

doi : 10.52485/19986173_2023_1_74

УДК 616-092.4 : 616.311.4

¹ Фефелов А.А., ² Баясхаланова Ц.Б., ² Терешков П.П., ² Фефелова Е.В., ² Цыбиков Н.Н.**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
ТКАНЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ У КРЫС**¹ ГАУЗ «Краевая стоматологическая поликлиника», 672027, Россия,

г. Чита ул. Угданская, 8;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39а

Цель исследования: оценить морфологические и иммуногистохимические параметры пародонта крысы в модели экспериментального пародонтита.

Материалы и методы исследования. Экспериментальный пародонтит формировали у самцов крыс породы Wistar в возрасте 18–20 недель и весом 200–300 г. Пародонтит моделировали путем отслойки десны концом копьевидного скальпеля (№ 11) в сочетании с инъекциями 10% раствора этилового спирта с 0,25% раствором новокаином в течении 7 дней. Воспалительный процесс оценивался морфологическими и гистологическими методами.

В сыворотке крови и гомогенате тканей пародонта определяли уровень цитокинов с помощью системы мультиплексного анализа (США). Гистологические срезы делали на уровне резцов обеих челюстей, окрашивали гематоксилин-эозином и иммуногистохимически кроличьими моноклональными антителами (SP7).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа Крускал-Уоллисса. Достоверность различий между группами (p) оценивали при помощи попарных сравнений Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера.

Результаты исследования. На седьмые сутки эксперимента десна приобрела цианотичный оттенок, наблюдался её значительный отек. Гистологически зафиксировано наличие пародонтального кармана, инфильтрация тканей лейкоцитами, макрофагами, фибробластами, утолщение слоя эпителия десны, разрушение периодонта и резорбция костных балок альвеол. Отмечался рост уровня цитокинов у крыс, в большей степени в сыворотке крови. Наиболее выраженный прирост зарегистрирован у TNF α и IFN γ , а минимальное увеличение отмечалось со стороны IL 6. Выявлено, что число макрофагов и В-лимфоцитов увеличилось одинаково в 8,5 раз ($p=0,000001$), количество Т-лимфоцитов возросло в 5,5 раз ($p=0,000001$).

Заключение. В модели хронического пародонтита нами показано, что наблюдается активация всех звеньев иммунной системы, с преобладанием гуморального звена иммунной системы, проявляющаяся возрастанием уровней цитокинов как в сыворотке крови, так и тканях и увеличением числа иммунокомпетентных клеток в тканях пародонта.

Ключевые слова: экспериментальный пародонтит, цитокины, иммуногистохимия, ответ иммунной системы.

¹ Fefelov A.A., ² Bayaskhalanova Ts.B., ² Tereshkov P.P., ² Fefelova E.V., ² Tsybikov N.N.**MORPHOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CHANGES IN TISSUES DURING
EXPERIMENTAL PARODONTITIS IN RATS**¹ Regional Dental Clinic, 8 Ugdanskaya str., Chita, Russia, 672027;² Chita State Medical Academy, 39 A Gorky str., Chita, Russia, 672000

The purpose of the study: to evaluate the morphological and immunohistochemical parameters of the rat periodontium in the model of experimental periodontitis.

Materials and methods. Experimental periodontitis was formed in male Wistar rats aged 18–20 weeks and weighing 200–300 g. Periodontitis was modeled by detaching the gums with the end of a spear-shaped scalpel (No. 11) in combination with injections of 10% ethanol solution with 0.25% novocaine solution in within 7 days. The inflammatory process was assessed morphologically and histologically. In blood serum and homogenate of periodontal tissues, the level of cytokines was determined using a multiplex analysis system (USA). Histological sections were made at the level of the incisors of both jaws, stained with hematoxylin-eosin and immunohistochemically with rabbit monoclonal antibodies (SP7). Statistical data processing was

carried out using one-way Kruskal-Wallis analysis of variance. Significance of differences between groups (p) was assessed using pairwise comparisons of Dwass-Steele-Critchlow-Fligner.

