

ИНДУЦИРОВАНИЕ РЕГЕНЕРАТОРНО-ОСТЕОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК PDLSC *IN VITRO*

Суховой Ю.Г.^{1,3}, Костоломова Е.Г.^{1,2}, Унгер И.Г.¹, Акунеева Т.В.¹

¹ ООО «Тюменский филиал института фундаментальной и клинической иммунологии», г. Тюмень, Россия

² ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

³ ФГБУН ФИЦ «Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Тюмень, Россия

Резюме. Восстановление поврежденных тканей при заболеваниях пародонта – проблема не только медицинская, но и социальная. Заболевания пародонта зачастую влекут за собой потерю большого количества зубов (более чем при любом другом заболевании зубочелюстной системы), как следствие – нарушение акта жевания и речи, негативное влияние на общее состояние организма и в итоге снижение качества жизни человека. Цель исследования: изучить регенераторную активность лиофилизированного экстракта куриного эмбриона различной концентрации в составе гиалуроновой кислоты в отношении культуры клеток PDLSC в эксперименте *in vitro*. Группы сравнения: раствор 1%-ной немодифицированной гиалуроновой кислоты, содержащий лиофилизированный экстракт куриного эмбриона в трех концентрациях: 300 мкг/мл, 150 мкг/мл, 75 мкг/мл. В качестве контроля – раствор 1%-ной немодифицированной гиалуроновой кислоты. Гиалуроновая кислота – это натуральное вещество, которое является важным компонентом внеклеточного матрикса как минерализованной и не минерализованной ткани. Ее использование привлекает внимание специалистов в качестве объекта, способного приобретать новые свойства при ее различной модификации. В наших лабораторных исследованиях использовались стволовые клетки культуры пародонта человека. Стволовые клетки периодонтита (периодонтальной связки PDLSC) были обнаружены в 2004 году. Посредством импедиметрии были исследованы адгезия клеток и проникновение в ткани. Анализ по оценке жизнеспособности клеток проводился с использованием раствора, содержащего водорастворимую соль тетразолия. Дифференцирование остеогенного направления без индукции измеряли через три недели после разведения стволовых клеток в традиционной культуральной среде. Окрашивание проводили по методу Косса. Для оценки минерализации клетки окрашивали ализарином красным с последующей оценкой отложения в них кальция. Установлено, что полученная в процессе эксперимента клеточная популяция PDLSC была гетерогенна и проявляла здоровую морфологию фибробластов во всех трех исследуемых группах. Лيوфилизированный экстракт куриного эмбриона в составе препарата на основе гиалуроновой кислоты не оказывает существенного влияния на выживаемость и пролиферацию клеток PDLSC, однако в высоких концентрациях (150 мкг/мл и 300 мкг/мл) индуцирует остеогенную активность клеток, повышает минерализацию, не вызывая отложение кальция, что свидетельствует

Адрес для переписки:

Костоломова Елена Геннадьевна
ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
625027, Россия, г. Тюмень, ул. Котовского, 5/2.
Тел.: 8 (904) 493-06-74.
E-mail: lenakost@mail.ru

Address for correspondence:

Kostolomova Elena G.
Tyumen State Medical University
625027, Russian Federation, Tyumen, Kotovsky str., 5/2.
Phone: 7 (904) 493-06-74.
E-mail: lenakost@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.Г. Суховой, Е.Г. Костоломова, И.Г. Унгер, Т.В. Акунеева «Индукция регенераторно-остеогенной активности клеток PDLSC *in vitro*» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 229-236. doi: 10.46235/1028-7221-1017-IVI
© Суховой Ю.Г. и соавт., 2021

For citation:

Yu.G. Sukhovey, E.G. Kostolomova, I.G. Unger, T.V. Akuneeva "In vitro induction of regenerative and osteogenic activity of PDLSC cells", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 229-236. doi: 10.46235/1028-7221-1017-IVI
DOI: 10.46235/1028-7221-1017-IVI

о регенераторной активности. Остеогенная трансдифференцировка — это привлекательный способ создания клеток остеогенного клеточного происхождения. Результаты нашего исследования показывают, что они могут быть использованы при моделировании заболеваний костей.

