE<sup>-/-</sup> фенотипом, що може вказувати на регуляцію трансміграції моноцитів і ендотеліальну активацію [39].

Ключові цитокіни залучені до ініціації та дозрівання атеросклеротичної бляшки шляхом підвищувальної регуляції генів білків S100 в



багатьох типах клітин. Важливо, що внутрішньоклітинні кальгрануліни S100A8 та S100A9, регулюючи міграцію фагоцитів, тим самим сприяють експресії на мембрані моноцитів більшої кількості рецепторів TNF та IL-1, що сприяє процесам атерогенезу [40].

S100A9 переважає за експресією S100A8 в навколишньому ЕЦМ і в ділянках ранньої і поширеної кальцифікації, що можливо спричинено сильною спорідненістю до гепарину [41]. S100A9<sup>+</sup>-клітини з нечіткими контурами були виявлені в поєднанні з кальцієвими депозитами в інтимі. Невелика кількість S100A8<sup>+</sup> та високий рівень S100A9<sup>+</sup> мономерів та комплексів виявлених у виділених ферментативно активних матриксних везикулах (МВ) свідчить про участь S100A9 у мінералізації стінок судин [5].

Поки що невідомо, яка кіназа відповідає за фосфорилування S100A9. Фосфорильовані форми S100A9 переміщуються з плазматичної мембрани до цитосклетету і демонструють підвищення Ca-зв'язування в порівнянні з нефосфорильованими формами [42]. Це підтверджує, що фосфорилування змінює зв'язування кальцію і переміщення через мембрану.

### Висновки

Таким чином, дані огляду участі кальгранулінів у процесах патологічної біомінералізації показують, що S100A8 та S100A9 як поодиночі, так і у складі кальпротектинового комплексу, є надзвичайно цікавими об'єктами для вивчення їх можливої ролі у процесах патологічної біомінералізації. Окрім цито- та хемокінової активності та впливу на різні специфічні рецептори, ці молекули володіють важливою конститутивною особливістю: зв'язування іонів кальцію та деяких інших двох валентних іонів. Поєднання білків S100A8 та S100A9 з біомінералізацією у таких патологічних процесах як запалення, пухлинний ріст та атеросклероз, говорить про їх очевидний зв'язок.

Кальпротектин-залежне ушкодження ендотелію може бути критичним елементом у морфогенезі судинної біомінералізації при хронічному запаленні, атеросклерозі та пухлинному процесі.

При аналізі літературних джерел виявляється

Гени, які кодують S100A8, підвищують свою активність під впливом оксидативного стресу та причетні до антиоксидантного захисту, тому що може захоплювати оксиданти, такі як пероксиди та гіпохлорит [43]. Пероксиди утворюють дисульфідні з'єднанні димери, в той час як комплекс між- і внутрішньо молекулярних взаємодій і нових ковалентних сульфінамідних перехресних зв'язків між Cys41 і іпсилон-аміногрупами на залишках лізину в mS100A8 утворюється реагентами або гіпохлоритом, який походить з мієлопероксидази нейтрофілів. У дослідженнях McCormick M. et al [5] наводяться докази часткового зв'язування мієлопероксидази (МПО) та S100A9 з глікозаміногліканами ендотеліоцитів та ЕЦМ. S100A8 зустрічається переважно у формі нековалентних комплексів з S100A9, так як в безпосередній близькості цих білків спостерігається зниження оксидативного ураження. Отже, S100A8 та S100A9 в атеросклеротичній бляшці можуть суттєво впливати на редокс- і Ca-залежні процеси патогенезу атеросклерозу і його хронічних ускладнень, у тому числі патологічної біомінералізації.

концентраційно-залежний ефект впливу S100A8/S100A9 на пухлинні клітини: у низьких концентраціях кальпротектин та його компоненти сприяють пухлинному росту та поширенню, у високих концентраціях – призводять до апоптозу неопластичних клітин. Окрім цього, кальпротектин прямо впливає на пухлинні клітини через взаємодію з TLR4, які в них експресуються і є ендогенними рецепторами для S100A8/S100A9.

Кількість кальгранулінів А та В збільшується на початку розвитку ускладненого атеросклерозу з біомінералізацією. S100A8 та S100A9 в атеросклеротичній бляшці можуть суттєво впливати на редокс- і Ca-залежні процеси патогенезу атеросклерозу і його хронічних ускладнень, у тому числі патологічної біомінералізації.

Отже, численні властивості комплексу кальпротектину та його компонентів, можуть бути перспективними точками прикладення нових лікарських засобів та пошуку нових біомаркерів хвороб.

