

A cyclist wearing a blue helmet and a yellow and black jersey is riding on a winding asphalt road. The road curves through a lush, green, rocky landscape with steep, moss-covered cliffs. The sky is bright and clear.

# WayScience

VIII Міжнародна науково-практична  
інтернет-конференція

**«Сучасний рух науки»**



# WayScience

VIII Міжнародна науково-практична  
інтернет-конференція

**«Сучасний рух науки»**

Редакція Міжнародного електронного науково-практичного журналу «WayScience»

Матеріали подані в авторській редакції. Редакція журналу не несе відповідальності за зміст тез доповіді та може не поділяти думку автора.

**Сучасний рух науки: тези доп. VIII міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 3-4 жовтня 2019 р. – Дніпро, 2019. – Т.1. – 752 с.**

VIII міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасний рух науки» присвячена головній місії Міжнародного електронного науково-практичного журналу «WayScience» – прокласти шлях розвитку сучасної науки від ідеї до результату.

Тематика конференцій охоплює всі розділи Міжнародного електронного науково-практичного журналу «WayScience», а саме:

- державне управління;
- філософські науки;
- економічні науки;
- історичні науки;
- юридичні науки;
- сільськогосподарські науки;
- географічні науки;
- педагогічні науки;
- психологічні науки;
- соціологічні науки;
- політичні науки;
- інші професійні науки.

оцінкою щодо оптового товарообороту від продажу товарів, що вироблені підприємствами на території України, яка повинна бути виправлена.

Таким чином при правильному веденні обліку та звітуванні необхідно чітко дотримуватися норм чинного законодавства України.

### **Список літератури:**

1. Податковий кодекс України № 2755-VI від 2 грудня 2010 року.  
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2755-17>

*Тематика: Інші професійні науки (медицина, стоматологія)*

## **ВИВЧЕННЯ СИГНАЛЬНОГО ШЛЯХУ RANKL/RANK/OPG ДЛЯ ОЦІНКИ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗУБІВ**

**<sup>1</sup>Бродецька Л.В.**

д.мед.н., проф.

**<sup>1</sup>Фліс П.С.**

д.мед.н., проф.

**<sup>1</sup>Натрус Л.В.**

к.біол.н.

**<sup>2</sup>Лісаковська О.А.**

e-mail:Lnatrus777@gmail.com

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ,

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ

Оцінка локального порушення ремоделювання кісткової тканини зубів є важливим кроком для діагностики ретенції зубів - найбільш розповсюдженої аномалії, яка складає до 7 % випадків звернень пацієнтів і складає актуальну проблему для лікарів-ортодонтів. Ретеновані зуби – це ті, які повністю сформувались, проте не прорізувались. Прорізування зуба є складним

високорегульованим процесом, в якому задіяні клітини як самого зуба, так і оточуючих тканин. Прорізування зуба та вихід його у ротову порожнину вважається цікавою моделлю для вивчення процесу ремоделювання кісткової тканини, адже в ньому задіяні чітко скоординовані процеси формування і резорбції кісткової тканини за участі остеобластів та остеокластів. Відомо, що у регулюванні цього складного процесу беруть участь цитокінові системи, зокрема сигнальний шлях RANKL/RANK/OPG. Який включає рецептор активатора ядерного фактору транскрипції  $\kappa$ B (RANK), його ліганд (RANKL) та остеопротегерин (OPG), які контролює дозрівання та активування остеокластів та процес резорбції. Проте остеобласти – клітини, що відповідають за формування кісткової тканини, також можуть контролювати перебіг процесу прорізування зуба через модулювання стану шляху RANKL/RANK/OPG, адже вони продукують як остеопротегерин, який є інгібітором резорбції, так і RANKL, який є його індуктором [1-3].

**Мета роботи** оцінити зміни стану сигнального шляху RANKL/RANK/OPG як потенційного регулятора процесу прорізування зубів у пацієнтів з ретенуваними зубами (РЗ).

**Матеріали та методи.** Для дослідження були ретельно відібрані пацієнти (n=12) з РЗ яким була показана операція з видалення іншого зуба для вивільнення місця на щелепі. В умовах операційної кімнати стоматологічного центру у пацієнтів під час оперативного втручання забирали невеличкий шматочок кісткової тканини над зоною РЗ. Для порівняння вмісту сигнальних протеїнів саме у цих пацієнтів забирали шматочок кістки біля здорового зуба (ЗЗ) [4]. Контрольну групу (КГ) (n=6) склали здорові донори без порушення прорізування зубів в анамнезі, яким за плановим оперативним втручанням видаляли зуби із шматочком прилеглої до зуба кісткової тканини. Ці проби кісткової тканини обробляли фізіологічним розчином для очищення від крові та слини і поміщали у ємкість із рідким азотом для раптової заморозки. Шматочки замороженої кістки обробляли за стандартним протоколом для отримання протеїнових лізатів і виконували вимірювання методом вестерн-блот аналізу