Ключевые слова: клеточные культуры, заболевания пародонта, гиалуроновая кислота, воспаление, регенерация

IN VITRO INDUCTION OF REGENERATIVE AND OSTEOGENIC ACTIVITY OF PDLSC CELLS

Sukhovey Yu.G.^{a, c}, Kostolomova E.G.^{a, b}, Unger I.G.^a, Akuneeva T.V.^a

^a Tyumen Affiliation, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Tyumen, Russian Federation

^b Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

^c Tyumen Research Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russian Federation

Abstract. The restoration of damaged tissues in periodontal diseases is not only a medical problem, but also a social one. Periodontal diseases often entail the loss of a large number of teeth (more than with any other disease of the dentition), as a result, a violation of the act of chewing and speech, a negative effect on the general condition of the body and, as a result, a decrease in the quality of human life. Purpose of the study: to study the regenerative activity of a lyophilized extract of a chicken embryo of various concentrations in the composition of hyaluronic acid in relation to the culture of PDLSC cells in an in vitro experiment. Comparison groups: A solution of 1% unmodified hyaluronic acid containing lyophilized chicken embryo extract in three concentrations: 300 µg/ml, 150 µg/ml, 75 µg/ml. As a control, 1% solution of unmodified hyaluronic acid. Hyaluronic acid is a natural substance that is an important component of the extracellular matrix as a mineralized and non-mineralized tissue. Its use attracts the attention of specialists as an object capable of acquiring new properties with its various modifications. In our laboratory studies, stem cells from a culture of human periodontal disease were used. Periodontitis stem cells (PDLSC periodontal ligament) were discovered in 2004. Cell adhesion and tissue penetration were investigated by impedimetry. Analysis to assess cell viability was carried out using a solution containing a water-soluble tetrazolium salt. Differentiation of osteogenic direction without induction was measured three weeks after dilution of stem cells in traditional culture medium. Staining was carried out according to the Koss method. To assess mineralization, cells were stained with alizarin red, followed by assessment of calcium deposition in them. It was found that the resulting PDLSC cell population during the experiment was heterogeneous and showed healthy fibroblast morphology in all three study groups. Lyophilized extract of chicken embryo as part of a preparation based on hyaluronic acid does not significantly affect the survival and proliferation of PDLSC cells, however, at high concentrations (150 µg/ml and 300 µg/ml) it induces osteogenic activity of cells, increases mineralization without causing calcium deposition, which indicates regenerative activity. Osteogenic transdifferentiation is an attractive way to create cells of osteogenic cellular origin. The results of our study show that they can be used to model bone diseases.

Keywords: cell cultures, periodontal disease, hyaluronic acid, inflammation, regeneration

Введение

Заболевания пародонта — проблема не только медицинская, но и социальная. В последние годы отмечается значительное увеличение распространенности хронических воспалительных заболеваний пародонта как в развитых, так и в развивающихся странах (затрагивают около 20-

50% населения мира). Высокая распространенность заболеваний пародонта не только среди пожилых людей, но и среди более молодых и даже подростков, делает их проблемой общественного здравоохранения. Хронические воспалительные заболевания пародонта, и его запущенная форма характеризуется прогрессирующей деструкцией

тканей, потерей пародонтальной связки и разрушением окружающей альвеолярной кости [5, 9]. Это основная причина потери зубов и считается одной из самых серьезных угроз здоровью полости рта [4]. Согласно современным представлениям, в основе большинства заболеваний пародонта лежит воспаление – в начале процесса – острое в виде кратковременной реакции, а по мере включения в патогенез иммунных реакций и генерализации этого процесса – переход в хроническую фазу. Постоянное хроническое воспаление зачастую приводит к костной деструкции [2]. Восстановление костных дефектов, снижение интенсивности воспаления, сокращение сроков лечения – самые важные терапевтические цели в стоматологии. Существуют различные способы лечения и «восстановительные» методики, но бывают случаи, когда эффективная терапия не помогает. Основной причиной неэффективности проводимой терапии является низкая способность пораженных тканей к регенерации. Повысив регенераторно-пролиферативную активность тканей, можно улучшить репарацию поврежденных тканей, в том числе и костной. Известно, что выраженным регенерирующим действием обладает клеточная масса эмбрионов птиц [1]. На основе этого изобретения получен лиофилизированный экстракт куриного эмбриона, эффективность которого изучали в эксперименте *in vitro*. Поскольку гиалуроновая кислота – это натуральное вещество, которое является важным компонентом внеклеточного матрикса как минерализованной, так и не минерализованной ткани, она обладает положительным эффектом (помогает снизить разрушение ткани) в регенеративной медицине [3], в эксперименте *in vitro* лиофилизированный экстракт куриного эмбриона растворяли в немодифицированной гиалуроновой кислоте.