### References (список літератури)

1. Moore B. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun.* 1965; 19:739-744.
2. Edgeworth J, Gorman M, Bennett R, Freemont P, Hogg N. Identification of p 8, 14 as a highly abundant heterodimeric calcium bind-



- ing protein complex of myeloid cells. *Journal of Biological Chemistry*. 1991; 266 (12):7706-7713.
3. Erchen JM, Sunderkotter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity and cancer. *J. Leukoc. Biol.* 2009; 86:557-566.
  4. Altwegg L.A, Neidhart M, Hersberger M et al. Myeloid-related protein 8/14 complex is released by monocytes and granulocytes at the site of coronary occlusion: a novel, early and sensitive marker of acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.* 2007; 28: 941-948.
  5. McCormick M, Rahimi F, Bobryshev Y.V, Gaus K [et al]. S100A8 and S100A9 in human arterial wall. *The journal of biological chemistry*. 2005; 280 (50):41521–41529.
  6. Healy AM, Pickard MD, Pradhan AD et al. Platelet expression profiling and clinical validation of myeloid-related protein-14 as a novel determinant of cardiovascular events. *Circulation*. 2006; 113:2278-2284.
  7. Morrow DA, Wang Y, Croce K et al. Myeloid-related protein 8/14 and the risk of cardiovascular death or myocardial infarction after an acute coronary syndrome in the Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy: Thrombolysis in Myocardial Infarction (PROVE IT-TIMI 22) Trial. *Am. Heart J.* 2008;155:49-55.
  8. Horvath I, Jia X, Johansson P et al. Pro-inflammatory S100A9 protein as a robust biomarker differentiating early stages of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci*. 2016; 7 (1) : 34-9. doi: 10.1021/acschemneuro.5b00265. Epub 2015 Nov 12.
  9. Foell D, Roth J. Proinflammatory S100 proteins in arthritis and autoimmune disease. *Arthritis Reum.* 2004; 50:3762-3771.
  10. Frosh M, Roth J. New insights in systemic juvenile idiopathic arthritis – from pathophysiology to treatment. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47: 121-125.
  11. Damo SM, Kehl-Fie TE, Sugitani N et al. Molecular basis for manganese sequestration by calprotectin and roles in the innate immune response to invading bacterial pathogens. *PNAS*. 2003; 110 (10):3841-3846.
  12. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9:162-174.
  13. Nacken W, Roth J, Sorg C, Kerkhoff C. S100A8/S100A9: myeloid representatives of the S100 protein family as prominent players in innate immunity. *Microsc. Res. Tech.* 2003; 60: 569-580.
  14. Turovskaya O, Foell D, Sinha P et al. RAGE, carboxylated glycans and S100A8/S100A9 play essential roles in colitis-associated carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2008; 29: 6-14.
  15. Hiratsuka S, Watanabe A, Abutarani H, Maru Y. Tumor-related upregulation of chemoattractants and recruitments of myeloid cells predetermines lung metastases. *Nat. Cell. Biol.* 2006; 8:1369-1375.
  16. Ghavami S, Rashedi I, Dattilo B.M et al. S100A8/A9 at low concentration promotes tumor cell growth via RAGE ligation and MAP kinase-dependent pathway. *J. Leuoc. Biol.* 2008; 83:1484-1492.
  17. Cheng P, Corzo CA, Luetekke N et al. Inhibition of dendritic cell differentiation and accumulation of myeloid-derived suppressor cell in cancer is regulated by S100A9 protein. *J. Exp. Med.* 2008; 205:2235-2249.
  18. Gebhardt C, Riehl A, Durchdewald M et al. RAGE signaling sustains inflammation and promotes tumor development. *J. Exp. Med.* 2008; 205:275-285.
  19. Yanamandra K, Alexeyev O, Zamotin V, Srivastava V et al. Amyloid formation by the pro-inflammatory S100A8/A9 proteins in the ageing prostate. *Plos One*. 2009; 4(5):e5562.
  20. Vogl T, Gharibyan A, Morozova-Roche L.A. Pro-inflammatory S100A8 and S100A9 proteins: self-assembly into multifunctional native and amyloid complexes. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13:2893-2917; doi: 10.3390/ijms13032893.
  21. Viemann D, Strey A, Janning A et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells. *Blood*. 2005; 105: 2955-2962.
  22. Vogl T, Ludvig S, Goebeler M et al. MRP8 and MRP14 control microtubule reorganization during transendothelial migration of phagocytes. *Blood*. 2004;115 (13):4260-4268.
  23. Wang L, Luo H, Chen X, Jiang Y, Huang Q. Functional characterization of S100A8 and S100A9 in altering monolayer permeability of human umbilical endothelial cells. *PLoS ONE*. 2014; 9(3): e90472. doi: 10.1371 / journal.pone.0090472.





