

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).  
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Authors 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 01.07.2017. Revised: 02.07.2017. Accepted: 31.07.2017.

## VALUE OF OSTEOPROTEGERIN, RANKL, INTERLEUKIN-17 IN MECHANISMS OF BONE METABOLISM DISORDERS

V. F. Cheremisina

National University of Pharmacy

### Abstract

The relationship between osteoprotegerin, RANKL and interleukin-17 in the mechanisms of abnormal remodeling of bone tissue during experimental periodontitis was studied in this work. Increased levels of RANKL and pro-inflammatory IL-17 were found, as well as a decrease in the serum osteoprotegerin content of rat experimental rats. The revealed correlations between the level of interleukin-17, RANKL and osteoprotegerin indicate an important role of the studied cytokines in bone remodeling disorders during periodontitis.

**Key words: cytokines, remodeling of bone tissue, periodontitis.**

**ЗНАЧЕНИЕ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА, RANKL, ИНТЕРЛЕЙКИНА-17  
В МЕХАНИЗМАХ НАРУШЕНИЯ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ**

**В. Ф. Черемисина**

**Национальный фармацевтический университет, г. Харьков**

**Реферат**

В работе были изучены взаимосвязи остеопротегерина, RANKL и интерлейкина-17 в механизмах нарушения ремоделирования костной ткани при экспериментальном пародонтите. Было выявлено повышение уровня RANKL и провоспалительного ИЛ-17, а также снижение содержания остеопротегерина в сыворотке крови крыс экспериментальной группы. Выявленные корреляционные связи между уровнем интерлейкина-17 RANKL и остеопротегерина свидетельствуют о важной роли исследуемых цитокинов в нарушениях костного ремоделирования при пародонтите.

**Ключевые слова:** цитокины, ремоделирование костной ткани, пародонтит.

**ЗНАЧЕННЯ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНУ, RANKL, ІНТЕРЛЕЙКІНУ-17  
В МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕННЯ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ**

**В. Ф. Черемісіна**

**Національний фармацевтичний університет, м. Харків**

**Реферат**

В роботі були вивчені взаємозв'язки остеопротегерину, RANKL та інтерлейкіну-17 в механізмах порушення ремоделювання кісткової тканини при експериментальному пародонтиті. Було виявлено підвищення рівнів RANKL та прозапального ІЛ-17, а також зниження вмісту остеопротегерину в сироватці крові щурів експериментальної групи. Виявлені кореляційні зв'язки між рівнем інтерлейкіну-17, RANKL та остеопротегерину свідчать про важливу роль досліджуваних цитокінів в порушеннях кісткового ремоделювання при пародонтиті.

**Ключові слова:** цитокіни, ремоделювання кісткової тканини, пародонтит.

**Вступ.** Порушення кісткового метаболізму, викликані хронічним пародонтитом, що призводять до розвитку вторинного остеопорозу, характеризуються дисбалансом в механізмах ремоделювання кісткової тканини [9]. Ремоделювання представляє собою пов'язані за часом процеси резорбції та формування кістки, що досягаються за рахунок міжклітинної взаємодії, опосередкованої впливом більшості цитокінів і факторів росту.

Розумінню механізмів розвитку стероїдного остеопорозу сприяло відкриття системи регуляторних білків остеопротегерину (OPG) – активатора рецептора NF- $\kappa$ B-ліганд (RANKL) – RANKL, які розглядаються як основні сигнальні шляхи, які контролюють резорбцію кістки в фізіологічних та патологічних умовах [12].

Важливу роль в регуляції метаболізму кісткової тканини відіграє прозапальний цитокін – інтерлейкін-17 (ІЛ-17), який продукується активованими Т-клітинами. ІЛ-17 здатний посилювати диференціацію остеобластів та їх функціональну активність через RANKL (прямим та непрямим шляхом) і інші остеокластогенні фактори, що призводить до формування кістково-деструктивних змін.

