

Значение оценки респираторного метаболизма лейкоцитов при разработке местной лекарственной формы для лечения пародонтальной инфекции

Т.П.Герасимова¹, Е.Н.Николаева², Р.В.Ушаков¹, Е.В.Ипполитов², А.Р.Ушаков², В.Н.Царёв²

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Российская Федерация

Цель исследования. Оценка респираторного метаболизма нейтрофилов и влияния на их активность разрабатываемой пленки на основе полимера диплен с противовоспалительным и антибактериальным компонентами с использованием метода люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), стимулированной опсонизированным зимозаном.

Материалы и методы. Влияние стоматологических адгезивных пленок: зарегистрированной Минздравом РФ – Диплен-Дента с хлоргексидином (Д-д Х) и экспериментальной – Диплен-Дента с хлоргексидином, кетопрофеном и токоферола ацетатом (Д-д КПХ) на активность клеток крови оценивали методом люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов цельной крови. Исследовали периферическую кровь 26 здоровых доноров в возрасте от 20 до 25 лет.

Результаты. Исследованные пленки «Диплен-Дента Х» и «Диплен-Дента КПХ» воздействуют на нейтрофильные гранулоциты в зависимости от исходного их функционального состояния. При низком индексе активации (<3,054) «Диплен-Дента КПХ» в большей степени, чем «Диплен-Дента Х», увеличивает все показатели ХЛ: спонтанную и стимулированную ХЛ. Он также значительно повышает индекс активации, в отличие от «Диплен-Дента Х», лишь незначительно влияющего на него. При высоких значениях I(O) (>4,34) оба препарата значительно уменьшают индекс активации, при этом относительная величина изменения индекса I/I(O) в группе 2 значимо меньше, чем в группе 1.

Заключение. Исследуемые полимерные пленки «Диплен-Дента Х» и «Диплен-Дента КПХ» воздействуют на нейтрофильные гранулоциты в зависимости от исходного функционального состояния клеток. Различия между пленками в отношении влияния на метаболическую активность нейтрофилов, очевидно, связаны с присутствием в составе «Диплен-Дента КПХ» кетопрофена.

Ключевые слова: полимер диплен, хлоргексидин, кетопрофен, токоферола ацетат, хемилюминесценция, нейтрофилы

Для цитирования: Герасимова Т.П., Николаева Е.Н., Ушаков Р.В., Ипполитов Е.В., Ушаков А.Р., Царёв В.Н. Значение оценки респираторного метаболизма лейкоцитов при разработке местной лекарственной формы для лечения пародонтальной инфекции. Бактериология. 2018; 3(2): 24–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-24-29

Leukocytes respiratory metabolism and it's evaluation for the development of a local polymer dosage form for treatment of periodontal infection

T.P.Gerasimova¹, E.N.Nikolaeva², R.V.Ushakov¹, E.V.Ippolitov², A.R.Ushakov², V.N.Tsarev²

¹Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

²A.I.Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Purpose. Evaluation the metabolic activity of neutrophilic granulocytes and the effect of polymer-based film containing anti-inflammatory and antibacterial components on neutrophil respiratory metabolism. The research is conducted using luminol-dependent chemiluminescence stimulated by opsonized zymosan.

Materials and methods. Two dental adhesive films have been analyzed in this study, "Diplen-Denta Ch" and "Diplen-Denta KPCh". "Diplen-Denta Ch" with chlorhexidine is drug approved by Russian Ministry of Health and is currently used in

Для корреспонденции:

Герасимова Татьяна Павловна, аспирант кафедры стоматологии
ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного
профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ

Адрес: 123425, Москва, ул. Баррикадная, 2

Телефон: (499) 252-2104

E-mail: pochta.gerasimova@gmail.com

Статья поступила 17.04.2018 г., принята к печати 27.06.2018 г.

For correspondence:

Tatyana P. Gerasimova, graduate student, department of dentistry,
Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Address: 2 Barrikadnaya str., Moscow, 123425, Russian Federation

Phone: (499) 252-2104

E-mail: pochta.gerasimova@gmail.com

The article was received 17.04.2018, accepted for publication 27.06.2018

periodontology. "Diplen-Denta KPCh" is an experimental drug, which contains chlorhexidine, ketoprofen, and tocopherol acetate. The effect of both films on activity of neutrophilic granulocytes was assessed by luminol-dependent chemiluminescence, stimulated by opsonized zymosan. To conduct the assessment, peripheral blood of 26 healthy donors of age 20 to 25 years was studied.

Results. Both investigated films had an effect on neutrophil granulocytes depending on cells initial functional state. In persons with low activation index (<3,054), "Diplen-Denta KPCh" caused a greater increase in spontaneous and stimulated chemiluminescence, as well as the activation index. "Diplen-Denta Ch" had only a modest increase in the activation index. In the group with high values of I(O) (>4,34), both drugs significantly decreased the activation index, while the relative magnitude of the I/I (O) index change in group 2 was significantly smaller than in group 1.