Research results. On the seventh day of the experiment, the gum acquired a cyanotic hue, its significant edema was observed. Histologically, the presence of a periodontal pocket, infiltration of tissues with leukocytes, macrophages, fibroblasts, thickening of the gingival epithelium, destruction of the periodontium and resorption of the bone beams of the alveoli were recorded. There was an increase in the concentrations of cytokines in rats, to a greater extent in the blood serum. The most pronounced increase was in TNF α and IFN γ , the minimum increase was observed in IL 6. It was found that the number of macrophages and B-lymphocytes increased equally by 8.5 times ($p=0.000001$), the number of T-lymphocytes increased by 5.5 times ($p=0.000001$).

Conclusion. In the model of chronic periodontitis, we have shown that there is activation of all parts of the immune system, with a predominance of the humoral part of the immune system, manifested by an increase in the levels of cytokines both in blood serum and tissues and an increase in the number of immunocompetent cells in periodontal tissues.

Key words: experimental periodontitis, cytokines, immunohistochemistry, immune response.

Хронический пародонтит относится к наиболее распространенным заболеваниям во всем мире с общей распространенностью от 11,2% до 52% [1-2]. Пародонтит является основной причиной потери зубов у взрослых, оказывая последующее влияние на жевательную дисфункцию человека, его качество жизни и самооценку [3]. Лечение хронического пародонтита в большинстве случаев успешно, однако до 30% пациентов с умеренным хроническим пародонтитом невосприимчивы к традиционной терапии пародонтита [4]. Поэтому понимание патогенеза хронического пародонтита может способствовать улучшению лечения пациентов.

К причинам хронического пародонтита чаще относят развивающийся дисбиоз полости рта [5-6]. Существует мнение, что причинным фактором данного заболевания может выступать генетический полиморфизм, приводящий к избыточной активации иммунного ответа, что приводит к повреждению и деградации соединительной ткани и потере альвеолярной кости [7]. Разрушенный матрикс, в свою очередь, служит питательными веществами для дисбиотической микробной популяции. Антигенпрезентирующие клетки реагируют как на патоген-ассоциированный антиген (Pathogen-Associated Molecular Pattern, PAMP), так и на молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMP), что сопровождается синтезом специфических цитокинов и хемокинов, привлекающих в очаг повреждения нерезидентные лейкоциты, такие как нейтрофилы [8]. Полиморфноядерные лейкоциты являются короткоживущими клетками и погибают в больших количествах. Их массовая гибель является одной из ведущих причин деградации тканей пародонта [9]. Активированные тучные клетки, в свою очередь, продуцируют оксид азота (NO), кислые фосфатазы, металлопротеиназы (ММР) и некоторые цитокины, такие как TNF α [10]. NK-клетки, в свою очередь, индуцируют созревание дендритных клеток, и являются источником TNF- α и IL-2. Стимулированные макрофаги могут способствовать разрастанию фибробластов, повреждению тканей и резорбции костей, за счет повышенной секреции матриксных металлопротеиназ и коллагеназ одновременно с провоспалительными цитокинами [11].

Специфический иммунный ответ осуществляется В- и Т-лимфоцитами. Считается, что CD8+ Т-клетки могут играть супрессорную роль, поскольку они могут регулировать другие клетки иммунной системы. В эксперименте было показано, что CD8+ регуляторные Т-клетки уменьшают остеокластогенез и модулируют местный иммунный ответ [12]. Vártova и др. (2000) описали, что у лиц, невосприимчивых к заболеваниям пародонта, повышена активность Th1-лимфоцитов. Напротив, у пациентов с пародонтитом, в основном, активированы Th2-клетки [13]. Другое исследование, проведенное на крысах Вистар, показало, что прогресс гингивита связан с увеличением числа активированных Th17-лимфоцитов [14].

Первичные цитокины, продуцируемые подгруппами Th1 и Th17, способствуют выработке TNF- α , IL-1 β , IL-17 α индуцирующие резорбцию кости [15]. В-лимфоциты, трансформируясь в плазматические клетки, синтезируют антитела и цитокины, обеспечивая

работу гуморального звена иммунной системы. Однако, продукция плазматическими клетками таких цитокинов, как TNF- α , IL-6, IL-10, MMP, RANKL может способствовать деградации тканей пародонта и остеокластогенезу [12].

