

7. Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Mayorova I. G., Tokarev V. E. Method for determining catalase activity. *Laboratornoe delo*. 1988;1:16–19.

8. Stal'naya I. D., Garishvili T. G., Orekhovich V.N. *Metod opredeleniya malonovogo dial'degida s pomoshch'yu tiobarbiturovoy kisloty. Sovremennye metody v biokhimii* [Method of determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. Modern methods in biochemistry] *Moskva: Medicine*. 1977:66-68.

9. Yunkerov V. I., Grigor'ev S. G. *Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskikh issledovaniy* [Mathematical and statistical processing of medical research data] *S.-Pb.: VmedA*, 2002:266.

Поступила 26.04.20



УДК 675.001.5+616.314-089.843  
DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2020.1.13>

<sup>1</sup> П.Д. Рожко, к. мед. н., <sup>2</sup> О.В. Деньга, д. мед. н., <sup>2</sup> Т.Г. Вербицкая, к. биол. н.,  
<sup>2</sup> С.А. Шнайдер, д. мед. н., <sup>3</sup> В.В. Бубнов, к. мед. н.,

<sup>1</sup>Одесский национальный медицинский университет  
<sup>2</sup>Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
Национальной академии медицинских наук Украины»  
<sup>3</sup>Одесский международный медицинский университет

### МЕТИЛИРОВАНИЕ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ IL6 И MMP13 У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА

*В патогенезе пародонтита и его прогрессировании важная роль принадлежит механизмам резорбции костной ткани, что необходимо учитывать при ортопедическом лечении. Эти механизмы индуцируют воспалительные цитокины и матриксные металлопротеиназы. Было проведено изучение метилирования ДНК для оценки эпигеномных вариаций промоторов генов IL6 и MMP13 у пациентов с хроническим заболеванием пародонта на фоне метаболического синдрома, сахарного диабета 2 типа. Корреляционный анализ между степенью метилированной ДНК генов IL6 и MMP13, а также содержанием IL6 и MMP13 в ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом показал высокую положительную взаимосвязь этих цитокинов, связанную со степенью хронического пародонтита. Гипометилирование промоторов генов IL6 и MMP13 у пациентов с хроническим пародонтитом на фоне метаболического синдрома, сахарного диабета 2 типа приводит к активации этих генов, повышению синтеза провоспалительного цитокина IL6 и металлопротеиназы MMP13, что ведет к разрушению тканей в очаге воспаления и усугублению течения пародонтита.*

**Ключевые слова:** метилирование, гены, хронический генерализованный пародонтит, сахарный диабет, метаболический синдром.

<sup>1</sup> П.Д. Рожко, <sup>2</sup> О.В.Деньга, <sup>2</sup> Т.Г. Вербицкая, <sup>2</sup> С.А. Шнайдер, <sup>3</sup> В.В.Бубнов

<sup>1</sup>Одеський національний медичний університет  
<sup>2</sup>Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії  
Національної академії медичних наук України»  
<sup>3</sup>Одеський міжнародний медичний університет

### МЕТИЛЮВАННЯ ПРОМОТОРІВ ГЕНІВ IL6 І MMP13 У ПАЦІЄНТІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО ПАРОДОНТИТУ

*У патогенезі пародонтиту та його прогресуванні важливу роль відіграють механізми резорбції кісткової тканини, що необхідно враховувати при ортопедичному лікуванні. Ці механізми індукують запальні цитокини і матриксні металлопротеїнази. Було проведено вивчення метильовання ДНК для оцінки епігеномних варіацій промоторів генів IL6 і MMP13 у пацієнтів з хронічним захворюванням пародонту на фоні метаболічного синдрому, цукрового діабету 2 типу. Кореляційний аналіз між ступенем метильованої ДНК генів IL6 і MMP13, а також вмістом IL6 і MMP13 в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом показав*

високий позитивний взаємозв'язок цих цитокінів, пов'язаний зі ступенем хронічного пародонтиту. Гіпометилювання промоторів генів IL6 і MMP13 у пацієнтів з хронічним пародонтитом на фоні метаболічного синдрому, цукрового діабету 2 типу призводить до активації цих генів, підвищення синтезу прозапальних цитокінів IL6 і металопротеїнази MMP13, що веде до руйнування тканин в осередку запалення і збільшенню перебігу пародонтиту.