Conclusions. Both investigated films have an influence on neutrophil granulocytes depending on initial functional state of the cells. The difference in effect of "Diplen-Denta KPCh" and "Diplen-Denta Ch" on neutrophils metabolic activity has been found to be related with the presence of ketoprofen

Keywords: polymer diplen, chlorhexidine, ketoprofen, tocopherol acetate, chemiluminescence, neutrophils

For citation: Gerasimova T.P., Nikolaeva E.N., Ushakov R.V., Ippolitov E.V., Ushakov A.R., Tsarev V.N. Leukocytes respiratory metabolism and it's evaluation for the development of a local polymer dosage form for treatment of periodontal infection. *Bacteriology*. 2018; 3(2): 24–29. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-24-29

При развитии инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта и пародонта существенную роль играет повышение интенсивности свободнорадикального окисления, которое при недостаточности систем антиоксидантной защиты приводит к альтерации тканей [1]. В ряде исследований установлено, что повышение уровня маркеров оксидативного стресса наблюдается при выявлении пародонтопатогенных видов 1 порядка – *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, а также *Treponema denticola*, т.е. представителей «красного комплекса» по Socransky. *Porphyromonas gingivalis*, ключевой пародонтопатоген, способен манипулировать иммунным ответом организма хозяина с целью длительного сохранения воспаления, деструкции тканевых структур и поддержания ресурса питательных веществ, необходимых для жизнедеятельности микробов [2–5].

При этом прогрессирование резорбции кости и утраты зубодесневого прикрепления происходит не непрерывно, а фазами, соответствующими периодам активного воспаления, что связано с респираторным метаболизмом лейкоцитов и продукцией активных форм кислорода [3, 6]. Оперативные вмешательства как источник механической травмы для тканей пародонта сами по себе также вызывают усиление оксидативного стресса, наблюдается рост системного уровня активных форм кислорода (АФК) в течение как минимум 5–7 дней после проведения хирургических операций [7–9]. Избыточная продукция свободных радикалов запускает цепные реакции окисления фосфолипидов клеточных мембран. Усиливается формирование нейтрофилами внеклеточных ловушек (NETs), выполняющих антимикробную функцию. Необходимым условием функционирования этого защитного механизма является наличие АФК [10, 11]. При этом нарушается кровообращение в тканях, усиливается агрегация тромбоцитов, что усугубляет расстройства микроциркуляции, способствует развитию отека и гипоксии [10].

Нейтрофилы, мигрировавшие из кровеносного русла, в пародонте локализуются в воспаленных тканях десны, максимальная их концентрация определяется в области эпителия десневой борозды [5, 12]. Именно в этих зонах находится точка приложения лекарственных средств, используемых для местной терапии пародонтита.

В настоящее время в стадии разработки и доклинических испытаний находится новая стоматологическая адгезивная пленка «Диплен-Дента КПХ», содержащая хлоргексидина биглюконат (0,01–0,03 мг/см²), кетопрофен (0,01–0,03 мг/см²) и α-токоферола ацетат (0,03–0,05 мг/см²) и обладающая комбинированным антимикробным, противовоспалительным и антиоксидантным действием. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что данная пленка активна в отношении пародонтопатогенной микрофлоры, не обладает острой и хронической токсичностью, раздражающим действием [13].

Цель работы – оценка респираторного метаболизма нейтрофилов и влияния на их активность разрабатываемой пленки на основе полимера диплен с противовоспалительным и антибактериальным компонентами с использованием метода люминолзависимой хемилюминесценции, стимулированной опсонизированным зимозаном.

Материалы и методы

Влияние стоматологических адгезивных пленок: зарегистрированной Минздравом РФ – Диплен-Дента с хлоргексидином (Д-д Х) и экспериментальной – Диплен-Дента с хлоргексидином, кетопрофеном и токоферола ацетатом (Д-д КПХ) на активность клеток крови оценивали путем регистрации ХЛ нейтрофильных гранулоцитов цельной крови 26 здоровых доноров в возрасте от 20 до 25 лет.

Для измерений было выбрано разведение крови в модификации Федорова Г.Н., Леонова С.Д. [14]. Разведенную кровь в объеме 400 мкл инкубировали со 100 мкл раствора пленки (или р-ра Хенкса в контрольной пробе), через 30 мин добавляли 100 мкл люминола и регистрировали спонтанную ХЛ в течение 60 мин. Стимулированную ХЛ определяли после внесения 100 мкл суспензии опсонизированного зимозана (SIGMA, США) в концентрации 20 мг/мл. Регистрировали индуцированный ХЛ ответ в течение 60 мин. Реакции проводили в полистироловых кюветках на хемилюминометре LUM-100 (ДИСофт, Россия) с программным обеспечением PowerGraph 3.0 при температуре 37°C.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA. Определяли медиану, минимальные, максимальные значения и интерквартильный размах

Таблица. Влияние растворов «Диплен-Дента Х» и «Диплен-Дента КПХ» на показатели спонтанной и стимулированной хемилюминесценции гранулоцитов (у.е.)

