

DOI: 10.37988/1811-153X_2022_4_74

[М.С. Подпорин](#)¹,

к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ

[В.Н. Царев](#)¹,

д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, директор НИМСИ

[Е.В. Ипполитов](#)¹,

д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ

[Т.В. Царева](#)¹,

к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии

[В.В. Вишленкова](#)¹,

студентка IV курса лечебного факультета

[И.Л. Гольдман](#)²,

к.м.н., ведущий научный сотрудник

[Е.Р. Садчикова](#)²,

к.х.н., заместитель директора

¹ МГМСУ им. А.И. Евдокимова, 127473, Москва, Россия² Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, Россия

Экспериментальное обоснование разработки лекарственной формы лактоферрина с производными эмалевого матрикса для применения в пародонтологии

Реферат. При проведении реконструктивных операций в пародонтологии перспективно применение производного эмалевого матрикса Эмдогаина, который хорошо стимулирует регенерацию мягких тканей, однако он не всегда достаточно эффективен в отношении инфекционного воспаления. Среди возможных кандидатных препаратов, оказывающих противовоспалительный антимикробный эффект, рассматривается лактоферрин. Цель исследования — экспериментальное обоснование противомикробного действия лактоферрина в сочетании с производными эмалевого матрикса при формировании депо комплексного препарата. **Материалы и методы.** Для оценки антимикробной активности комплекса Эмдогаина и лактоферрина проводили программируемое автоматическое культивирование *S. aureus*. Результаты регистрировали неинвазивно, с использованием встроенной системы измерения показателя оптической плотности, в соответствии с ключевыми точками развития культуры в периодической системе культивирования. Статистическую обработку проводили путем построения регрессионной зависимости (парабола второго порядка), с оценкой критерия Фишера и коэффициентом корреляции Пирсона. Результаты и обсуждение. При культивировании *S. aureus* с Эмдогаином статистически достоверной разницы изменения оптической плотности относительно контрольного образца не наблюдалось, по сравнению с лактоферрином, и с его комбинацией с остеопластическим материалом, которые продемонстрировали выраженный антибактериальный эффект. Полученный результат был статистически достоверен. **Заключение.** Использование лактоферрина в комбинации с остеопластическим материалом Эмдогаином приводит к новому качеству комплекса — пролонгированному бактериостатическому действию в отношении исследованных микробных популяций и может быть рекомендовано для разработки лекарственной формы с регенерацией стимулирующими и антимикробными свойствами.

Ключевые слова: лактоферрин, биореактор, костная регенерация, пародонтит, эмалевая матрица, белок

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Подпорин М.С., Царев В.Н., Ипполитов Е.В., Царева Т.В., Вишленкова В.В., Гольдман И.Л., Садчикова Е.Р. Экспериментальное обоснование разработки лекарственной формы лактоферрина с производными эмалевого матрикса для применения в пародонтологии. — *Клиническая стоматология*. — 2022; 25 (4): 74—80. DOI: 10.37988/1811-153X_2022_4_74

[M.S. Podporin](#)¹,

PhD in Medical Sciences, researcher at the Molecular biology research Laboratory of the Medico-dental research Institute

[V.N. Tsarev](#)¹,

PhD in Medical Sciences, director of the Medico-dental research Institute

[E.V. Ippolitov](#)¹,

PhD in Medical Sciences, leading researcher at the Molecular biology research Laboratory of the Medico-dental research Institute

Experimental substantiation of the development of the dosage form of lactoferrin with enamel matrix derivatives for use in periodontology

Abstract. When performing reconstructive operations in periodontology, the use of a derivative of the enamel matrix Emdogaine, which stimulates the regeneration of soft tissues well, is promising, but it is not always effective enough against infectious inflammation. Lactoferrin is considered among the possible candidate drugs that have an anti-inflammatory antimicrobial effect. The aim of the study was to experimentally substantiate the antimicrobial action of lactoferrin in combination with enamel matrix derivatives in the formation of a depot of a complex drug. **Materials and methods.** To assess the antimicrobial activity of the Emdogaine and lactoferrin complex,