**Ключові слова:** метилювання, гени, хронічний генералізований пародонтит, цукровий діабет, метаболічний синдром.

<sup>1</sup>*P.D. Rozhko, <sup>2</sup>Denga O.V., <sup>2</sup>Verbitskaya T.G., <sup>2</sup>Shnaider S.A., <sup>3</sup>Bubnov V.V.*

<sup>1</sup>Odessa National Medical University

<sup>2</sup>State Establishment «The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine»

<sup>3</sup>Odessa International Medical University

## METHYLING OF IL6 AND MMP13 GENE PROMOTORS IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME AND TYPE 2 DIABETES ON THE BACKGROUND OF CHRONIC PERIODONTITIS

*In the pathogenesis of periodontitis and its progression, important role belongs to bone resorption mechanisms, which must be taken into account during orthopedic treatment. Inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases induce this mechanism. A DNA methylation study was conducted to evaluate the epigenomic variations in the promoters of the IL6 and MMP13 genes in patients with chronic periodontal disease on the background of metabolic syndrome and type 2 diabetes. A correlation analysis between the degree of methylated DNA of the IL6 and MMP13 genes, as well as the content of IL6 and MMP13 in the oral liquid of patients with chronic generalized periodontitis, showed a high positive relationship between these cytokines associated with the degree of chronic periodontitis. Hypomethylation of IL6 and MMP13 gene promoters in patients with chronic periodontitis on the background of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus leads to an activation of these genes, increased synthesis of proinflammatory cytokine IL6 and metalloproteinase MMP13, which leads to tissue destruction in the focus of inflammation and aggravation of periodontitis.*

**Key words:** DNA methylation, IL6 and MMP13 genes, chronic generalized periodontitis, diabetes mellitus, metabolic syndrome.

Хронический генерализованный пародонтит (ХГП) – одно из распространённых стоматологических заболеваний [1]. В патогенезе ХГП и его прогрессировании важная роль принадлежит механизмам резорбции костной ткани, то есть преобладания остеокластических процессов над остеобластическими [2]. Этот механизм индуцируют воспалительные цитокины. IL-6 – ранний индуцибельный цитокин. С его активацией связана дифференцировка остеокластов и прогрессия ХГП. IL-6 не только усиливает функциональную активность остеокластов и фибробластов, но и является цитокином, обладающим как провоспалительной, так и противовоспалительной функцией. Этим объясняется его способность привлекая мононуклеары переводить острое воспаление в хроническое [3].

Важную роль в разрушении тканей пародонта играют матриксные металлопротеиназы (ММП) [4]. Они представляют собой семейство цинк (Zn) и кальций (Ca)-зависимых эндопептидаз, которые способны расщеплять практически все субстраты внеклеточного матрикса и играют важную роль в разнообразных физиологических и патологических процессах, которые способствуют деградации и удалению коллагена из по-

врежденной ткани. MMP13 (коллагеназа-3) секретируется эпителиальными клетками в ответ на действие различных экзогенных факторов, а также фибробластами, макрофагами.

Метаболический синдром возникает из провоспалительного состояния, которое может возникнуть в результате воздействия резистентности к инсулину. При ожирении и инсулинорезистентности выявляются повышенные уровни циркулирующих медиаторов воспаления TNF, IL-1, IL-6 [5]. Наличие метаболического синдрома, как состояния с высоким риском развития сахарного диабета, создает предпосылки к формированию воспалительно-деструктивных поражений пародонта, о чем свидетельствует общность ряда патогенетических механизмов развития этих заболеваний [6].

Эпигенетические модификации контролируют все стадии развития и функциональную активность клеток. Нарушение механизмов эпигенетической регуляции напрямую или косвенно связано со множеством заболеваний. Эпигенетические модификации, включая метилирование ДНК, являются ключевыми регуляторами функции генов.

**Цель исследования.** Изучение метилирования ДНК для оценки эпигеномных вариаций промоторов генов IL6 и MMP13 у пациентов с хроническим заболеванием пародонта на фоне метаболического синдрома и диабета 2 типа, направленных на ортопедическое лечение с использованием имплантатов.

**Материалы и методы.** Для анализа использовали образцы ткани десны и ротовой жидкости 14 пациентов с ХГП. Из них дополнительно к ХГП 5 пациентов имели МС и 4 пациента – СД 2 типа.