Показатель 1	Медиана	Нижн. кварт.	Верх. кварт.	Показатель 2	Медиана	Нижн. кварт.	Верх. кварт.	<i>p</i>
$S_{\text{спонт.}} O$	432,74	237,95	854,84	$S_{\text{спонт.}} \text{Д-д Х}$	560,21	302,86	1189,26	0,112
$S_{\text{спонт.}} \text{Д-д Х}$	560,21	302,86	1189,26	$S_{\text{спонт.}} \text{Д-д КПХ}$	641,84	260,53	781,46	0,028
$S_{\text{спонт.}} \text{Д-д Х}/S_{\text{спонт.}} O$	1,26	0,94	1,99	$S_{\text{спонт.}} \text{Д-д КПХ}/S_{\text{спонт.}} O$	1,18	0,92	1,66	0,443
$S_{\text{стим.}} O$	1601,15	1065,54	2782,11	$S_{\text{стим.}} \text{Д-д Х}$	1499,95	1106,83	2472,46	0,990
$S_{\text{стим.}} \text{Д-д Х}$	1499,95	1106,83	2472,46	$S_{\text{стим.}} \text{Д-д КПХ}$	1847,96	1479,78	2432,27	0,032
$S_{\text{стим.}} \text{Д-д Х}/S_{\text{стим.}} O$	1,00	0,76	1,41	$S_{\text{стим.}} \text{Д-д КПХ}/S_{\text{стим.}} O$	1,24	1,00	1,60	0,001
$I(O)$	3,00	1,43	7,45	$I(\text{Д-д Х})$	2,40	1,63	3,69	0,015
$I(\text{Д-д Х})/I(O)$	0,77	0,60	1,24	$I(\text{Д-д КПХ})$	3,27	2,19	4,42	0,142
				$I(\text{Д-д КПХ})/I(O)$	0,92	0,64	1,37	0,021

$S_{\text{спонт.}}$ – величина площади под кривой спонтанной ХЛ; $S_{\text{стим.}}$ – величина площади под кривой люминолзависимой ХЛ, индуцированной опсонизированным зимозаном; O – контрольный образец; Д-д Х – «Диплен-Дента Х»; Д-д КПХ – «Диплен-Дента КПХ»; $S_{\text{Х}}/S_{\text{O}}$ и $S_{\text{КПХ}}/S_{\text{O}}$ – изменение светосуммы S под влиянием препаратов по отношению к контрольному образцу S_{O} , содержащему соответствующее количество раствора Хенкса; $I = S_{\text{стим.}}/S_{\text{спонт.}}$ – индекс клеточной стимуляции; I/O – изменение индекса клеточной стимуляции под влиянием растворов пленок; Me – медиана оцениваемых показателей; нижн. кварт. – нижний квартиль; верх. кварт. – верхний квартиль.

спонтанной ($S_{\text{спонт.}}$) и индуцированной опсонизированным зимозаном ($S_{\text{стим.}}$) люминолзависимой ХЛ, изменения светосуммы S под влиянием препаратов по отношению к контрольному образцу S_{O} , содержащему соответствующее количество р-ра Хенкса ($S_{\text{Х}}/S_{\text{O}}$ и $S_{\text{КПХ}}/S_{\text{O}}$), индекса клеточной стимуляции $I = S_{\text{стим.}}/S_{\text{спонт.}}$, изменения индекса активации под влиянием растворов пленок I/O , при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В таблице представлены данные оценки влияния растворов пленок Д-д Х и Д-д КПХ на показатели ХЛ: медиана (нижний квартиль; верхний квартиль). Установлено, что медиана значений спонтанной ХЛ при добавлении раствора Д-д Х была выше (в 1,3 раза) медианы спонтанной ХЛ в контрольных пробах, однако статистическая значимость не была достигнута. Медиана спонтанной ХЛ, индуцированной Д-д КПХ, была статистически достоверно больше (в 1,5 раза), чем в контрольных образцах с раствором Хенкса. В присутствии Д-д КПХ наблюдали статистически значимо достоверный рост стимулированной ХЛ – в 1,2 раза по сравнению с контролем, тогда как раствор Д-д Х подавлял стимулированную ХЛ в 1,1 раза, но статистическая значимость была не достигнута. Индекс активации ХЛ под влиянием Д-д Х – 2,4 (1,63; 3,69) статистически достоверно значимо снизился в 1,25 раза ($p = 0,015$), а в присутствии Д-д КПХ – 3,27 (2,19; 4,42) – увеличился в 1,1 раза, не достигнув статистически достоверной значимости ($p = 0,142$). При этом относительная величина изменения индекса активации для Д-д КПХ – 0,92 (0,64; 1,37) была статистически достоверно выше в 1,2 раза, чем для Д-д Х – 0,77 (0,60; 1,24) при $p = 0,021$.

Следует отметить, что относительное изменение индексов активации имело обратную статистически значимую корреляционную связь с исходным индексом активации $I(O)$ для обеих пленок (рис. 1, 2). Коэффициенты Спирмена равны $r = -0,751795$ и $r = -0,767692$ соответственно.