Выяснение тонких механизмов, ответственных за деградацию тканей пародонта и резорбцию костной ткани необходимо для поиска перспективных терапевтических подходов, направленных на модулирование реакции воспаления при хроническом пародонтите.

Цель исследования: оценить морфологические и иммуногистохимические параметры пародонта крысы в модели экспериментального пародонтита.

Материалы и методы исследования. Экспериментальный пародонтит формировали у самцов крыс породы Wistar в возрасте 18-20 недель и весом 200-300 г. Животные находились в условиях 12-часового цикла свет-темнота при $23 \pm 3^\circ\text{C}$, влажности воздуха $55 \pm 15\%$, освещении от 150 до 300 люкс и имели свободный доступ к пище и воде. Эксперимент проводился в соответствии с национальными рекомендациями для ухода и использования лабораторных животных, одобренных Комитетом по этике животных.

Животные были разделены на две группы по 10 особей в каждой группе: животные с экспериментальным пародонтитом и контрольная группа.

Пародонтит моделировали путем отслойки десны концом копьевидного скальпеля (№ 11) в сочетании с инъекциями 10% раствора этилового спирта с 0,25% раствором новокаином в течении 7 дней [1].

Наличие воспалительного процесса оценивалось в баллах:

0 – здоровая десна;

1 балл – воспаление легкой степени: невыраженный отёк, незначительное изменение цвета, отсутствие кровотечения при зондировании;

2 балла – воспаление средней степени: заметный отёк и покраснение тканей пародонта, кровоточивость при зондировании;

3 балла – воспаление тяжелой степени: выраженное покраснение, наличие язв, отёка и обильное кровотечение.

Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфирного наркоза. Производили забор крови с отделением сыворотки крови и тканей. Часть тканей гомогенизировали, центрифугировали, забирали супернатант для определения цитокинов. Другую часть – фиксировали в 4% формальдегиде (pH 7,5) в течение 12 часов при 4°C , а затем переносили в декальцинирующий раствор с 0,5 М ЭДТА-Na (pH 7,5-8,0) на 4 недели, после чего осуществлялась заливка их в парафин. Гистологические срезы делались на уровне резцов обеих челюстей и окрашивались гематоксилин-эозином и иммуногистохимически. Иммуногистохимическое окрашивание проводили стрептавидин-биотин-пероксидазным методом [17]. Срезы всех исследуемых групп окрашивали кроличьими моноклональными антителами (SP7) (abcam, 16669, Кембридж, Великобритания) в разведении 1:100. Парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм погружали в ксилол для удаления парафина. Дегидратацию проводили в спирте убывающей степени, а затем дважды промывали дистиллированной водой в течение пяти минут. Эндогенные пероксидазы блокировали применением 5% перекиси водорода в течение десяти минут. Извлечение антигена и разведение антител проводили в соответствии с инструкциями производителя. Срезы инкубировали с первичным антителом (CD 3, CD 20, CD 68, S100) в течение 60 мин при 25°C , затем промывали и вновь инкубировали в течение 30 мин с биотинилированным вторичным антителом. В качестве хромогена использовали 3'-диаминобензидин (Dako, Glostrup, Дания) при pH 7,0 в течение трех минут. Срез отрицательного контроля из каждой группы инкубировали с фосфатно-солевым буфером (PBS) без добавления первичных антител.

Определение концентрации цитокинов (IL 1 β , IL 17 α , IL 10, IL 6, TNF α , INF γ) в плазме крови крыс проводили с помощью системы мультиплексного анализа «Rat Inflammation Panel» соответствующих аналитов для крыс компании «Biolegend» (США).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа Крускала-Уолисса. Результаты в таблицах представлены как

медиана (Me) и (25; 75) процентиль. Достоверность различий между группами (p) оценивали при помощи попарных сравнений Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера. Статистически достоверными считались данные при количественной характеристике случайностей (p-значение) не более 0,05.