ДНК выделяли с помощью набора «QIAamp DNA Mini Kit» (Qiagen) в соответствии с рекомендациями производителя. Чистоту выделен-

ных препаратов ДНК и концентрацию определяли спектрофотометрически. Бисульфитную обработку выделенной ДНК с концентрацией 1мкг/мл проводили с помощью набора «EpiTest Bisulfite Kit» (Qiagen). ДНК амплифицировали методом ПЦР с использованием HotStarTaq DNA Polymerase (QIAGEN), ПЦР-буфера, смеси dNTP (Fermentas) и специфичных праймеров по программе: начальная денатурация 95<sup>0</sup>С-15 мин.; денатурация 95<sup>0</sup>С – 30 сек., отжиг праймеров 52<sup>0</sup> для IL6 и 49<sup>0</sup> для MMP13 – 30сек, элонгация 72<sup>0</sup>С – 30 сек, 39 циклов; финальная элонгация 72<sup>0</sup>С – 10 мин. Последовательности праймеров представлены в таблице 1.

Таблица 1

### Нуклеотидная последовательность праймеров

Ген	Нуклеотидная последовательность праймеров (5'-3')
IL6-F	AGGGATAATTTAGTTTAGAGTTTATTTGT
IL6-R	Biotin-CTCCCTCTCCCTATAAATCTTAATT
IL6-S	ATAAGAAATTTTTGGGTGT
MMP13-F	Biotin-ATGGGTTTTGAGATTTTG
MMP13-R	ACCCCTAAATACATCTTAAATA
MMP13-S	CAATCACTTAAAAATAAACATACTT

*Примечание:* F-прямой, R-обратный, S-секвенирующий; Biotin – модификация биотином.

Таблица 2

### Содержание в тканях десны метилированной ДНК в промоторе гена IL6 у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта, метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа

ХГП (n = 5)	ХГП + МС (n = 5)	ХГП + МС + СД 2 типа (n = 4)
83,70 ± 7,8	73,4 ± 10,8 p > 0,05	59,7 ± 5,0 p < 0,03

*Примечание:* p – достоверность отличий от группы «ХГП».

Пиросеквенирование ампликонов проводили с использованием наборов PyroMark Gold Q24 в соответствии с протоколом изготовителя на приборе PyroMark Q24 (Швеция). Содержание метилированной ДНК в пробе оценивали с помощью программы PyroMark CpG software 2.01. Для статистической обработки данных использовали программу Statistica, versia 10.

Экспрессию IL6, MMP13 в слюне определяли с помощью коммерческой тест-системы RayBio® C-Series Human Periodontal Diseases array C1 (RayBiotech). Анализ проводили в соответствии с протоколом к набору. Нормализацию и анализ данных проводили с использованием программы Ray Bio analysis tool software (S02-AAH-PDD-1).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Метилирование ДНК представляет собой ферментативный процесс ковалентного присоединения метильных групп к пятому атому углерода остатков цитозина, входящих в состав CpG-динуклеотидов (CpG-сайтов) и является эпигенетическим регулятором экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Метилирование обеспечивает динамическое изменение основных клеточных процессов. Аберрация экспрессии РНК или метилирования ДНК является причиной различных заболеваний [7].

В нашем исследовании мы провели анализ метилирования промотора гена IL6 в образцах ткани десны у пациентов с ХГП, ХГП и метаболическим синдромом, ХГП и сахарным диабетом 2 типа (табл. 2).

Наличие МС при ХГП приводит к уменьшению степени метилирования ( $73,4 \pm 10,8$ ) по сравнению с пациентами с ХГП ( $83,70 \pm 7,8$ ). При наличии дополнительно к метаболическому синдрому сахарного диабета 2 типа содержание метилированной ДНК в промоторе гена IL6 было ниже, чем при наличии только МС (рис. 1).

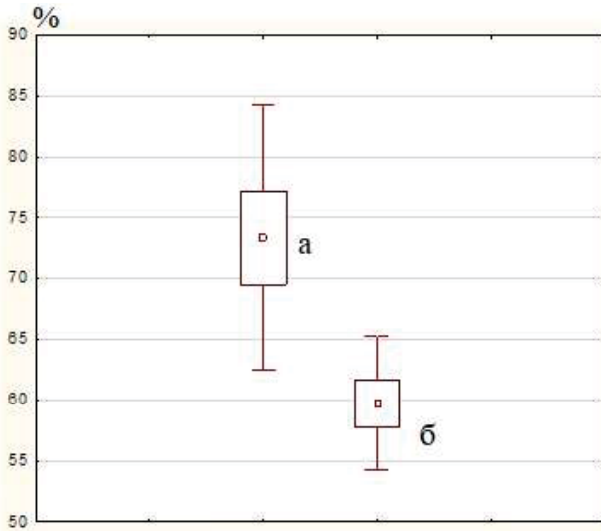


Рис. 1. Сравнительный анализ метилирования в тканях десны промотора IL-6 у пациентов с метаболическим синдромом (а) и метаболическим синдромом в сочетании с сахарным диабетом (б).