**Мета роботи** – вивчити значення міжклітинних медіаторів (на прикладі остеопротегерину, RANKL та інтерлейкіну-17) в механізмах порушення ремоделювання кісткової тканини в експерименті на моделі пародонтиту.

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведено в 2 групах (по 40 тварин) білих нелінійних щурах-самцях масою  $240,0 \pm 30,0$  г. Перша група – контрольна (К), була сформована із інтактних тварин. Тваринам другої експериментальної групи моделювали порушення кісткового метаболізму при пародонтиті, який відтворювали на 5 кроликах породи шин шила, масою 3,5 кг, яким протягом 13 днів в ділянку різців нижньої щелепи вводили 0,1 % розчин гідрокортизону-ацетат дозою 0,1 мл [2]. Ця модель пародонтиту була застосована нами в зв'язку з тим, що кролики часто використовуються для експериментального моделювання запальних захворювань тканин пародонту, оцінки репаративних властивостей кісткової тканини. Ця модель може бути ефективно застосована для тестування різних матеріалів кісткової пластинки. Окрім цього, характеристика мікроорганізмів порожнини рота кролика показала багаточисленні патогенні мікроорганізми, в тому числі *F. nucleatum*, *P. heparinolytica*, *Prevotella* spp., *P. micros*, *S. milleri* group, *A. israelii*, *A. haemolyticum*, які так чи інакше пов'язані з захворюваннями пародонту [11].

Порушення ремоделювання кісткової тканини контролювали за допомогою прямого вимірювання щільності кістки, яку розраховували як відношення маси кістки (г) до об'єму даної кістки (см<sup>3</sup>) [4]. Об'єм кістки визначали за об'ємом витісненої рідини. Кров для дослідження тварин брали із серця шприцом.

Дослідження цитокинового профілю проводили в сироватці крові методом імуноферментного аналізу. Рівень інтерлейкіну-17 визначали за допомогою набору реагентів Вектор-Бест (Росія); рівень ampli-sRANKL – за допомогою набору BIOMEDICA (Австрія). Рівень остеопротегерину досліджували, використовуючи набір eBioscience (Австрія).

Математична обробка результатів була проведена із застосуванням пакету статистичного аналізу Statistica 8.0. Відмінності між порівнюваними показниками вважали достовірними, якщо значення вірогідності було більше чи рівно 95 % ( $p \leq 0,05$ ) [1].

Експериментальні маніпуляції здійснювали у відповідності з принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986), «Загальними принципами експериментів на тваринах», схваленими I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та вимогами «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» (2012) [3].

**Результати та їх обговорення.** При дослідженні щільності кістки було відмічено її зниження в групі тварин з пародонтитом ( $1,431 \pm 0,038$  г/см<sup>3</sup>) у порівнянні з контрольною групою ( $1,53 \pm 0,026$  г/см<sup>3</sup>), що підтверджує порушення ремоделювання кістки в цій групі. Однак, ця різниця була статистично незначуща. Як вказано в табл. 1, у тварин експериментальної групи рівні вмісту в крові цитокінів ІЛ-17 та RANKL були достовірно вищі, ніж у інтактних тварин ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 1

**Рівні цитокінів у щурів з пародонтитом ( $\bar{X} \pm S_x$ )**

Показники	Група	
	Група контролю	Група з моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті
ІЛ-17, пг/мл	$28,166 \pm 0,526$	$37,143 \pm 1,014^*$
RANKL, пмоль/л	$0,131 \pm 0,006$	$0,184 \pm 0,018^*$
OPG, пг/мл	$21,588 \pm 0,763$	$16,588 \pm 0,669^*$

Примітка. \* -  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою тварин.

**Кореляційні зв'язки між цитокінами, RANKL та OPG при пародонтиті (X±S<sub>x</sub>)**

Показники	Контрольна група щурів		Група з моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті	
	ІЛ-17	RANKL	ІЛ-17	RANKL
Цитокіни	ІЛ-17	RANKL	ІЛ-17	RANKL
RANKL	-0,003	-	0,54*	-
OPG	0,03	-0,09	0,64*	0,11

*Примітка.* \* -  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою тварин.