Цель исследования – изучить регенераторную активность лиофилизированного экстракта куриного эмбриона различной концентрации в составе гиалуроновой кислоты в отношении культуры клеток PDLSC в эксперименте *in vitro*.

Материалы и методы

Дизайн эксперимента

1. Контрольная группа. Раствор 1%-ной немодифицированной гиалуроновой кислоты.
2. Вторая группа. Раствор 1%-ной немодифицированной гиалуроновой кислоты, содержа-

щий 300 мкг/мл лиофилизированного экстракта куриного эмбриона.

3. Третья группа. Раствор 1%-ной немодифицированной гиалуроновой кислоты, содержащий 150 мкг/мл лиофилизированного экстракта куриного эмбриона.

4. Четвертая группа. Раствор 1%-ной немодифицированной гиалуроновой кислоты, содержащий 75 мкг/мл лиофилизированного экстракта куриного эмбриона.

В наших лабораторных исследованиях использовали стволовые клетки культуры пародонта человека. Стволовые клетки периодонтита (периодонтальной связки PDLSC) были обнаружены в 2004 году [10]. С 2007 года сотрудники кафедры оральной биологии Университета Земмельвейса регулярно выделяют и разводят культуры, содержащие PDLSC-t [6], которые подходят для лабораторных исследований и тестирования биосовместимости новых материалов в пародонтологии [8]. В качестве основной среды, использованной для исследований *in vitro* и контроля, разведения и питания PDLSC клеток, также применялись: минимальная эссенциальная среда Игла (α -MEM) (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния) с добавлением 100 мкМ/мл L-аскорбиновой кислоты 2-фосфата, 2 мкМ/мл глутамина, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 15% фетальной телячьей сыворотки (ЭТС) (Invitrogen, Карлсбад, Калифорнии). В исследованиях *in vitro* композицию стволовых клеток и суспензию смешивали в соотношении 1:1, после появления новых стволовых клеток добавляли эссенциальную среду в каждую лунку.

Изоляция клеток

Методология изоляции и культивирование клеток выполнялась по предложенной методике [6]. Клетки были отфильтрованы с использованием фильтра 5 мкм и высажены в пластиковую чашу для культивирования. Клетки инкубировали при 37 °С в стерильных условиях, при 100% влажности, в воздухе, обогащенном CO₂ 5% концентрации с использованием CO₂-инкубатора (Sanyo, Япония). В полной питательной среде Игла (α -MEM). Пассировали культуру клеток 2 раза в неделю в соотношении 1:4. Клетки субкультивировали с помощью 0,25%-ного трипсина и 0,2%-ного раствора ЭТДА (37 °С, 10'), затем добавляли к клеткам в культуральной среде.

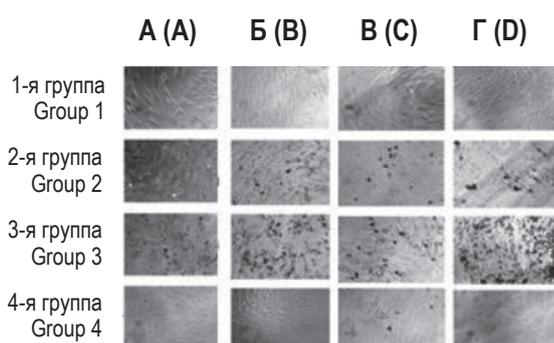


Рисунок 1. Эффект препаратов гиалуроновой кислоты на морфологию культуры клеток PDLSC в первые 7 дней эксперимента

Примечание. Фазово-контрастные микроскопические изображения были сделаны по дням: в первый (А), второй (В), третий (С) и седьмой (D) день после пересадки. Десятикратное увеличение в каждой группе клетки показали здоровую морфологию фибробластов, слияние увеличило плотность клеток. В группах 2 и 3 появился черный осадок, который в действительности является мертвыми клетками, глубоко внутри матрицы гиалуроновой кислоты. Такой осадок не виден в группах препаратов 2 и 4.