Результаты исследования. Ткани пародонта контрольной группы животных не имели ни клинических, ни гистологических изменений. В первые сутки эксперимента ткани пародонта опытных крыс имели здоровый вид, светло-розовый цвет. Десна была прочно прикреплена к подлежащим структурам, её свободный край имел чёткий контур, повторяющий цементно-эмалевое соединение соседних зубов. На седьмые сутки эксперимента десна приобрела цианотичный оттенок, наблюдался значительный отёк. Её свободный край стал неровным.

Гистологически мы наблюдали наличие пародонтального кармана, инфильтрацию тканей лейкоцитами, макрофагами, фибробластами, утолщение слоя эпителия десны, отек и разрушение периодонта (рис. 1, 2) и резорбцию костных балок альвеол.

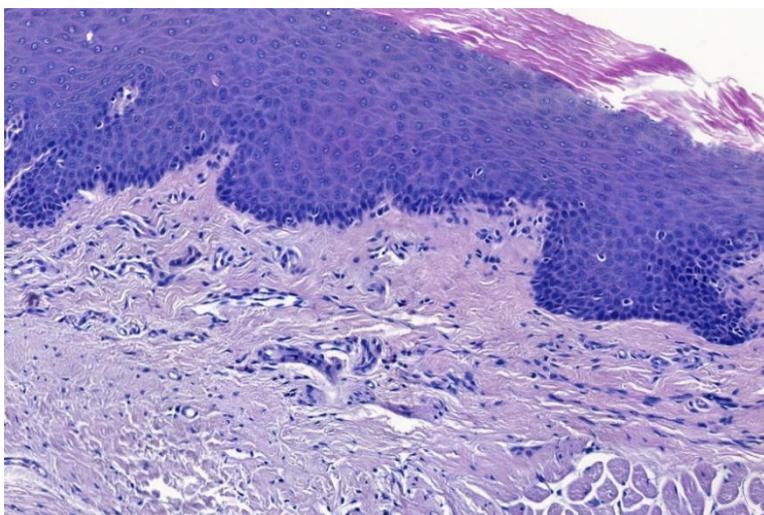


Рис. 1. Здоровая ткань пародонта. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 400. Фото автора.

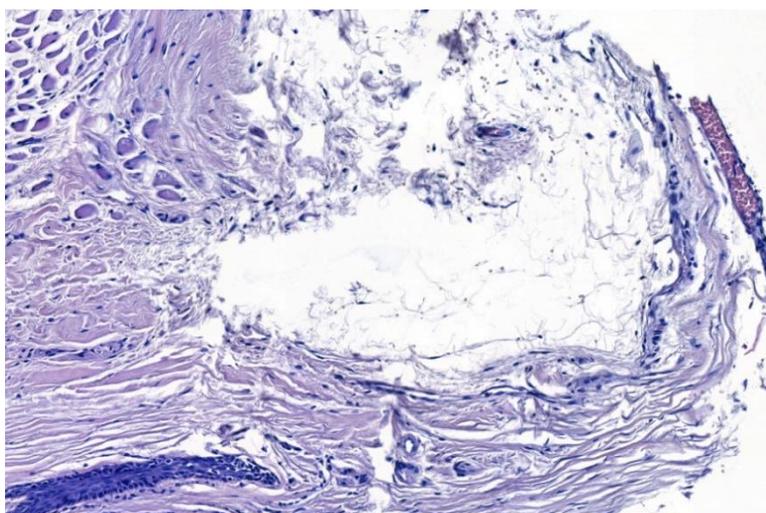


Рис. 2. Ткань пародонта в зоне повреждения. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 400. Фото автора.

Пародонтит считается остеоиммунным заболеванием. Сосудистые, клеточные, восстановительные реакции тканей пародонта зависят в первую очередь от характера иммунного ответа на повреждение [18]. Оценить характер иммунного ответа позволяет уровень цитокинов, число иммунокомпетентных клеток в тканях. Нами наблюдался более выраженный рост концентраций цитокинов у крыс с моделированным пародонтитом в сыворотке крови (табл. 1), в большей степени у TNF α и IFN γ – более чем в 160 раз ($p=0,00001$ и $p=0,000001$). Минимальное увеличение содержания изучаемых БАВ наблюдалось со стороны IL 6 – в 11 раз в сыворотке крови ($p=0,000001$) и в 3,8 раз в тканях пародонта ($p=0,000001$).