для кількісного визначення протеїнів системи RANKL/RANK/OPG [5]. Перед проведенням електрофорезу лізати вирівнювали за концентрацією протеїну та прогрівали при  $\pm 95^{\circ}\text{C}$  протягом 5 хв у буфері Леммлі. Електрофоретичне розділення протеїнів у 10-15% поліакриламідному гелі (ПААГ) проводили у трис-гліциновому буфері з рН 8,3 (25 мМ Tris-HCl, 192 мМ гліцину, 0,1% додецилсульфату натрію) (30-100 мкг протеїну на лунку) при напрузі 100-110 V. Для визначення молекулярної маси протеїнів на електрофореграмах використовували протеїнові стандарти (Thermo Scientific, США). Розділені за молекулярною вагою протеїни з ПААГ переносили на нітроцелюлозну мембрану протягом 1 год при 350 мА у трансфер-буфері з рН 8.3 (25 мМ трис, 192 мМ гліцину, 0,1% додецилсульфату натрію, 20% метанолу) [182]. Вільні центри зв'язування блокували 5% знежиреним сухим молоком в PBS з 0,05% Tween-20 (PBST) протягом 1 год. Мембрану відмивали тричі по 5 хв у PBST, інкубували ніч при  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  з цільовими антитілами у попередньо підібраних оптимальних концентраціях: RANK (1:400), RANKL (1:250), OPG (1:250) та  $\beta$ -актину (1:20000). Після інкубування з первинними антитілами мембрану тричі по 5 хв відмивали у PBST, після чого протягом 1-1,5 год при кімнатній температурі інкубували зі специфічними вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому у розведенні 1:4000 для anti-mouse антитіл. Надалі мембрану знову відмивали та виявляли імунореактивні сигнали за допомогою реактивів для посиленої хемілюмінесценції (1,25 мМ розчин люмінолу, 2,72 мМ розчин кумарової кислоти та 0,01% розчин гідроген пероксиду в 0,1 М Tris-HCl, рН 8.5). Час експозиції оброблених мембран на рентгенівській плівці залежав від інтенсивності хемілюмінісценції і становив 1-20 хв. Плівку проявляли й фіксували стандартними фотопроявником та фіксажем. Інтенсивність сигналів на рентгенівських плівках обраховували за допомогою програмного забезпечення GELPRO32. Відносний вміст цільових протеїнів було додатково нормалізовано за  $\beta$ -актином (для цитоплазматичної та загальної фракцій) та представлено в умовних одиницях (разах від рівня у контролі). Показники КГ приймали за 1 ум.од.,

**Результати.** В таблиці наведені дані вмісту протеїнів в лозатах кісткової тканини за якими виявлені суттєві відмінності вмісту сигнальних протеїнів та їх співвідношення в групах ЗЗ та РЗ, віддзеркалюють суттєву відмінність процесів остеокластогенезу, та необхідної резорбції кісткової тканини в зоні зубів які прорізувалися своєчасно та ретенуваних зубів, що надає можливість лікарю виявити пошкодження локальної регуляції сигнального шляху у пацієнта.

Таблиця

**Вміст сигнальних протеїнів в лозатах кісткової тканини пацієнтів, в ум.од.**

	<b>ЗЗ</b>	<b>РЗ</b>
RANK	0,97±0,25	1,73±0,2*
RANKL	0,16±0,01	1,46±0,03*
OPG	0,8±0,05	1,48±0,05*
RANK/RANKL	6,06	1,18*
OPG/RANKL	5,0	1,01*

\* $p < 0,05$  при зрівнянні з групою ЗЗ

Таким чином, ми виявили підвищення вдвічі в зоні РЗ маркера OPG, який інгібує активування остеокластів і остеокластогенез, а отже, забезпечує узгодженість процесів остеосинтезу та резорбції. Виявлене зменшення в зоні РЗ в 6 разів RANK/RANKL в 5 разів співвідношення OPG/RANKL, та зменшення в зоні РЗ є підставою порушення узгодженості між процесами резорбції та формування кісткової тканини та визначальним для маси і міцності кісток.

Отримані у роботі експериментальні результати мають важливе значення для практичної медицини, особливо для нової сфери молекулярної ортодонції, оскільки значно поглиблюють та розширюють сучасні уявлення про клітинно-молекулярні механізми ретенції у людей та роль NF-кВ-асоційованого сигнального шляху RANKL/RANK/OPG у порушеннях прорізування зубів. На основі вимірювання в кістковій тканині специфічних маркерів (компонентів) сигнального шляху RANKL/RANK/OPG методом вестерн-блот аналізу та введення індексів їх співвідношення запропонований спосіб оцінки [4] стану локального ремоделювання кісткової тканини у зонах ретинованих та неретинованих зубів. За співвідношеннями RANK/RANKL та OPG/RANKL у нормі та за патології даний спосіб досить точно дозволяє оцінити інтенсивність

процесів резорбції та формування кісткової тканини пацієнта і може бути рекомендованим для впровадження в практичну медицину для виявлення порушень локальної цитокинової регуляції при ретенції зубів та для вибору найбільш ефективного методу корекції даного стану.

**Висновок.** Ретенція зубів може обумовлюватись виявленими порушеннями у вигляді дисбалансу RANKL/RANK/OPG-сигналювання у пацієнтів з РЗ і, як наслідок, блокування процесу резорбції.

#### **Список літератури:**

1. Boyce B. F. and Xing L., “Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling.,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 473, no. 2, pp. 139–146, May 2008.
2. Nagy V. and Penninger J. M., “The RANKL-RANK Story,” *Gerontology*, vol. 61, no. 6, pp. 534–542, 2015.
3. Wada T., Nakashima T., Hiroshi N., and Penninger J. M., “RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease.,” *Trends Mol. Med.*, vol. 12, no. 1, pp. 17–25, Jan. 2006.
4. Патент 132011 UA, МПК G01N 33/86 (2006.01) Спосіб оцінки ремоделювання кісткової тканини зубів / Фліс П.С., Бродецька Л.В., Натрус Л.В., Лісаковська О.А. Власник Національний медичний університет імені О.О.Богомольця МОЗ України.- u201908111; Бюл. №17, 10.09.2019.
5. Shymanskyi I.O., Lisakovska O.O., Mazanova A.O., Labudzynskyi D.O., Veliky M.M. Vitamin D3 modulates impaired crosstalk between RANK and glucocorticoid receptor signaling in bone marrow cells after chronic prednisolone administration // *Front. Endocrinol.*, 2018, 9:303. doi: 10.3389/fendo.2018.00303.