Figure 1. Effect of hyaluronic acid products on PDLSC culture morphology on 7 first days of experiment

Note. Phase contrast microscopic images were taken by day: the first (A), second (B), third (C) and seventh (D) days after transplant. Tenfold increase in each group, cells showed healthy fibroblast morphology, fusion increased cell density. In groups 2 and 3, a black sediment appeared, which is actually dead cells, deep within the hyaluronic acid matrix. This precipitate is not seen in drug groups 2 and 4.

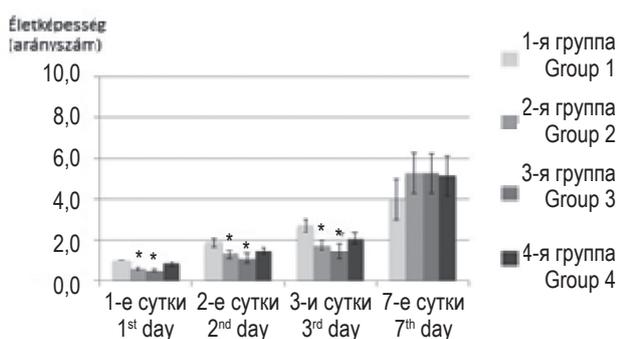


Рисунок 2. Эффект препаратов гиалуроновой кислоты на жизнеспособность клеток PDLSC

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной в тот же день, использовался критерий Даннета, среднее \pm SD (стандартное отклонение). Значение поглощения измеряется с помощью WST-1 реагента пролиферации клеток, пропорционально числу жизнеспособных клеток. Группы 1-2-3 дней, $n = 9$, седьмой день $n = 4$.

Figure 2. Effect of hyaluronic acid preparations on cell viability
Note. *, $p < 0.05$ compared with the control on the same day, Dunnett's test was used, mean \pm SD (standard deviation). The absorbance value is measured using the WST-1 cell proliferation reagent, proportional to the number of viable cells. Groups 1-2-3 days, $n = 9$, 7th day $n = 4$.

Анализ по оценке жизнеспособности клеток проводился с использованием раствора, содержащего водорастворимую соль тетразолия WST (Roche, Венгрия). Анализ проводили этапами через 24, 48 и 72 часов и через 7 дней после культивирования. Метод измерения основан на митохондриальной активности дегидрогеназы. Для измерения использовали 96-луночный планшет. Для 3-дневного анализа использовалось 10^4 клеток/лунке, для 7-дневного анализа применяли количество 5×10^3 клеток/лунке. Через 2 часа после добавления инкубационного раствора WST-1, возможность поглощения образцов измеряли при 450 нм с 655 нм относительной длины волны.

Дифференцирование остеогенного направления без индукции измеряли через 3 недели после разведения стволовых клеток в полной культуральной среде. Клетки поддерживались без пересева 7 дней, 14 дней и 21 день, в то время как замена сред проводилась 2 раза в неделю [7]. Во время окрашивания Косса, клетки обрабатывали раствором нитрата серебра, в результате чего нерастворимые соединения кальция преобразовались в нитрат серебра и хлорид кальция. В результате полученный нитрат серебра под воздействием света вступил в реакцию и окрасился в темно-коричневый цвет. Мы использовали слайд-камеру с 8 лунками, количество клеток 2×10^4 клеток/лунке. Расшифровка результатов при помощи программы ImageJ. Программа анализирует фотографии, сделанные также для количественного анализа средней плотности каждого экспериментального образца.

Красное окрашивание Ализарином применялось для исследования наличия остеогенных узелков на 14-й и 21-й день после пересадки. Красный краситель ализарин (ализарин-сульфонат натрия, $C_{14}H_7O_7SNa$) является кислотным окрашивающим индикатором, в результате действия которого соединения кальция окрасились в оранжевый цвет. Во время исследования использовалась слайд-камера с 12 лунками, количество клеток 2×10^4 . Краткосрочный анализ остеогенной активности щелочной фосфатазы путем измерения, основанного на колориметрическом методе обнаружения фермента. Желтый раствор ALP (Sigma Aldrich), раствор п-нитрофенил фосфата, содержащий субстрат для щелочной фосфатазы, который дает желтое окрашивание при активной ферментной активности. Для анализа

использовали слайд-камеру с 96 лунками, с количеством 10^4 клеток/лунку. Измерения были сделаны при помощи ALP-реагента на 1-й, 2-й и 4-й день после пересадки. Образцы были инкубированы в желтом растворе ALP в течение 20 минут, и поглощение образцов измеряли при 450 нм.