Таблица 1

Уровень цитокинов в сыворотке крови и гомогенате тканей пародонта у экспериментальных животных, Me (25; 75 перцентили)

Показатели	Контрольная группа	Крысы с развившимся пародонтитом	Тест Крускалла-Уоллиса
IL 1 β , пг/мл сыворотки	23,8 (22,8; 24,7)	1460,0 (1005,0; 3488,1)	$X^2=72,3$, $p<0,001$
IL 1 β , пг/г ткани	22,4 (21,2; 23,7)	987,0 (571; 1580,0)	$X^2=73,7$, $p<0,001$
IL 6, пг/мл сыворотки	191,0 (167,0; 204,4)	2208,1 (1451,1; 2851,1)	$X^2=68,2$, $p<0,001$
IL 6, пг/г ткани	207,0 (199,1; 214,1)	792,4 (523,0; 1161,0)	$X^2=65,8$, $p<0,001$
IL 10, пг/мл сыворотки	37,8 (34,9; 39,1)	2010,0 (806,0; 4492,0)	$X^2=68,4$, $p<0,001$
IL 10, пг/г ткани	38,0 (34,9; 40,2)	1267,1 (777,1; 3440,2)	$X^2=67,2$, $p<0,001$
IL 17 α , пг/мл сыворотки	25,2 (21,3; 35,9)	1205,1 (898,1; 1883,2)	$X^2=72,0$, $p<0,001$
IL 17 α , пг/г ткани	41,4 (36,8; 46,0)	311,0 (243,0; 417,1)	$X^2=68,7$, $p<0,001$
TNF α , пг/мл сыворотки	11,9 (11,2; 12,5)	1948,2 (1733,0; 2677,1)	$X^2=74,0$, $p<0,001$
TNF α , пг/г ткани	11,7 (11,0; 12,1)	560,3 (493,1; 602,3)	$X^2=71,6$, $p<0,001$
IFN γ , пг/мл сыворотки	11,1 (10,3; 11,6)	1862,4 (1589,6; 2310,6)	$X^2=72,0$, $p<0,001$
IFN γ , пг/г ткани	10,6 (8,62; 11,4)	208,0 (148,0; 375,1)	$X^2=69,9$, $p<0,001$

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с группой контроля.

При изучении динамики иммунокомпетентных клеток выявлено, что число макрофагов и В-лимфоцитов увеличилось одинаково в 8,5 раз ($p=0,000001$). В то время, как количество Т-лимфоцитов возросло лишь в 5,5 раз ($p=0,000001$) (табл. 2). Это свидетельствует о вовлеченности в патологический процесс всех звеньев иммунной системы с преобладанием гуморального звена.

Иммуногистохимические параметры пародонта экспериментальных животных,
Me (25; 75 перцентили)

Показатели	Контрольная группа	Крысы с развившемся пародонтитом	Тест Крускала-Уоллиса
CD 3, % от общего числа лимфоцитов	6,0 (4,8; 8,0)	33,5 (27,5; 41,5)	$X^2=68,4, p<0,001$
CD 20, % от общего числа лимфоцитов	4,0 (3,0; 6,3)	34,5 (28,8; 45,0)	$X^2=686,2, p<0,001$
CD 68, % от общего числа мононуклеаров	5,5 (4,0; 7,0)	47,0 (35,8; 57,5)	$X^2=68,3, p<0,001$

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с группой контроля.

Показано, что активированные Т-хелперы (Th1, Th2 и Th17) могут продуцировать различные провоспалительные цитокины, такие как IL-1 β , IL-25 и IL-17 α , которые влияя на дендритные клетки, нейтрофилы и В-лимфоциты, повышают их функцию. IL 17 α , ответственен не только за активацию аутоиммунных процессов, но и за резорбцию костной ткани [19]. В-лимфоциты с одной стороны продуцируют антитела для распознавания бактериальных компонентов, с другой – синтез аутоантител к коллагену, фибронектину и ламинину, что способствует локальной деструкции пародонта. Кроме этого, считается что В-лимфоциты, у пациентов с заболеваниями пародонта могут способствовать хроническому системному воспалению за счет секреции ими IL-8 и IL-1 β [20].