Провоспалительные цитокины играют определяющую роль в развитии и прогрессии хронических воспалительных процессов, в том числе ХГП [8].

Экспрессия гена IL-6, как правило, осуществляется под влиянием проникающих в организм вирусов, бактерий и продуктов их жизнедеятельности. Основная его функция – активация пролиферации специфических к антигену В-лимфоцитов и усиление выработки антител. IL-6, вместе с другими цитокинами в активной фазе иммунного ответа, модулирует реакцию на бактерии полости рта. Повышенная экспрессия IL-6 может внести свой вклад в развитие хронического воспалительного процесса в полости рта и в конечном итоге привести к потере периодонтальной связки и альвеолярной кости. Местная, тканевая экспрессия IL-6, вероятно связана с активацией макрофагов, нейтрофилов, эндотелиальных клеток и фибробластов. Действительно, длительное чрезмерное высвобождение IL-6 (которое может быть спровоцировано бактериями полости рта, такими как *Aggregatibacter actinomycetem-comitans* и *Lactobacillus Casei*) может привести к персистирующему воспалению и повреждению тканей через высвобождение

протеаз, активации остеокластов и изменения метилирования провоспалительных генов [9]. IL-6 может также блокировать дифференцировку остеокластов путем ингибирования RANKL-RANK сигнального пути. Т.е. действие IL-6 может быть двояким и стимулировать как активацию дифференцировки остеокластов, так и блокировку дифференцировки проостеокластов [10].

Метилирование промотора IL6 регулирует экспрессию этого цитокина. Снижение содержания метилированной ДНК гена IL6 приводит к повышению экспрессии цитокина и развитию провоспалительных реакций [11]. Следует отметить взаимосвязь между повышением экспрессии IL-6, метилированием промотора IL-6 и развитием ожирения и диабета [12].

Полученные нами данные показывают, что степень метилирования промотора гена IL6 в исследованных группах пациентов уменьшается как с увеличением степени развития ХГП, так и с различной степенью тяжести течения метаболического синдрома у этих пациентов, что потенциально приводит к увеличению экспрессии IL6. Этот процесс усиливается на фоне метаболического синдрома и диабета 2 типа. Механизм тканевой деструкции, модулированный IL-6, реализуется через продукцию металлопротеиназ, активацию остеокластов, активацию Т-клеток, или гиперактивацию провоспалительного каскада.

В развитии и прогрессии хронических воспалительных процессов, в том числе и ХГП, принимают участие металлопротеиназы. MMP13 играет роль в заживлении ран, ремоделировании ткани, деградации хряща, развитии костной ткани, минерализации костей и окостенения. MMP13 расщепляет коллагены I, III, IV, IX, XIV типа, желатин, агрекан, фибронектин, остеоонектин, но имеет самую высокую активность к коллагену II типа [13]. ХГП характеризуется повышенной экспрессией MMP13 [14]. Экспрессия гена регулируется путем метилирования промотора, модификации гистонов и miRNA.

Проведенное нами изучение метилирования промотора металлопротеиназы MMP13 в образцах ткани десен пациентов с ХГП и с ХГП на фоне МС и СД 2 типа показало, что МС и СД 2 типа в сочетании с МС дополнительно снижали в тканях десны содержание метилированной ДНК в промоторе гена MMP13 (табл. 3).

Так, у пациентов с метаболическим синдромом содержание метилированной ДНК MMP13 в образцах десны составило  $62,1 \pm 8,5$  %, а при сочетании с диабетом  $53,2 \pm 2,9$  % (рис. 2).

Таблиця 3

**Содержание в тканях десны метилированной ДНК в промоторе гена MMP13 у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта и метаболическим синдромом, %**

ХГП (n = 5)	ХГП + МС (n = 5)	ХГП + МС + СД 2 типа (n = 4)
67,4±8,1	62,1±8,5 p>0,05	53,2±2,9 p<0,02

Примечание: p – достоверность отличий от группы «ХГП».