По результатам проведенных исследований были выделены две примерно равные по численности группы в зависимости от величины $I(O)$. В группу 1 вошли лица со значениями $I(O) < 3,054$ (14 человек), во вторую – с высокими значениями $I(O) > 4,340$ (12 человек).

Из рисунка 3 видно, что значения спонтанной ХЛ у пациентов 1-й группы – 777,72 (466,50; 1485,66) – были в 3,4 раза выше, чем у пациентов 2-й группы – 230,87 (163,24; 255,11). При добавлении Д-д Х значения спонтанной ХЛ у пациентов 1-й группы практически не изменялись – 717,72 (466,25; 1228,98), а у пациентов 2-й группы были в среднем в 1,9 раза выше – 434,90 (263,55; 680,33). При внесении Д-д КПХ наблюдалась похожая тенденция – у пациентов 1-й группы медиана и интерквартильный размах были равны 779,87 (530,99; 1670,70), а у пациентов 2-й группы в 1,3 раза выше контроля – 299,53 (233,25; 651,53) при $p < 0,05$.

Значения ХЛ лейкоцитов, стимулированной зимозаном (рис. 4), у представителей 1-й группы – 1323,79 (837,90; 2239,47) были в 1,5 раза ниже, чем у людей из 2-й группы – 1937,93 (1287,48; 3874,71). Добавление Д-д Х незначительно снижало стимулированную зимозаном ХЛ – 1286,52 (965,43; 2067,85) у пациентов 1-й группы, но повышало у пациентов 2-й группы – 1998,77 (1394,68; 2620,43). Добавление в систему Д-д КПХ статистически достоверно увеличивало стимулированную ХЛ – 1706,09 (1388,18; 2240,91) у пациентов 1-й группы, но не влияло на этот показатель у индивидуумов 2-й группы – 2085,63 (1495,31; 2566,90). При этом медиана значений ХЛ, стимулированной раствором Д-д КПХ, была статистически достоверно выше, чем медиана значений ХЛ, стимулированной раствором Д-д Х, в 1,33 раза ($p = 0,001$) у людей из 1-й группы. У индивидуумов 2-й группы статистически достоверной разницы не выявлено.

Индекс активации (рис. 5) в контрольных пробах людей из 1-й группы – 1,49 (1,16; 2,59) был статистически достоверно ниже в 5 раз, чем у представителей 2-й группы – 7,61 (5,24; 17,36). Раствор Д-д Х не влиял на индекс активации – 1,67 (1,15; 2,43) у обследуемых 1-й группы ($p = 0,730$) и статистически достоверно значимо снижал его у индивидуумов 2-й группы – 3,49 (2,34; 6,02) при $p = 0,004$. Раствор Д-д КПХ статистически достоверно увеличивал индекс активации лейкоцитов в 1,5 раза – 2,22 (1,37; 3,27) у людей в 1-й группе и снижал в 1,6 раза – 4,83 (3,40; 8,44) во 2-й группе.

Кроме этого, было установлено (рис. 6), что медиана и интерквартильный размах изменения индекса активации ХЛ, индуцированной Д-д Х, $I(X)/I(O)$ – 1,11 (0,85; 1,48), у людей (1-я группа) с исходной низкой спонтанной ХЛ лейкоцитов были статистически достоверно больше, в 1,9 раза,

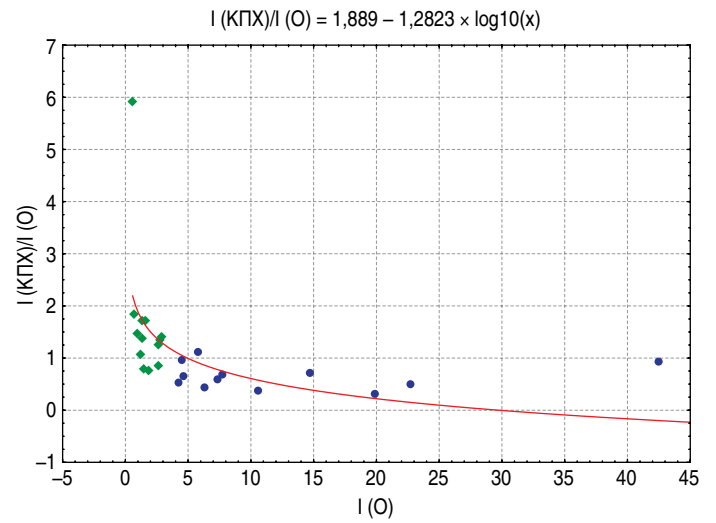
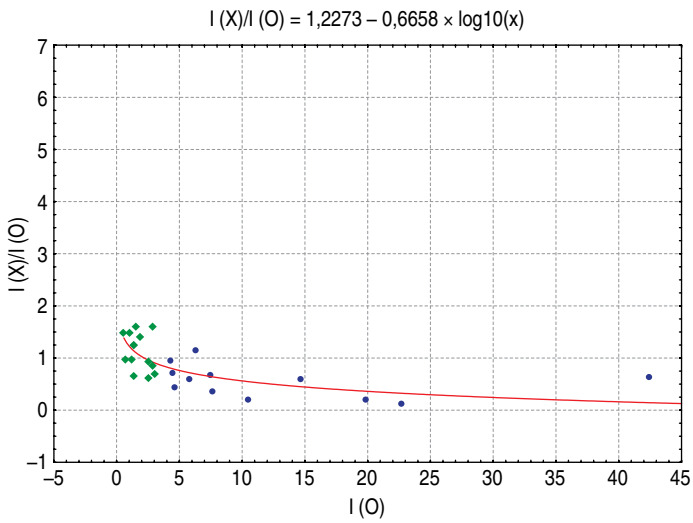


Рис. 1. Корреляционная зависимость изменения индекса активации в присутствии пленки Д-д X относительно контрольных проб.