Заключение. Таким образом, в модели хронического пародонтита нами показано, что наблюдается активация всех звеньев иммунной системы, с преобладанием гуморального звена иммунной системы, проявляющаяся возрастанием уровней цитокинов как в сыворотке крови, так и тканях и увеличением числа иммунокомпетентных клеток в тканях пародонта. Полученные данные представляются перспективными для разработки новых иммунотерапевтических технологий лечения хронического пародонтита.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование не имело финансовой поддержки.

Вклад авторов:

Фефелов А.А. – 30% (разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация полученных данных, анализ литературы по теме исследования, написание текста статьи).

Баясхаланова Ц.Б. – 20% (проведение гистологического и иммуногистохимического исследования, анализ и интерпретация полученных данных).

Терешков П.П. – 20% (сбор данных, анализ и интерпретация полученных данных, техническое редактирование).

Фефелова Е.В. – 15% (проведение статистического анализа, анализ и интерпретация полученных данных, доработка текста статьи).

Цыбиков Н.Н. – 15% (техническое редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Список литературы:

1. Richards D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world population. Evid Based Dent. 2014. 15(3). 70-1. doi: 10.1038/sj.ebd.6401037.
2. Tabassum A., Madi M., Alabdulaziz A., Al Nasrallah Y., Alabdulaziz M., Ahmad Siddique I., Kazmi F. Prevalence of periodontitis based on retrospective radiographic evaluation at dental hospital in Eastern Province of Saudi Arabia: A retrospective study. Saudi Dent J. 2022. 34(8). 788-794. doi: 10.1016/j.sdentj.2022.11.006.
3. Al-Nasser L., Lamster I.B. Prevention and management of periodontal diseases and dental caries in the older adults. Periodontol 2000. 2020. 84(1). 69-83. doi: 10.1111/prd.12338.
4. Colombo A.P., Bennet S., Cotton S.L., Goodson J.M., Kent R., Haffajee A.D., Socransky S.S., Hasturk H., Van Dyke T.E., Dewhirst F.E., Paster B.J. Impact of periodontal therapy on the subgingival microbiota of severe periodontitis: comparison between good responders and