T.V. Tsareva¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Microbiology, virology, immunology Department

V.V. Vishlenkova¹,

4th year student at the Medical Faculty

I.L. Goldman²,

PhD in Medical Sciences, leading researcher

E.R. Sadchikova²,

PhD in Chemical Sciences, deputy director

¹ Moscow State University of Medicine and Dentistry, 127473, Moscow, Russia

² Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences, 119334, Moscow, Russia

programmed automatic cultivation of *S. aureus* was performed. The results were recorded non-invasively, using the built-in optical density measurement system, in accordance with the key points of culture development in the periodic cultivation system. Statistical processing was carried out by constructing a regression dependence (a second-order parabola), with an estimate of the Fisher criterion and the Pearson correlation coefficient. Results and discussion. When cultivating *S. aureus* with Emdogaine, there was no statistically significant difference in the change in optical density relative to the control sample, compared with both lactoferrin and its combination with osteoplastic material, which demonstrated a pronounced antibacterial effect. The result obtained was statistically reliable. **Conclusion.** The use of lactoferrin in combination with the osteoplastic material Emdogaine leads to a new quality of the complex — prolonged bacteriostatic action against the studied microbial populations and can be recommended for the development of a dosage form with regeneration stimulating and antimicrobial properties.

Key words: lactoferrin, bioreactor, bone regeneration, periodontitis, enamel matrix, protein

FOR CITATION:

Podporin M.S., Tsarev V.N., Ippolitov E.V., Tsareva T.V., Vishlenkova V.V., Goldman I.L., Sadchikova E.R. Experimental substantiation of the development of the dosage form of lactoferrin with enamel matrix derivatives for use in periodontology. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2022; 25 (4): 74—80 (In Russ.). DOI: 10.37988/1811-153X_2022_4_74

ВВЕДЕНИЕ

Учитывая, что нарушение десневого прикрепления и разрушение тканей пародонта рассматриваются в качестве ведущих патогенетических факторов прогрессирования патологического процесса при пародонтите, в качестве одного из подходов в стратегии лечения данной патологии следует рассматривать восстановление утраченных тканей пародонтального комплекса [1]. Для решения этой задачи предложены различные лечебные подходы, включая костную трансплантацию, применение заместительного матрикса на основе гидроксиапатита [1, 2], цитокиновой стимуляции регенерации тканей пародонта [3, 4], использования стволовых клеток, управляемую регенерацию тканей с использованием производного матрикса эмали [5]. На основании принципов доказательной медицины установлено, что все эти методы лечения позволяют достичь поставленной задачи [6].

В идеале пародонтальная реконструкция должна обеспечивать регенерацию альвеолярной кости, восстановление цемента и пародонтальной связки, а также способствовать адекватному уплотнению тканей пародонтального комплекса с учетом пространственного распределения клеток и сигнальных молекул, участвующих в этом конкретном процессе заживления [4, 7].

Пародонтальная регенерация, опосредованная использованием производного матрикса эмали, основана на имитации формирования поддерживающего аппарата зуба [8]. Эмалевый матрикс состоит из ряда белков, 90% из них составляют амелогенины. Считается, что такие белки индуцируют образование пародонтального прикрепления во время формирования зубов. Единственный коммерчески доступный продукт, использующий белки эмалевого матрикса, получил название Эмдогаин (Emdogain®) производства фирмы Straumann (Швейцария).

Эмдогаин хорошо стимулирует регенерацию мягких тканей, однако он не всегда достаточно эффективен в отношении инфекционного воспаления, вызываемого пародонтальной микробиотой. Микробная контаминация приводит к задержке процесса регенерации тканей и является первостепенным фактором в формировании инфекционных осложнений. Среди препаратов-кандидатов, оказывающих противовоспалительный антимикробный эффект, в настоящее время рассматривается лактоферрин [6—8].