Результаты

В исследованиях *in vitro* композицию стволовых клеток и исследуемый гель смешивали в соотношении 1:1. Изолированные клетки PDLSC через несколько часов делятся в стандартных условиях культивирования. Первичную клеточную суспензию расщепляли трипсином и пересаживали

клетки культуры в круглодонные планшеты. Тем не менее в результате пассажа и адгезии образовались фибробласты удлинённой формы. После формирования слившегося монослоя между клетками происходило контактное торможение, деление замедлялось. Изолированные клетки в культуре остаются стабильными. После 20 пассажей клетки сохраняют жизнеспособность. Культура клеток после формирования однородного монослоя в культуральных планшетах не проявляет морфологическую неоднородность. Морфологию клеток оценивали с использованием инвертированного микроскопа СКХ-41 (Olympus, Япония). На фотографии (рис. 1) можно увидеть,

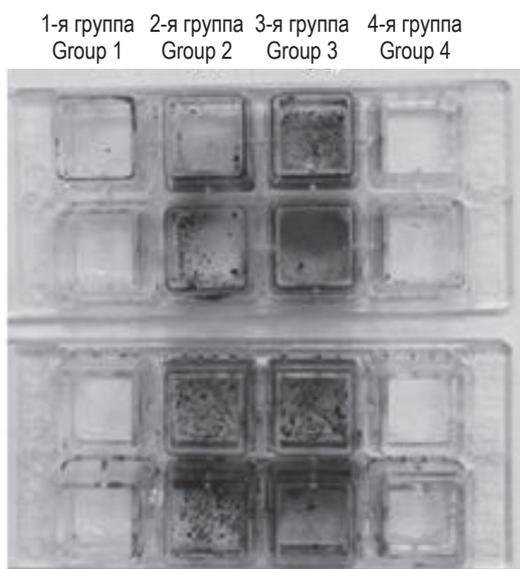


Рисунок 3. Анализ препаратов гиалуроновой кислоты на оказание эффекта стимуляции спонтанной остеогенной дифференцировки

Примечание. Окрашивание Косса. Анализ проводили через 21 день после пересадки. Очаги минерализации выражены в группах 2 и 3 в то же время, в контрольной группе и группе 4 подобного осадка не наблюдается. На рис. показана фотография культурального планшета. Было проведено 4 параллельных исследования с использованием четырех различных культур клеток DLSC, полученных из биологического образца.

Figure 3. Assessment of hyaluronic acid products stimulating spontaneous osteogenous differentiation

Note. Cossa staining. The analysis was performed 21 days after transplantation. Foci of mineralization are expressed in groups 2 and 3, at the same time, in the control group and group 4, such a sediment is not observed. In figure a photograph of the culture plate is shown. 4 parallel studies were carried out using four different cultures of DLSC cells obtained from a biological sample.

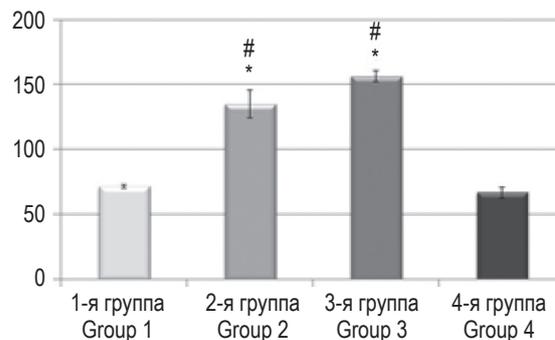


Рисунок 4. Анализ препаратов гиалуроновой кислоты на оказание эффекта стимуляции спонтанной остеогенной дифференцировки

Примечание. * – результаты, при которых коэффициент $p < 0,05$ значительно отличается от конт. группы в тот же день; # – результаты, при которых коэффициент $p < 0,05$ значительно отличается от 4 группы в тот же день. На основании денситометрии Косса. Образцы были проанализированы методом денситометрии. Потемнение на фото прямо пропорционально степени минерализации. Минерализация в группах 2 и 3 значительно выше по сравнению с группой 1 и 4. * $p < 0,05$ против 1; # $p < 0,05$ против 4; $n = 4$. Среднее \pm SD.