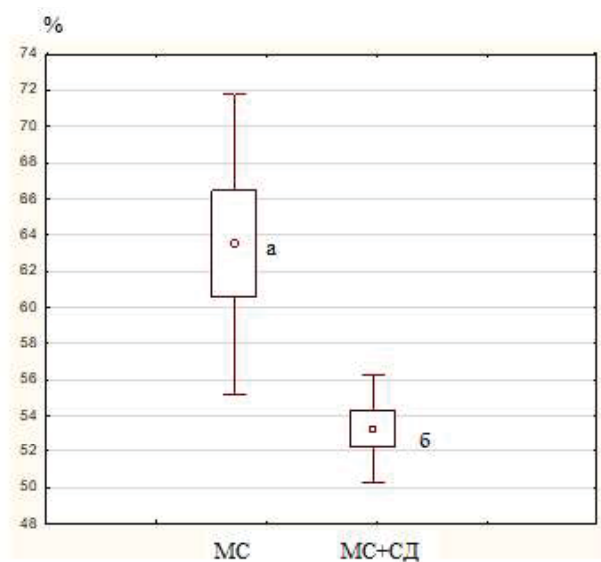


Рис. 2. Сравнительный анализ содержания (%) метилированной ДНК гена MMP13 в образцах ткани десны у пациентов с метаболическим синдромом (а) и у пациентов с мета-

болическим синдромом сочетании с сахарным диабетом 2 типа (б).

Ранее было показано, что снижение метилированной ДНК MMP13 в образцах у больных с метаболическим синдромом может быть связано с метаболическим синдромом и ожирением [15]. По данным авторов работы [16] активация экспрессии лептина путем деметилирования промотора этого гена ведет к повышению экспрессии MMP13. Кроме того, повышение экспрессии MMP13 обусловленное деметилированием промотора этого гена, может быть связано с хроническим воспалением и синтезом тканевыми макрофагами и лимфоцитами IL6, который активирует синтез металлопротеиназы MMP13 [17].

При сравнении в нашем исследовании степени метилирования промоторов гена IL6 и гена MMP13 в образцах ткани десны наблюдалась высокая степень их корреляции ( $r=0,64$ ) (рис. 3).

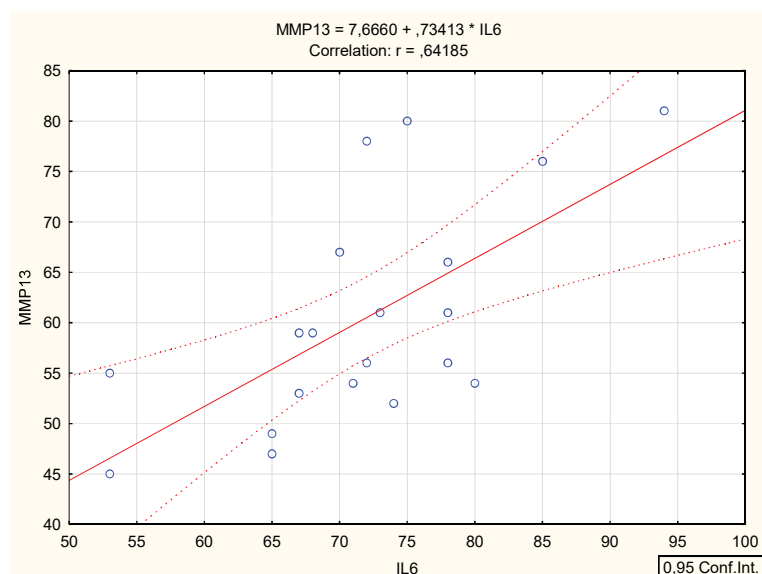


Рис. 3. Корреляция между метилированием промотора IL6 и метилированием MMP13 в тканях десны у пациентов с хроническим генерализованным пародонитом на фоне метаболического синдрома.

Активация антигенпрезентирующих клеток в ответ на микробный стимул, приводит к активации Т и В- лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов, выбросу провоспалительных цитокинов, ко-

торые способствуют повышению экспрессии семейства металлопротеиназ. Хронизация воспалительного процесса приводит к стойкому повышению провоспалительных цитокинов, повы-

шенному синтезу металлопротеиназ, в том числе MMP13, что в свою очередь может приводить к разрушению ткани, лизису альвеолярной кости и разрушению зубов [18]. Эти процессы могут усиливаться на фоне метаболического синдрома.

Таким образом, гипометилирование промотора MMP13 связано с развитием ХГП и его прогрессией на фоне метаболического синдрома и диабета 2 типа.