Рис. 2. Корреляционная зависимость изменения индекса активации в присутствии пленки Д-д КПХ относительно контрольных проб.

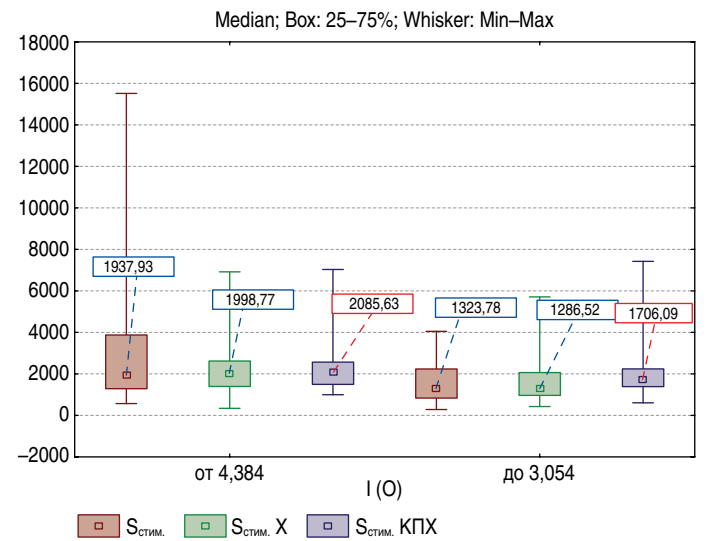
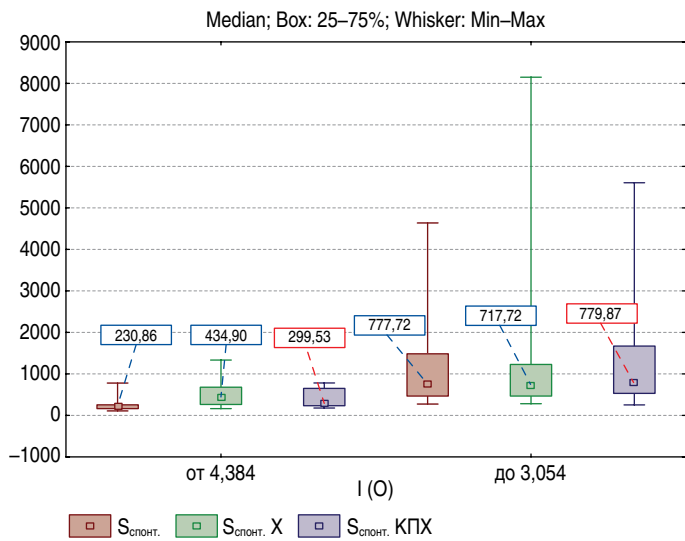


Рис. 3. Медианы значений спонтанной ХЛ в присутствии дипленовских пленок.

Рис. 4. Медианы значений ХЛ, стимулированной зимозаном, в присутствии дипленовских пленок.

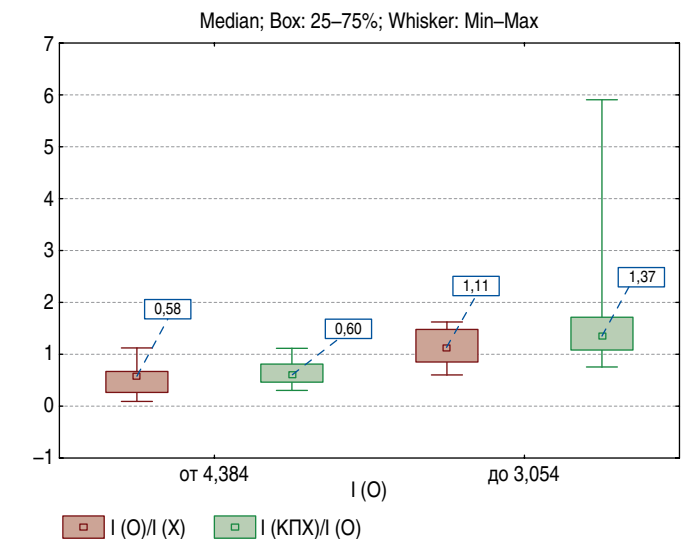
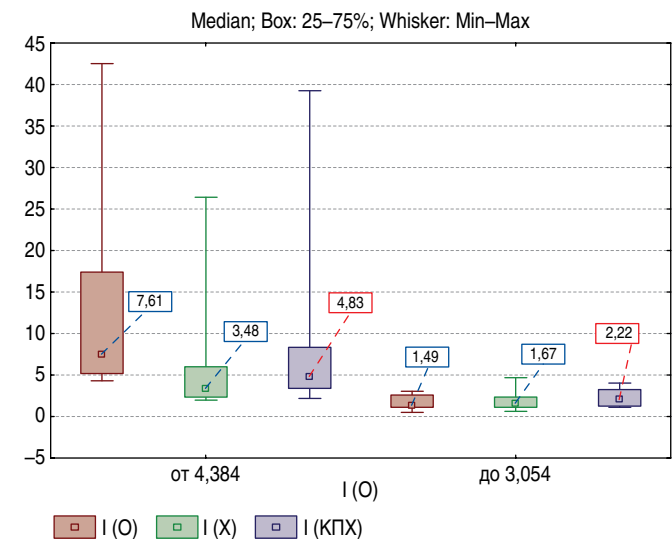