Figure 4. Assessment of hyaluronic acid products stimulating spontaneous osteogenous differentiation

Note. *, results in which the coefficient $p < 0.05$ significantly differs from the cont. groups on the same day; #, results in which $p < 0.05$ significantly differs from group 4 on the same day. Based on Koss densitometry. The samples were analyzed by densitometry. The darkening in the photo is directly proportional to the degree of mineralization. Mineralization in groups 2 and 3 is significantly higher than in group 1 and 4. * $p < 0.05$ vs 1; # $p < 0.05$ vs 4; $n = 4$. Mean \pm SD.

что клетки проявляют здоровую морфологию фибробластов во всех трех группах. В группах 2 и 3 в первый день появился черный осадок, который представлял собой мертвые клетки, проникшие глубоко в матрицу гиалуроновой кислоты. На седьмой день осадок отчетливо виден в обеих группах, в то же время в контрольной группе и группе 4 осадок не обнаружен. Основная причина возможно заключается в концентрации продуктов. Препарат выводит умирающие клетки, удалив их из культурального раствора, поэтому они не видны. В образцах 2 и 3 тем не менее мертвые клетки остаются в геле, их можно будет обнаружить в течение нескольких дней. Тем не менее эти результаты сами по себе не означают различия в начальном процессе отмирания клеток.

При определении числа жизнеспособных клеток (рис. 2) посредством WST в однодневный период мы применили один коэффициент, и это значение применялось пропорционально ко всем испытуемым группам. Результаты показывают, что количество жизнеспособных клеток в контрольной группе и в экспериментальных группах постоянно увеличивается. В группе 2 и 3 на первый день уменьшилось количество жизнеспособных клеток. Однако постепенно к седьмому дню исследования клетки в этих группах догнали по количеству контрольную группу. Это говорит о том, что воздействие различных концентраций лиофилизированного экстракта куриного эмбриона не оказывает существенного влияния на выживаемость и пролиферацию клеток PDLSC.

В проведенном исследовании изучали эффект продуктов, содержащих гиалуроновую кислоту на остеогенную дифференциацию клеток PDLSC с применением стандартной инкубационной среды. Окрашивание Косса. В группах 1 и 4 через 7, 14 и 21 день не было никаких признаков, свидетельствующих о спонтанной минерализации. Через 21 день в группах 2 и 3 цвет изменился на коричневый (рис. 3), что указывает на остеогенную дифференцировку отложений, связанных с наличием кальция. Наличие минерализованных узелков видно на изображении, полученном на фазово-контрастном микроскопе. Это изображение указывает, что эти две концентрации (150 мкг/мл и 300 мкг/мл) способны вызывать спонтанную остеогенную активность в клетках.

В программе обработки изображений ImageJ была изучена плотность каждого из видов осадка в экспериментальных образцах. Эти осадки,

по существу, — среднее потемнение, вызванное осадком на единицу площади. Как видно из результатов, полученных в группах, значительное повышение минерализации наблюдается в группах 2 и 3 по отношению к контрольной группе и отличается от группы 4 (рис. 4). Однако никакой разницы не было обнаружено между контрольной группой и группой 4 через 21 день воздействия.

Красное окрашивание Ализарином (рис. 5, см. 3-ю стр. обложки). Для подтверждения наших наблюдений мы провели еще одно исследование. При красном окрашивании ализарином (так же как и в предыдущем окрашивании Косса) ни одна из групп не показала видимых признаков минерализации через 14 дней после испытания. Затем, через 21 день, на фотографиях отчетливо видно, что группа 3 показала яркую красную окраску, более бледное покраснение наблюдалось в группе 2. Группа 3 обладает более сильными, а группа 2 — более слабыми остеогенными свойствами в инкубационной среде. Их применение само по себе не вызывает отложения кальция.

Измерение активности щелочной Фосфатазы (ЩФ/ALP). Активность щелочной фосфатазы является необходимым, хотя и не достаточным условием для процесса минерализации. Тенденция увеличения активности ЩФ проявлялась в течение первых четырех дней после высадки, однако существенную разницу между экспериментальными группами нельзя обнаружить. Наши результаты показывают, что изменение активности ALP не является определяющим в процессе минерализации.