Снижение метилирования промотора MMP13 у пациентов с ХГП 2-3 стадии по сравнению с метилированием MMP13 у пациентов с ХГП 1 степени может приводить к повышению

экспрессии этого гена и повышению содержания металлопротеиназы в тканях пародонта и слюне. Проведенное нами исследование содержания MMP13 в слюне больных с ХГП 2-3 стадии показало достоверное повышение содержания протеиназы у этой группы больных, по сравнению с больными с легкой степенью ХГП (табл. 4). Так же было выявлено достоверное повышение экспрессии IL6 в ротовой жидкости больных с ХГП 2-3 степени, что может быть обусловлено снижением метилирования промотора этого гена, как было показано выше.

Таблица 4

#### Содержание цитокинов IL6, MMP13 в ротовой жидкости у больных хроническим генерализованным пародонтитом разной степени, пг/мл

Ген	Содержание цитокинов в ротовой жидкости		p
	ХГП 1 степени	ХГП 2-3 степени	
IL6	95,0 ± 22,9	175,1 ± 34,3	p=0,014
MMP13	40,6 ± 16,6	186,2 ± 39,9	p=0,004

Примечание: p – показатель достоверности отличий от группы «ХГП 1 степени».

Выявленное в результате исследования снижение метилирования промотора гена IL6 приводит к повышению экспрессии и увеличению концентрации IL6 в очаге воспаления. Это в свою очередь ведет к повышению экспрессии металлопротеиназы MMP13. Как описано выше, в результате статистического анализа была выявлена положительная корреляция между содер-

жанием IL6 и MMP13 у больных с ХГП. Корреляционный анализ между содержанием IL6 и MMP13 в ротовой жидкости пациентов с ХГП показал высокую положительную взаимосвязь ( $r=0,50$ ) этих цитокинов (рис. 4). Т.е. наблюдается ассоциация гипометилирования промоторов генов IL6 и MMP13 с их активацией.

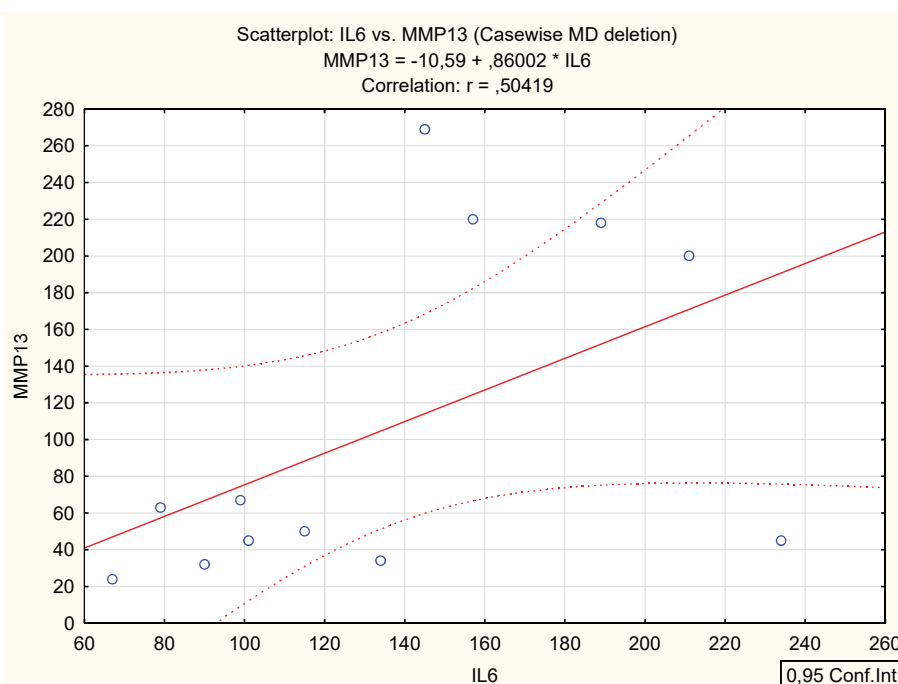


Рис. 4. Корреляционная зависимость между содержанием IL6 и MMP13 в слюне у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Таким образом, гипометилирование промоторов генов IL6 и MMP13 у пациентов с ХГП на фоне МС и диабета 2 типа приводит к активации этих генов, повышению синтеза провоспалительного цитокина IL6 и металлопротеиназы MMP13, что ведет к разрушению тканей в очаге воспаления и усугублению течения ХГП.