- individuals with refractory periodontitis using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol.* 2012. 83(10). 1279-87. doi: 10.1902/jop.2012.110566.
5. Dahlen G., Basic A., Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J Clin Med.* 2019. 8(9). 1339. doi: 10.3390/jcm8091339.
 6. Bertolini M., Costa R.C., Barão V.A.R., Cunha Villar C., Retamal-Valdes B., Feres M., Silva Souza J.G. Oral Microorganisms and Biofilms: New Insights to Defeat the Main Etiologic Factor of Oral Diseases. *Microorganisms.* 2022. 10(12). 2413. doi: 10.3390/microorganisms10122413.
 7. Pan W., Wang Q., Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci.* 2019. 11(3). 30. doi: 10.1038/s41368-019-0064-z.
 8. Clark D., Radaic A., Kapila Y. Cellular Mechanisms of Inflammation and Periodontal Disease. *Front Dent Med.* 2022. 3. 844865. doi: 10.3389/fdmed.2022.844865.
 9. Khoury W., Glogauer J., Tenenbaum H.C., Glogauer M. Oral inflammatory load: Neutrophils as oral health biomarkers. *J Periodontal Res.* 2020. 55(5). 594-601. doi: 10.1111/jre.12758.
 10. Shamsavari M., Azizi Mazreah S., Arbabi Kalati P. Expression of mast cell in aggressive periodontitis. *Minerva Stomatologica.* 2020. 69(3). 127-132. DOI: 10.23736/s0026-4970.20.04269-7.
 11. Yin L., Li X., Hou J. Macrophages in periodontitis: A dynamic shift between tissue destruction and repair. *Jpn Dent Sci Rev.* 2022. 58. 336-347. doi: 10.1016/j.jdsr.2022.10.002.
 12. Han Y.K., Jin Y., Miao Y.B., Shi T., Lin X.P. CD8+ Foxp3+ T Cells Affect Alveolar Bone Homeostasis via Modulating Tregs/Th17 During Induced Periodontitis: an Adoptive Transfer Experiment. *Inflammation.* 2018. 41(5). 1791-1803. doi: 10.1007/s10753-018-0822-7.
 13. Bártová J., Krátká-Opatrná Z., Procházková J., Krejsa O., Dusková J., Mrklas L., Tlaskalová H., Cukrowská B. Th1 and Th2 cytokine profile in patients with early onset periodontitis and their healthy siblings. *Mediators Inflamm.* 2000. 9(2). 115-20. doi: 10.1080/096293500411587.
 14. Song L., Tan J., Wang Z., Ding P., Tang Q., Xia M., Wei Y., Chen L. Interleukin-17A facilitates osteoclast differentiation and bone resorption via activation of autophagy in mouse bone marrow macrophages. *Mol Med Rep.* 2019. 19(6). 4743-4752. doi: 10.3892/mmr.2019.10155.
 15. Cavalla F., Hernández M. Polarization Profiles of T Lymphocytes and Macrophages Responses in Periodontitis. *Adv Exp Med Biol.* 2022. 1373. 195-208. doi: 10.1007/978-3-030-96881-6_10.
 16. Кривошеева Е.М., Фефелова Е.В., Сепп А.В., Бородулина И.И., Бородулина Н.В. Эффективность адаптогенов при экспериментальном пародонтите на фоне гипергомоцистеинемии. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2010. 3(73). С. 221-225.
 17. Bancroft J.D.; Gamble M. *Theory and Practice of Histological Techniques*; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2008; Immunohistochemical techniques; pp. 433–472.
 18. Пинелис И.С., Пинелис Ю.И., Малежик М.С., Ушницкий И.Д. Показатели врожденного и адаптивного иммунитета при хроническом генерализованном пародонтите у больных пожилого и старческого возраста. *Якутский медицинский журнал.* 2020. 1 (69). 63-67. doi: 10.25789/YMJ.2020.69.15
 19. Chen M.L., Sundrud M.S. Cytokine Networks and T-Cell Subsets in Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2016. 22(5). 1157-67. doi: 10.1097/MIB.0000000000000714.
 20. Jagannathan M., Hasturk H., Liang Y., Shin H., Hetzel J.T., Kantarci A., Rubin D., McDonnell M.E., Van Dyke T.E., Ganley-Leal L.M., Nikolajczyk B.S. TLR cross-talk specifically regulates cytokine production by B cells from chronic inflammatory disease patients. *J Immunol.* 2009. 183(11). 7461-70. doi: 10.4049/jimmunol.0901517.

References:

1. Richards D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world population. *Evid Based Dent.* 2014. 15(3). 70-1. doi: 10.1038/sj.ebd.6401037.
2. Tabassum A., Madi M., Alabdulaziz A., Al Nasrallah Y., Alabdulaziz M., Ahmad Siddique I., Kazmi F. Prevalence of periodontitis based on retrospective radiographic evaluation at dental