Рис. 5. Медианы значений индексов активации ХЛ в присутствии дипленовских пленок.

Рис. 6. Изменение индексов активации ХЛ, индуцированной Д-д X и Д-д КПХ, по отношению к контрольным образцам.

чем у людей с высоким спонтанным ответом лейкоцитов (2-я группа) – 0,58 (0,27; 0,67). Прирост $I(KПХ)/I(O)$ у представителей 1-й группы – 1,37 (1,08; 1,72) был статистически достоверно значимо в 2,3 раза больше, чем у людей из 2-й группы – 0,6 (0,46; 0,81).

Таким образом, при добавлении Д-д КПХ индекс активации был незначительно выше, чем при добавлении Д-д Х у людей в обеих группах.

Нами исследовано влияние самоклеящейся пленки «Диплен-Дента КПХ» на активность нейтрофильных гранулоцитов цельной крови, являющихся основным источником АФК, по сравнению с используемой в пародонтологии пленкой «Диплен-Дента Х», содержащей хлоргексидина биглюконат 0,01–0,03 мг/см² с использованием метода люминол-зависимой ХЛ.

В предыдущих работах Ушакова Р.В. и соавт. (2015) описано статистически значимое снижение спонтанной и стимулированной ХЛ, а также индекса стимуляции нейтрофильных гранулоцитов здоровых доноров под влиянием пленки «Диплен-Дента Х» [13]. Данные настоящего исследования подтверждают тенденцию о влиянии «Диплен-Дента Х» на индекс активации ($p = 0,015$), хотя статистически достоверная разница значений как спонтанной, так и стимулированной ХЛ выявлялась не всегда. Возможно, это связано с тем, что тип течения воспалительной реакции и прогрессирование хронического генерализованного пародонтита во многом определяются фагоцитарной активностью нейтрофилов и интенсивностью «респираторного взрыва» [7]. Регистрируемая спонтанная ХЛ свидетельствует о респираторном взрыве, возникающем в нейтрофилах в связи с фагоцитозом. Стимулированная ХЛ – показатель функциональной активности фагоцитов, отражение резервов их бактерицидной функции. Индекс стимуляции, рассчитываемый как отношение S стимулированной ХЛ к S спонтанной ХЛ, отражает состояние неспецифической реактивности организма [1, 7]. Поэтому логично предположить, что функциональная активность гранулоцитов периферической крови обследованных практически здоровых людей в группе 1 с исходным индексом активации ХЛ $I(O) < 3,054$ и в группе 2 с $I(O) > 4,34$ в настоящем исследовании определяется гипозергическим и гиперергическим типами реактивности соответственно.

В состав пленки «Диплен-Дента КПХ», кроме хлоргексидина, включены два лекарственных средства: кетопрофен и α -токоферола ацетат (витамин Е). Последний оказывает выраженное антиоксидантное действие. Липофильная молекула α -токоферола способна инактивировать свободные радикалы непосредственно в гидрофобном слое мембран. Она отдает атом водорода свободному радикалу пероксида липида, восстанавливая его до гидропероксида, тем самым останавливая перекисное окисление липидов. При этом образовавшийся свободный радикал витамина Е стабилен и не вызывает цепную реакцию свободнорадикального окисления. Поскольку α -токоферол является непосредственно мембранным антиоксидантом, для проявления его действия необходима ассоциация молекулы с мембраной, на что требуется время. Непосредственно после добавления витамина Е процесс восстановления мембран не усиливается, и только высокие его концентрации проявляют эффективность через 24 ч [15].

Таким образом, установленные в настоящей работе различия во влиянии на метаболическую активность нейтрофилов пленки Д-д КПХ в сравнении с «Диплен-Дента Х», очевидно, связаны с присутствием в его составе кетопрофена. Во всей совокупности влияние на индекс стимуляции статистически значимо более выражено для пленки «Диплен-Дента КПХ» в сравнении с «Диплен-Дента Х». Необходимы дальнейшие исследования влияния изучаемых лекарственных форм на функциональную активность гранулоцитов при воспалительных заболеваниях, в том числе тканей пародонта.