**Выводы.** Степень метилирование промотора гена IL6 уменьшается как с увеличением степени развития ХГП, так и с наличием метаболического синдрома. Этот процесс усиливается на фоне сочетания метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа.

Гипометилирование промотора MMP13 связано с развитием ХГП и его прогрессией на фоне МС и СД 2 типа.

Корреляционный анализ между степенью метилированной ДНК генов IL6 и MMP13, а также содержанием IL6 и MMP13 в ротовой жидкости пациентов с ХГП показал высокую положительную взаимосвязь этих цитокинов.

Полученные результаты необходимо учитывать при разработке лечебно-профилактического сопровождения ортопедического лечения пациентов с МС и СД 2 типа на фоне ХГП.

#### **Список литературы**

1. **Gross A.J.** Periodontitis: a global disease and the primary care provider's role / A.J. Gross, K.T. Paskett, V.J. Cheever, M.S. Lipsky // *Postgrad Med J.* - 2017. - Vol. 93(1103). - P. 560-565.
2. **Crotti T.N.** Osteoimmunology: major and costimulatory pathway expression associated with chronic inflammatory induced bone loss / T.N. Crotti, AASSK. Dharmapatni, E. Alias, D.R. Haynes // *J Immunol Res.* - 2015. - P. 1-13.
3. **Ошноков А.К.** Роль провоспалительных цитокинов в развитии хронического пародонтита / А.К. Ошноков, Е.А. Брагин, Л.Ю. Барычева, З.Ф. Хараева // *Медицинский вестник Северного Кавказа.* - 2014. - Т.9. - №4. - С. 380-381.
4. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матричных металлопротеиназ в норме и при патологии / А.С. Шадрина, Я.З. Плиева [и др.] // *Альманах клинической медицины.* - 2017. - Т.45. - №4. - С. 266-279.
5. **Dandona P.** Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes / P. Dandona, A. Aljada, A. Bandyopadhyay // *Trends Immunol.* - 2004. - №25. - P. 4-7.
6. **Романенко И.Г.** Генерализованный пародонтит и метаболический синдром. Единство патогенетических механизмов развития / И.Г. Романенко, Д.Ю. Крючков // *Крымский терапевтический журнал.* - 2011. - №1. - С. 60-67.
7. **Feinberg A. P.** Epigenetics at the epicenter of modern medicine / A. P. Feinberg // *JAMA.* - 2008. - №299. - P. 1345-1350.
8. **Smolen J.S.** Interleukin-6: a new therapeutic target / J.S. Smolen, R.N. Maini // *Arthritis Res. Ther.* - 2006. - №8. - P. 407.
9. Cytokine responses of human gingival fibroblasts to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin / G.N. Belibasakis, A. Johansson, Y. Wang [et al.] // *Cytokine.* - 2005. - №30. - P. 56-63.

10. Yoshitake F. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways / F. Yoshitake, S. Itoh, H. Narita, K. Ishihara // *J Biol Chem.* - 2008. - Vol.25. - №283(17). - P.11535-40.

11. Methylation status of a single CpG site in the IL6 promoter is related to IL6 messenger RNA levels and rheumatoid arthritis / C. J. Nile, R.C. Read, M. Akil [et al.] // *Arthritis Rheum.* - 2008. - 58(9). - P. 2686-93.

12. Increased methylation of interleukin 6 gene is associated with obesity in Korean women / Y.K. Na, H.S. Hong, W.K. Lee [et al.] // *Mol Cells.* - 2015. - 38(5). - P. 452-6.

13. Moilanen M. Tumor-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1,-8,-13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen / M. Moilanen, T. Sorsa, M. Stenman, P. Nyberg // *Biochemistry.* - 2003. - V. 42. - N. 18. - P. 5414-5420.

14. MMP-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis / M. Hernández, B. Martínez, J.M. Tejerina [et al.] // *J Clin Periodontol.* - 2007. - №34(9). - P. 729-735.

15. **Hopps E.** Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome / E. Hopps, G. Caimi // *Eur J Intern Med.* - 2012. - №23(2). - P. 99-104.

16. **Iliopoulos D.** Epigenetic regulation of leptin affects MMP-13 expression in osteoarthritic chondrocytes: possible molecular target for osteoarthritis therapeutic intervention / D. Iliopoulos, K.N. Malizos, A. Tsezou // *Annals of the rheumatic diseases.* - 2005. - V.66. - №12. - P. 23-29.