Лактоферрин — биоразлагаемое, хорошо переносимое соединение, присущее многим живым организмам, которое в пародонтологии может использоваться как эффективное терапевтическое средство [9]. Данный белок оказывает противомикробное действие по отношению к широкому кругу микроорганизмов (бактерии, грибы, вирусы и паразиты) [10]. При этом в литературе описаны два основных механизма, с помощью которых лактоферрин способен проявлять свою антимикробную активность. Эти механизмы обусловлены как его способностью связывать железо, так и прямым антимикробным воздействием.

В то же время у лактоферрина отмечена многофункциональная иммуотропная активность [11, 12]. Совокупность этих свойств может способствовать достижению наилучшего клинического эффекта при лечении заболеваний пародонта на основе пародонтальной регенерации.

Цель исследования — экспериментальное обоснование противомикробного действия лактоферрина в сочетании с производными эмалевого матрикса при формировании депо комплексного препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На первом этапе проводили параллельное культивирование музейного штамма *Staphylococcus aureus*, как

чистой популяции (контроль), так и с добавлением исследуемых препаратов:

- лактоферрин, 0,6 г (итоговая концентрация 33 мг/мл);
- Эмдогаин, 0,6 мл;
- лактоферрин (0,6 г) с Эмдогаином (0,6 мл).

S. aureus размножали добавлением 1 мл (10^8 КОЕ) микробной взвеси музейного штамма в 20 мл питательного бульона. Использовали пробирки объемом 50 мл с мембранным фильтром для регулирования газообмена TubeSpin (Швейцария) и анаэробный бульон Уилкинса—Шалгрена (Himedia, Индия).

Автоматическое программируемое культивирование проводили в 8-канальном автоматическом биокультиваторе RTS-8 (Biosan, Латвия) при 37°C в течение 42 ч. Независимый анализ (в каждом образце отдельно) полученных результатов проводили с интервалом 1 ч в нескольких параллелях. Динамику развития культуры оценивали по изменению мутности среды, измеряя ее оптическую плотность при длине волны 850 нм с интерпретацией по МакФарланду (ед. МСФ).

Исследуемые образцы добавляли тремя равными порциями на 6-й, 12-й и 18-й час культивирования.

Для оценки возможности формирования противомикробного депонирующего комплекса проводили статичное культивирование популяции *S. sanguis*, *F. nucleatum* и *P. intermedia* в жидкой среде, с периодической регистрацией оптической плотности.

В стерильных пробирках объемом 20 мл и с использованием стерильной среды для подраживания приготовили 9 мл микробной суспензии с концентрацией

каждого вида микроба $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ. Мутность полученной взвеси измеряли денситометром DEN-1B (Biosan, Латвия), которая для каждой комбинации составила $0,5 \pm 0,3$ ед. МСФ. Биокультивирование микробной комбинации проводили в анаэробных условиях, в статично установленных пробирках объемом 50 мл в анаэроstate на анаэробном бульоне Уилкинса—Шалгрена [13].

В стерильный питательный бульон добавляли 1 мл микробной взвеси и одновременно вносили:

- лактоферрин, 0,6 г;
- лактоферрин (0,6 г), Эмдогаин (0,7 мл) и аутологичный дентинный матрикс (1 г крошки, обработанной спиртом и хлоргексидином) — Σ 3 г.

Депонирующий комплекс формировался в асептических условиях путем гомогенного соединения всех компонентов с последующим прессованием в лунках триацетатных стерильных микрокасет.