24. Foell D, Wittkowski H, Vogl T, Roth J. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage – associated molecular pattern molecules. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81:28-37.
25. Foell D, Wittkowski H, Roth J. Mechanism of disease: a “DAMP” view of inflammatory arthritis. *Nature Clinical Practice Rheumatology.* 2007; 3 (7):382-390.
26. Schafer B.W, Wicki R, Engelcamp D, Mattei M.G, Heizmann C.W. Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family. *Genomics.* 1995; 25:638-643.
27. Rammes A, Roth J, Goebeler M et al. Myeloid-related proteins (MRP) 8 and MRP14, calcium-binding proteins of the S100 family, are secreted by activated monocytes via a novel, tubulin-dependent pathway. *J. Biol. Chem.* 1997; 272:9496-9502.
28. Sampson B, Fagerhol M.K, Sunderkorter C et al. Hyperzinkemia and hypercalprotectinemia: a new disorder of zink metabolism. *Lancet.* 2002; 360:1742-1745.
29. Isidor B, Poignant S, Corradini N et al. Hyperzinkemia and hypercalprotectinemia: unsuccessful treatment with tacrolimus. *Acta Paediatr.* 2008; 98:410-412.
30. Frosh M, Strey A, Vogl T et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and active endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Reum.* 2000; 43:628-637.
31. Robinson MJ, Tesseir P, Poulsom R, Hogg N. The S100 family heterodimer, MRP-8/14, binds with high affinity to heparin and heparin sulfate glycosaminoglycans on endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 2002; 277:3558-3665.
32. Newton RA, Hogg N. The human S100 protein MRP-14 is a novel activator of the  $\beta$ 2 integrin Mac-1 on neutrophils. *J. Immunol.* 1998; 160:1427-1435.
33. Viemann D, Barczyk K, Vogl T et al. Myeloid-related proteins 8/14 impairs endothelial integrity and induces a caspase-dependent and –independent cell death program. *Blood.* 2007; 109: 2453-2460.
34. Voelcker V, Gebhardt C, Averbek M et al. Hyaluran fragments induce cytokine and metalloproteinase upregulation in human melanoma cells in part by signaling via TLR4. *Exp. Dermatol.* 2008; 17:100-107.
35. Yui S, Nakatani Y, Mikami M. Calprotectin (S100A8/S100A9), an inflammatory protein complex from neutrophils with a broad apoptosis-inducing activity. *Biol. Pharm. Bull.* 2003; 26(6):753-760.
36. Ichikawa M, Williams R, Wang L et al. S100A8/A9 activate key genes and pathways in colon tumor progression. *Mol. Cancer Res.* 2011; 9:133-148.
37. Polonsky T.S, McClelland R.L, Jorgensen N.W et al. Coronary artery calcium score and risk classification for coronary heart disease prediction. *JAMA.* 2010; 303 (16):1610-16.
38. Eue I, Langer C, Eckardstein A, Sorg, C. Myeloid related protein (MRP) 14 expressing monocytes infiltrate atherosclerotic lesions of ApoE null mice. *Atherosclerosis.* 2000; 151:593–597.
39. Ravasi T, Hsu K, Goyette J et al. Probing the S100 protein family through genomic and functional analysis *Genomics.* 2004; 84:10–22.
40. Kerkhoff C, Eue I, Sorg C. The regulatory role of MRP8 (S100A8) and MRP14 (S100A9) in the transendothelial migration of human leukocytes. *Pathobiology.* 1999; 67:230–232.
41. Yen T, Harrison C. A, Devery J. M et al. Induction of the S100 chemotactic protein, CP-10, in murine microvascular endothelial cells by proinflammatory stimuli *Blood.* 1997; 90:4812–4821.
42. Van den Bos, C, Roth, J, Koch, HG et al. Phosphorylation of MRP14, an S100 protein expressed during monocytic differentiation, modulates  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent translocation from cytoplasm to membranes and cytoskeleton. *J. Immunol.* 1996; 156:1247–1254.
43. Raftery M. J, Yang Z, Valenzuela S. M, Geczy, C. L. Novel intra- and inter-molecular sulfonamide bonds in S100A8 produced by hypochlorite oxidation *J. Biol. Chem.* 2001; 276:33393–33401.

(received 06.06.2016, published online 28.06.2016)

(одержано 06.06.2016, опубліковано 28.06.2016)