17. Chih-Hsin Tang IL-6 Increases MMP-13 Expression and Motility in Human Chondrosarcoma Cells / Chih-Hsin Tang, Cheng-Fong Chen, Wei-Ming Chen. // *J Biol Chem.* - 2011. - Vol.1. - №286(13). - P. 11056-11066.

18. Expression of MMP-8 and MMP-13 genes in the periodontal ligament during tooth movement in rats / I., Nishimura M. Nishimura, K. Onodera [et. al.] // *J Dent Res.* - 2003. - №82(8). - P. 646-51.

#### **REFERENCES**

1. **Gross A.J., Paskett K.T., Cheever V.J., Lipsky M.S.** Periodontitis: a global disease and the primary care provider's role. *Postgrad Med J.* 2017;93(1103):560-565.
2. **Crotti T.N., Dharmapatni AASSK, Alias E., Haynes D.R.** Osteoimmunology: major and costimulatory pathway expression associated with chronic inflammatory induced bone loss. *J Immunol Res.* 2015:1-13.
3. **Oshnikov, A.K. Bragin E.A., Barycheva L.Yu., Kharaeva Z.F.** The role of pro-inflammatory cytokines in the development of chronic periodontitis. *Medical Bulletin of the North Caucasus.* 2014;9(4):380-381.
4. **Shadrina A.S., Plieva Z. Ya. [et al.]** Classification, regulation of activity, genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in normal and pathological conditions / *Almanac of clinical medicine.* 2017;45(4):266 - 279.
5. **Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A.** Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 2004;25: 4-7.
6. **Romanenko I.G., Kryuchkov D.Yu.** Generalized periodontitis and metabolic syndrome. The unity of pathogenetic mechanisms of development. *Krimsky therapeutic journal.* 2011;1:60-67.
7. **Feinberg, A.P.** Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *JAMA.* 2008;299:1345-1350.
8. **Smolen J.S., Maini R.N.** Interleukin-6: a new therapeutic target. *Arthritis Res. Ther.* 2006;8:407. doi:10.1186/ar1969.
9. **Belibasakis GN, Johansson A, Wang Y. et al,** Cytokine responses of human gingival fibroblasts to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin. *Cytokine.* 2005;30:56-63.

10. **Yoshitake F, Itoh S, Narita H, Ishihara K.** Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. *J Biol Chem.* 2008 Apr 25;283(17):11535-40. doi: 10.1074/jbc.M607999200. Epub 2008 Feb 22.

11. **Nile C.J., Read R.C., Akil M., Duff G.W., Wilson A.G.** Methylation status of a single CpG site in the IL6 promoter is related to IL6 messenger RNA levels and rheumatoid arthritis//*Arthritis Rheum.* 2008 Sep;58(9):2686-93. doi: 10.1002/art.23758.

12. **Na Y.K., Hong H.S., Lee W.K., Kim Y.H., Kim D.S.** Increased methylation of interleukin 6 gene is associated with obesity in Korean women. *Mol Cells.* 2015 May;38(5):452-6. doi: 10.14348/molcells.2015.0005. Epub 2015 Apr 28.4).

13. **Moilanen M., Sorsa T., Stenman M., Nyberg P.** Tumor-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1,-8,-13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen. *Biochemistry.* 2003;42(18):5414-5420.

14. **Hernández M., Martínez B., Tejerina J.M., Valenzuela M.A., Gamonal J.** MMP-13 and TIMP-1 determinations

in progressive chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007;34(9):729-735. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01107.x

15. **Hopps E., Caimi G.** Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome. *Eur J Intern Med.* 2012 Mar;23(2):99-104. doi: 10.1016/j.ejim.2011.09.012. Epub 2011 Oct 13.

16. **Iliopoulos D., Malizos K N, Tsezou A.** Epigenetic regulation of leptin affects MMP-13 expression in osteoarthritic chondrocytes: possible molecular target for osteoarthritis therapeutic intervention. *Annals of the rheumatic diseases.* 2005;66(12):23-29.

17. **Chih-Hsin Tang, Cheng-Fong Chen, Wei-Ming Chen.** IL-6 Increases MMP-13 Expression and Motility in Human Chondrosarcoma Cells. *J Biol Chem.* 2011Apr1;286(13):11056–11066. Published online 2011 Jan 28. doi: 10.1074/jbc.M110.204081

18. **Takahashi I., Nishimura M., Onodera K.** Expression of MMP-8 and MMP-13 genes in the periodontal ligament during tooth movement in rats. *J Dent Res.* 2003 Aug;82(8):646-51.

Поступила 29.04.20