В той же час у групі тварин з пародонтитом сироватковий рівень OPG був достовірно нижчим аналогічного рівня у тварин контрольної групи ( $p \leq 0,05$ ).

В групі тварин з пародонтитом на 32 % підвищувався рівень прозапального цитокіну ІЛ-17. За даними літератури ІЛ-17 збільшує продукцію прозапальних цитокінів при пародонтиті [10], які, в свою чергу, підвищують продукцію рецептора активатора ядерного фактора-кв ліганда (RANKL) та стимулюють диференціацію та активацію остеокластів, що призводить до втрати кісткової маси. ІЛ-17 також знижує експресію OPG в клітинах остеобластів, що сприяє остеокластогенезу та зниженню щільності тканини [5]. За даними літератури, якщо в доповнення до ефектів від пародонту додати ефекти від застосування лікарських засобів, можна буде спостерігати зниження мінеральної щільності кістки. Так, якщо використовувати стероїди, сироватковий рівень RANKL підвищується на 40 % та на 77 % зменшує рівень його природного антагоніста OPG. Це підтверджує дані досліджень про те, що глюкокортикоїди підвищують експресію RANKL остеобластами та інгібують синтез OPG, що призводить до диференціації остеокластів, в результаті чого відбувається стимуляція кісткової резорбції [6]. Глюкокортикоїди діють безпосередньо на остеокласти, зменшуючи апоптоз зрілих остеокластів. При цьому вони продовжують тривалість життя остеокластів, незважаючи на скорочення кількості їх попередників [7]. З іншого боку, глюкокортикоїди пригнічують проліферацію, диференціювання та функціональну активність остеобластів та індукують їх апоптоз [8].

При проведенні кореляційного аналізу (табл. 2) було виявлено, що RANKL та OPG слабо корелюють один з одним в контрольній та експериментальній групах, що може свідчити про те, що в регуляції синтезу цитокінів задіяна велика кількість процесів, вплив яких не завжди відображають їх сироваткові рівні.

В той же час в групі щурів з пародонтитом RANKL та OPG достовірно корелюють з прозапальним ІЛ-17. Це свідчить про те, що в експериментальній групі ІЛ-17 індукує експресію RANKL та інгібує продукцію остеопротегерину – ключових регуляторів остеокластогенезу, що призводить до втрати кісткової маси в цій групі тварин. Тобто, прозапальний цитокін є прямим стимулятором RANKL є одними із можливих патогенетичних механізмів.

#### **Висновки:**

1. В групі тварин з моделлю порушення ремоделювання кісткової тканини при пародонтиті підвищуються рівні RANKL та прозапального ІЛ-17, а вміст остеопротегерину знижується.

2. Виявлені кореляційні зв'язки між рівнем інтерлейкніну-17, RANKL та остеопротегерину свідчать про важливу роль досліджуваних цитокінів в порушеннях кісткового ремоделювання при пародонтиті.

#### **Література:**

1. Гублер Е. В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е. В. Гублер, А. А. Генкин. – Л. : Медицина, 1973. – 141 с.

2. Жулев Е. Н. Экспериментальное моделирование воспалительных заболеваний пародонта / Е. Н. Жулев, А. В. Кочубейник, Р. Д. Лапшин // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-4. – С. 744–747.

3. Общие этические принципы экспериментов на животных : материалы I Национального конгресса по биоэтике, 2001. – К.: НАНУ. – 16 с.

4. Подковкин В. Г. Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции / В. Г. Подковкин, Д. Г. Иванов, Г. А. Иванов // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 7. – С. 13–16.

5. Cheung W. W. The impact of inflammation on bone mass in children / W. W. Cheung, J. Y. Zhan, K. H. Paik // *Pediatr. Nephrol.* – 2011. – Vol. 26 (11). – P. 1937–1943.

6. Hakeda Y. Action of glucocorticoid on bone-forming and bone-resorbing cells / Y. Hakeda // *Clin. Calcium.* – 2006. – Vol. 16 (11). – P. 1817–1822.