Выводы

1. Исследуемые полимерные пленки «Диплен-Дента Х» и «Диплен-Дента КПХ», предложенные для местного лечения воспалительных процессов в пародонте, по-разному влияют на респираторный метаболизм нейтрофильных гранулоцитов, что зависит как от состава активных компонентов, введенных в диплен, так и от исходного функционального состояния гранулоцитов.

2. При низком индексе активации ($< 3,054$) «Диплен-Дента КПХ» в большей степени, чем «Диплен-Дента Х», увеличивает все показатели ХЛ: спонтанную и стимулированную ХЛ. Он также значимо повышает индекс активации, в отличие от «Диплен-Дента Х», лишь незначительно влияющего на него.

3. При высоких значениях $I(O)$ ($> 4,34$) оба препарата значимо уменьшают индекс активации, при этом относительная величина изменения индекса $I/I(O)$ в группе 2 значимо меньше, чем в группе 1. В группе 2 «Диплен-Дента КПХ» в меньшей степени, чем «Диплен-Дента Х», повышает уровень спонтанной ХЛ, однако статистическая значимость не достигнута.

Литература

- Грудянов АИ Фоменко ЕВ. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта. М.: Изд-во Мед. информац. агентство, 2010, 89 с.
- Ипполитов ЕВ, Николаева ЕН, Царев ВН. Биопленки полости рта – индукторы сигнальных систем врожденного иммунитета. Стоматология. 2017;96(4): 58-62. DOI: 10.17116/stomat201796458-62
- Babaev EA, Balmasova IP, Mkrtumyan AM, Kostryukova SN, Vakhitova ES, Il'ina EN, et al. Metagenomic Analysis of Gingival Sulcus Microbiota and Pathogenesis of Periodontitis Associated with Type 2 Diabetes Mellitus. Bull Exp Biol Med. 2017 Oct;163(6):718-721. DOI: 10.1007/s10517-017-3888-6.
- Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. Mol Oral Microbiol. 2014 Dec;29(6):248-57. DOI: 10.1111/omi.12065.
- Sochralaska M, Potempa J. Manipulation of neutrophils by *Porphyromonas gingivalis* in the development of periodontitis. Front Cell Infect Microbiol. 2017 May 23;7:197. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00197.
- Вольф ГФ, Ратейцхак ЭМ. Пародонтология. 2-е издание. Перевод с немецкого. М.: «МЕДпресс-информ», 2014, 548 с.
- Царёв ВН, Балмасова ИП, Еремина ОФ. Бета-лактамы: цефалоспорины. В кн.: Антибиотики и противомикробный иммунитет. Под ред. Н.Д.Ющука, И.П.Балмасовой, В.Н.Царёва. М.: Практическая медицина, 2013, с. 56-78.
- Царёв ВН, Пономарёва АГ, Кузнецов КВ, Ахмедов ГД, Стаценко ЕА. Функциональное состояние тиолдисульфидного звена антиоксидантной системы при хирургических операциях челюстно-лицевой области и в послеоперационном периоде. Военная медицина. 2015;3:119-22.

9. Liu C, Mo L, Niu Y, Li X, Zhou X, Xu X. The role of reactive oxygen species and autophagy in periodontitis and their potential linkage. *Front Physiol.* 2017 Jun 23;8:439. DOI: 10.3389/fphys.2017.00439
10. Коротина ОЛ, Генералов ИИ. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2012;4:23-32.
11. Stoiber W, Obermayer A, Steinbacher P, Krautgartner WD. The role of reactive oxygen species (ROS) in the formation of extracellular traps (ETs) in humans. *Biomolecules.* 2015 May 4;5(2):702-23. DOI: 10.3390/biom5020702.
12. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner WD. Extracellular neutrophil traps in periodontitis. *J Periodontal Res.* 2009 Oct;44(5):664-72. DOI: 10.1111/j.1600-0765.2008.01175.x.
13. Ушаков РВ, Ушакова ТВ, Герасимова ТП, Царев ВН, Коркин ВВ. Разработка адгезивной пленки с комбинированным антимикробным, противовоспалительным и антиоксидантным действием. *DentalForum.* 2015;4:93.
14. Федоров ГН, Леонов СД. Особенности хемилюминесценции цельной разведенной крови. *Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал.* 2007;6(4). URL: www.smolensk.ru/user/sgma/MMORPH/TITL-16.htm
15. Howard AC, McNeil AK, McNeil PL. Promotion of plasma membrane repair by vitamin E. *Nat Commun.* 2011 Dec 20;2:597. DOI: 10.1038/ncomms1594.