Выводы

Исследования показали, что все три препарата гиалуроновой кислоты — в концентрациях 75 мкг/мл, 150 мкг/мл и 300 мкг/мл, являются биосовместимыми. По своему влиянию на клетки PDLSC высокие концентрации лиофилизированного экстракта клеток куриного эмбриона индуцируют спонтанную дифференцировку клеток в остеогенном направлении, что подтверждает наличие регенераторной активности. Остеогенная трансдифференцировка — привлекательный способ создания клеток остеогенного клеточного происхождения. Имеющиеся примеры показывают, что они могут быть многообещающими при моделировании заболеваний костей.

Список литературы / References

1. Суховой Ю.Г., Кайгородов Д.Г., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Средство для регенерации тканей. Патент на изобретение RU 2707186 С1, 25.11.2019. Заявка № 2018131510 от 31.08.2018. [Sukhovoy Yu.G. (RU), Kaygorodov D.G. (RU), Unger I. G. (RU), Kostolomova E.G. Agent for tissue regeneration. Invention patent RU 2707186 С1, 25.11.2019. Application No. 2018131510 dated 31.08.2018].
2. Цепов Л.М., Николаев А.И., Нестерова М.М., Цепова Е.Л., Цепов А.Л. Множественные хронические системные заболевания и патология пародонта // Пародонтология, 2019. Т. 24, № 2. С. 127-131. [Tsepon L.M., Nikolaev A.I., Nesterova M.M., Tsepona E.L., Tsepon A.L. Multiple chronic system diseases and periodontal pathology. *Parodontologiya = Periodontics*, 2019, Vol. 24, no. 2, pp. 127-131. (In Russ.)]
3. Bansal J., Kedige S.D., Anand S. Hyaluronic acid: a promising mediator for periodontal regeneration. *Indian J. Dent. Res.*, 2010, Vol. 21, no. 4, pp. 575-578.
4. Benjamin R.M. Oral health: the silent epidemic. *Public Health Rep.*, 2010, Vol. 125, pp. 158-159.
5. Dahlen G., Fejerskov O., Manji F. Current concepts and an alternative perspective on periodontal disease. *BMC Oral Health*, 2020, Vol. 20, no. 1, 235. doi: 10.1186/s12903-020-01221-4.
6. Kadar K., Kiraly M., Porcsalmy B., Molnar B., Racz G. Z., Blazsek J., Kallo K., Szabo E.L., Gera I., Gerber G., Varga G. Differentiation potential of stem cells from human dental origin – promise for tissue engineering. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2009, Vol. 60 (Suppl. 7), pp. 167-175.
7. Lu Z., Chen Y., Dunstan C., Roohani-Esfahani S., Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue. Eng Part A*, 2017, Vol. 23, pp. 1212-1220.
8. Mathur S., Chopra R., Pandit I.K., Srivastava N., Gugnani N. Stem cell research: applicability in dentistry. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 2014, Vol. 29, no. 2, pp. e210-e219.
9. Pablo P., Chapple I.L., Buckley C.D., Dietrich T. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2009, Vol. 5, pp. 218-224.
10. Seo B.M., Miura M., Gronthos S., Bartold P.M., Batouli S., Brahimi J., Young M., Robey P.G., Wang C.-Y., Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, 2004, Vol. 364, no. 9429, pp. 149-155.

Авторы:

Суховой Ю.Г. — д.м.н., профессор, ФГБУН ФИЦ «Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; директор ООО «Тюменский филиал института фундаментальной и клинической иммунологии», г. Тюмень, Россия

Authors:

Sukhovoy Yu.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Tyumen Research Centre, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Director, Tyumen Affiliation, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Tyumen, Russian Federation

Костоломова Е.Г. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; ведущий научный сотрудник ООО «Тюменский филиал института фундаментальной и клинической иммунологии», г. Тюмень, Россия

Kostolomova E.G., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University; Leading Research Associate, Tyumen Affiliation, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Tyumen, Russian Federation

Унгер И.Г. — к.м.н., ведущий научный сотрудник ООО «Тюменский филиал института фундаментальной и клинической иммунологии», г. Тюмень, Россия

Unger I.G., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Tyumen Affiliation, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Tyumen, Russian Federation

Акунева Т.В. — старший научный сотрудник ООО «Тюменский филиал института фундаментальной и клинической иммунологии», г. Тюмень, Россия

Akuneeva T.V., Senior Research Associate, Tyumen Affiliation, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Tyumen, Russian Federation

Поступила 21.05.2021
Принята к печати 17.06.2021

Received 21.05.2021
Accepted 17.06.2021