7. Jia D. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their life span and reduce bone density / D. Jia, C. A. O'Brien, S. A. Stewart // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147. – P. 5592–5599.

8. Eijken M. The essential role of glucocorticoids for proper human osteoblast differentiation and matrix mineralization / M. Eijken, M. Kordam, M. van Driel // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2006. – Vol. 248. – P. 87–93.
9. Miller P. D. Diagnosis and treatment of osteoporosis in chronic renal disease / P. D. Miller // *Semin Nephrol*. – 2009. – Vol. 29 (2). – P. 144–155.
10. Ramani K. An essential role of interleukin-17 receptor signaling in the development of autoimmune glomerulonephritis / K. Ramani, S. Pawaria, K. Maers // *J. Leukoc. Biol.* – 2014. – Vol. 96 (3). – P. 463–472.
11. Tyrrell K.L., Citron D.M., Jenkins J.R. Periodontal bacteria in rabbit mandibular and maxillary abscesses. *Journal of Clinical Microbiology*. – 2002. – Vol. 40. – P. 1044–1047.
12. Walsh M. C. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone and beyond / M. C. Walsh, Y. Choi // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 511.

#### **References:**

1. Gubler Ye. V. *Primeneniye neparametricheskikh kriteriyev statistiki v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh* / Ye. V. Gubler, A. A. Genkin. – L. : Meditsina, 1973. – 141 s. (in Russian)
2. Zhulev Ye. N. *Eksperimental'noye modelirovaniye vospalitel'nykh zabolevaniy parodonta* / Ye. N. Zhulev, A. V. Kochubeynik, R. D. Lapshin // *Fundamental'nyye issledovaniya*. – 2015. – № 1-4. – S. 744–747. (in Russian)
3. *Obshchiye eticheskiye printsipy eksperimentov na zhivotnykh : materialy I Natsional'nogo kongressa po bioetike, 2001.* – K.: NANU. – 16 c. (in Russian)
4. Podkovkin V. G. *Vliyaniye postoyannogo magnitnogo polya na sostoyaniye kostnoy tkani krysa s povyshennym urovnem rezorbtsii* / V. G. Podkovkin, D. G. Ivanov, G. A. Ivanov // *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya*. – 2008. – № 7. – S. 13–16. (in Russian)
5. Cheung W. W. The impact of inflammation on bone mass in children / W. W. Cheung, J. Y. Zhan, K. H. Paik // *Pediatr. Nephrol.* – 2011. – Vol. 26 (11). – P. 1937–1943.
6. Hakeda Y. Action of glucocorticoid on bone –forming and bone-resorbing cells / Y. Hakeda // *Clin. Calcium*. – 2006. – Vol. 16 (11). – P. 1817–1822.
7. Jia D. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their life span and reduce bone density / D. Jia, C. A. O'Brien, S. A. Stewart // *Endocrinology*. – 2006. – Vol. 147. – P. 5592–5599.

8. Eijken M. The essential role of glucocorticoids for proper human osteoblast differentiation and matrix mineralization / M. Eijken, M. Kordam, M. van Driel // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2006. – Vol. 248. – P. 87–93.
9. Miller P. D. Diagnosis and treatment of osteoporosis in chronic renal disease / P. D. Miller // *Semin Nephrol*. – 2009. – Vol. 29 (2). – P. 144–155.
10. Ramani K. An essential role of interleukin-17 receptor signaling in the development of autoimmune glomerulonephritis / K. Ramani, S. Pawaria, K. Maers // *J. Leukoc. Biol*. – 2014. – Vol. 96 (3). – P. 463–472.
11. Tyrrell K.L., Citron D.M., Jenkins J.R. Periodontal bacteria in rabbit mandibular and maxillary abscesses. *Journal of Clinical Microbiology*. – 2002. – Vol. 40. – P. 1044–1047.
12. Walsh M. C. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone and beyond / M. C. Walsh, Y. Choi // *Front. Immunol*. – 2014. – Vol. 5. – P. 511.