- hospital in Eastern Province of Saudi Arabia: A retrospective study. *Saudi Dent J.* 2022. 34(8). 788-794. doi: 10.1016/j.sdentj.2022.11.006.
3. Al-Nasser L., Lamster I.B. Prevention and management of periodontal diseases and dental caries in the older adults. *Periodontol 2000.* 2020. 84(1). 69-83. doi: 10.1111/prd.12338.
 4. Colombo A.P., Bennet S., Cotton S.L., Goodson J.M., Kent R., Haffajee A.D., Socransky S.S., Hasturk H., Van Dyke T.E., Dewhirst F.E., Paster B.J. Impact of periodontal therapy on the subgingival microbiota of severe periodontitis: comparison between good responders and individuals with refractory periodontitis using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol.* 2012. 83(10). 1279-87. doi: 10.1902/jop.2012.110566.
 5. Dahlen G., Basic A., Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J Clin Med.* 2019. 8(9). 1339. doi: 10.3390/jcm8091339.
 6. Bertolini M., Costa R.C., Barão V.A.R., Cunha Villar C., Retamal-Valdes B., Feres M., Silva Souza J.G. Oral Microorganisms and Biofilms: New Insights to Defeat the Main Etiologic Factor of Oral Diseases. *Microorganisms.* 2022. 10(12). 2413. doi: 10.3390/microorganisms10122413.
 7. Pan W., Wang Q., Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci.* 2019. 11(3). 30. doi: 10.1038/s41368-019-0064-z.
 8. Clark D., Radaic A., Kapila Y. Cellular Mechanisms of Inflammation and Periodontal Disease. *Front Dent Med.* 2022. 3. 844865. doi: 10.3389/fdmed.2022.844865.
 9. Khoury W., Glogauer J., Tenenbaum H.C., Glogauer M. Oral inflammatory load: Neutrophils as oral health biomarkers. *J Periodontal Res.* 2020. 55(5). 594-601. doi: 10.1111/jre.12758.
 10. Shamsavari M., Azizi Mazreah S., Arbabi Kalati P. Expression of mast cell in aggressive periodontitis. *Minerva Stomatologica.* 2020. 69(3). 127-132. DOI: 10.23736/s0026-4970.20.04269-7.
 11. Yin L., Li X., Hou J. Macrophages in periodontitis: A dynamic shift between tissue destruction and repair. *Jpn Dent Sci Rev.* 2022. 58. 336-347. doi: 10.1016/j.jdsr.2022.10.002.
 12. Han Y.K., Jin Y., Miao Y.B., Shi T., Lin X.P. CD8+ Foxp3+ T Cells Affect Alveolar Bone Homeostasis via Modulating Tregs/Th17 During Induced Periodontitis: an Adoptive Transfer Experiment. *Inflammation.* 2018. 41(5). 1791-1803. doi: 10.1007/s10753-018-0822-7.
 13. Bártová J., Krátká-Opatrná Z., Procházková J., Krejsa O., Dusková J., Mrklas L., Tlaskalová H., Cukrowská B. Th1 and Th2 cytokine profile in patients with early onset periodontitis and their healthy siblings. *Mediators Inflamm.* 2000. 9(2). 115-20. doi: 10.1080/096293500411587.
 14. Song L., Tan J., Wang Z., Ding P., Tang Q., Xia M., Wei Y., Chen L. Interleukin-17A facilitates osteoclast differentiation and bone resorption via activation of autophagy in mouse bone marrow macrophages. *Mol Med Rep.* 2019. 19(6). 4743-4752. doi: 10.3892/mmr.2019.10155.
 15. Cavalla F., Hernández M. Polarization Profiles of T Lymphocytes and Macrophages Responses in Periodontitis. *Adv Exp Med Biol.* 2022. 1373. 195-208. doi: 10.1007/978-3-030-96881-6_10.
 16. Krivosheeva E.M., Fefelova E.V., Borodulina I.I., Sepp A.V., Borodulina N.V. Adaptogens' efficiency in experimental periodontitis with hyperhomocysteinemia. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of medical sciences.* 2010. 3(73). 221-225. in Russian.
 17. Bancroft J.D.; Gamble M. *Theory and Practice of Histological Techniques*; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2008; Immunohistochemical techniques; pp. 433–472.
 18. Pinelis I.S., Pinelis Yu.I., Malezhik M.S., Usnitsky I.D. Indicators of innate and adaptive immunity in chronic generalized periodontitis in elderly and senile patients. *Yakut Medical Journal.* 2020. 1 (69). 63-67. doi: 10.25789/YMJ.2020.69.15. in Russian.
 19. Chen M.L., Sundrud M.S. Cytokine Networks and T-Cell Subsets in Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2016. 22(5). 1157-67. doi: 10.1097/MIB.0000000000000714.
 20. Jagannathan M., Hasturk H., Liang Y., Shin H., Hetzel J.T., Kantarci A., Rubin D., McDonnell M.E., Van Dyke T.E., Ganley-Leal L.M., Nikolajczyk B.S. TLR cross-talk specifically regulates cytokine production by B cells from chronic inflammatory disease patients. *J Immunol.* 2009. 183(11). 7461-70. doi: 10.4049/jimmunol.0901517.