References

1. Grudyanov AI Fomenko EV. *Etiologiya i patogenez vospalitel'nykh zabolevanii parodonta.* Moscow, 2010, 89 p. (In Russian).
2. Ippolitov EV, Nikolaeva EN, Tsarev VN. Oral biofilm: inductors of congenital immunity signal pathways. *Stomatology (Stomatologiya).* 2017;96(4):58-62. DOI: 10.17116/stomat201796458-62 (In Russian).
3. Babaev EA, Balmasova IP, Mkrtyumyan AM, Kostryukova SN, Vakhitova ES, Il'ina EN, et al. Metagenomic Analysis of Gingival Sulcus Microbiota and Pathogenesis of Periodontitis Associated with Type 2 Diabetes Mellitus. *Bull Exp Biol Med.* 2017 Oct;163(6):718-721. DOI: 10.1007/s10517-017-3888-6.
4. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Mol Oral Microbiol.* 2014 Dec;29(6):248-57. DOI: 10.1111/omi.12065.
5. Sochralaska M, Potempa J. Manipulation of neutrophils by *Porphyromonas gingivalis* in the development of periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017 May 23;7:197. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00197.
6. Vol'f GF, Rateitskhak EM. *Parodontologiya.* 2nd edition. Moscow: «MEDpress-inform», 2014, 548 p. (In Russian).
7. Tsarev VN, Balmasova IP, Eremina OF. Beta-laktamy: tsefalosporiny. In: *Antibiotiki i protivoinfeksionnyi immunitet.* Edited by N.D.Yushchuk, I.P.Balmasova, V.N.Tsarev. Moscow: "Prakticheskaya meditsina", 2013, pp. 56-78. (In Russian).
8. Tsarev VN, Ponomareva AG, Kuznetsov KV, Achmedov GJ, Statsenko EA. The functional state of thiol-disulfide link of the antioxidant system in surgery maxillofacial area and in the postoperative period. *Voennaya meditsina.* 2015;3:119-22. (In Russian).
9. Liu C, Mo L, Niu Y, Li X, Zhou X, Xu X. The role of reactive oxygen species and autophagy in periodontitis and their potential linkage. *Front Physiol.* 2017 Jun 23;8:439. DOI: 10.3389/fphys.2017.00439
10. Korotina OL, Generalov II. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation, functions. *Immunopathology, Allergology, Infectology.* 2012;4:23-32. (In Russian).
11. Stoiber W, Obermayer A, Steinbacher P, Krautgartner WD. The role of reactive oxygen species (ROS) in the formation of extracellular traps (ETs) in humans. *Biomolecules.* 2015 May 4;5(2):702-23. DOI: 10.3390/biom5020702.
12. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner WD. Extracellular neutrophil traps in periodontitis. *J Periodontal Res.* 2009 Oct;44(5):664-72. DOI: 10.1111/j.1600-0765.2008.01175.x.

Информация о соавторах:

Николаева Елена Николаевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ
 Адрес: 123425, Москва, ул. Делегатская, 20/1
 Телефон: (495) 609-6700
 E-mail: elnikolaeva@bk.ru

Ушаков Рафаэль Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ
 Адрес: 123425, Москва, ул. Баррикадная, 2
 Телефон: (499) 252-2104
 E-mail: rafaelu@mail.ru

Ипполитов Евгений Валерьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ
 Адрес: 123425, Москва, ул. Делегатская, 20/1
 Телефон: (495) 609-6700
 E-mail: ippo@bk.ru

Ушаков Алексей Рафаэлевич, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии Научно-исследовательского медико-стоматологического института, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ
 Адрес: 123425, Москва, ул. Делегатская, 20/1
 Телефон: (495) 609-6700
 E-mail: rafaelu@mail.ru

Царёв Виктор Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, директор Научно-исследовательского медико-стоматологического института, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ
 Адрес: 123425, Москва, ул. Делегатская, 20/1
 Телефон: (495) 609-6700
 E-mail: nikola777@rambler.ru

Information about co-authors:

Elena N. Nikolaeva, MD, PhD, DSc, professor of department of microbiology, virology, immunology of A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
 Address: 20/1 Delegatskaya str., Moscow, 123425, Russian Federation
 Phone: (495) 609-6700
 E-mail: elnikolaeva@bk.ru

Rafael V. Ushakov, MD, PhD, DSc, professor, head of department of dentistry, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation
 Address: 2 Barrikadnaya str., Moscow, 123425, Russian Federation
 Phone: (499) 252-2104
 E-mail: rafaelu@mail.ru

Yevgeniy V. Ippolitov MD, PhD, DSc, professor, head of department of microbiology, virology, immunology of A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
 Address: 20/1 Delegatskaya str., Moscow, 123425, Russian Federation
 Phone: (495) 609-6700
 E-mail: ippo@bk.ru

Aleksey R. Ushakov, MD, PhD, junior research associate, laboratory of immunology, Research Institute of Medicine and Dentistry of A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
 Address: 20/1 Delegatskaya str., Moscow, 123425, Russian Federation
 Phone: (495) 609-6700
 E-mail: rafaelu@mail.ru

Viktor N. Tsarev, MD, PhD, DSc, professor, director of Research Institute of Medicine and Dentistry, head of department by microbiology, virology, immunology of A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
 Address: 20/1 Delegatskaya str., Moscow, 123425, Russian Federation
 Phone: (495) 609-6700
 E-mail: nikola777@rambler.ru