Статистическую обработку проводили путем построения регрессионной зависимости (парабола второго порядка) с оценкой критерия Фишера (F-фактор) и вычислением коэффициента корреляции Пирсона. Применяли метод наименьших квадратов, основанный на минимизации суммы квадратов отклонений некоторых функций от искомым переменных. Различия оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$, при $p < 0,001$ достоверность считалась высокой.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При культивировании музейного штамма *S. aureus* в контрольной пробирке адаптивная фаза отмечалась

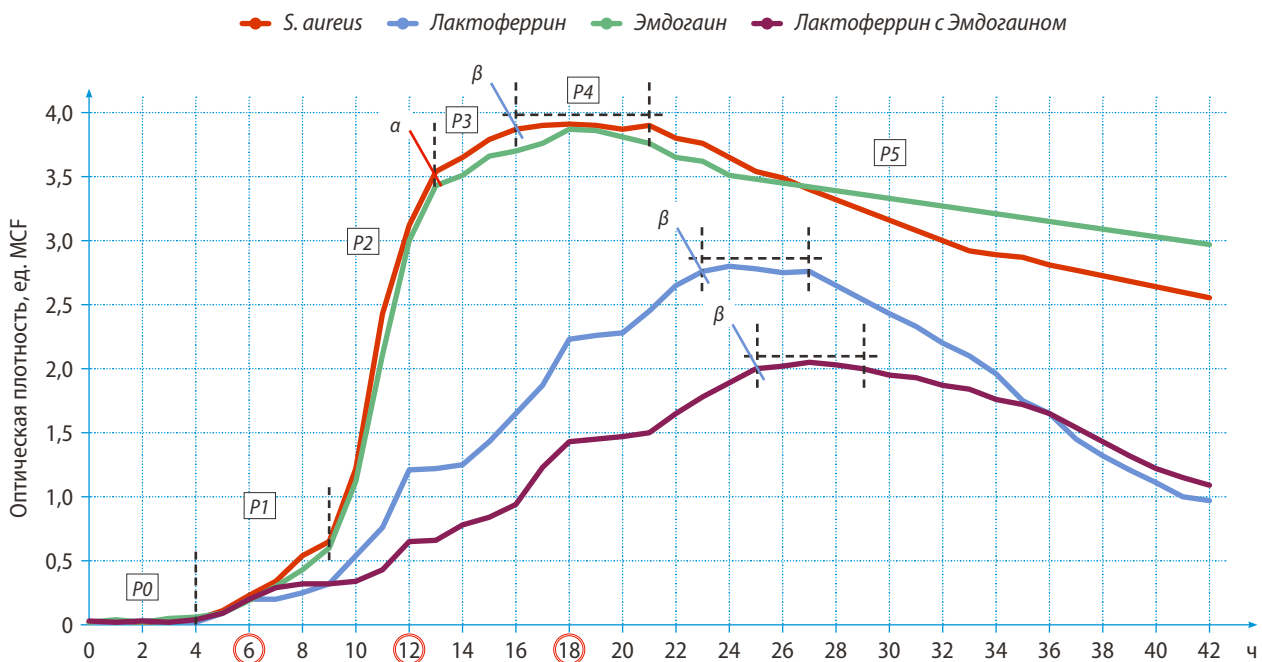


Рис. 1. Динамика роста *S. aureus* при добавлении лактоферрина, Эмдогаина и комбинации лактоферрина с Эмдогаином (ед. МСФ): P0 — адаптивный период, P1 — период ускоренного развития, P2 — период истинного логарифмического развития, P3 — период торможения роста, P4 — стационарный период, P5 — период гибели

Fig. 1. Growth dynamics of *S. aureus* upon addition of lactoferrin, Emdogaine, and the combination of lactoferrin and Emdogaine (MCF units): P0 — adaptive period, P1 — period of accelerated development, P2 — period of true logarithmic development, P3 — period of growth inhibition, P4 — stationary period, P5 — period of death

до 4-го часа эксперимента (рис. 1). Постепенное увеличение оптической плотности, обусловленное бактериальным приростом, отмечалось с 4-го по 9-й час. Данный период, предшествующий экспоненциальному скачку, характеризовался увеличением частоты клеточного деления и нарастанием числа клеток. Учитывая высокую метаболическую активность бактериальных клеток в данный период и предшествующую стадию логарифмического прироста, данный временной промежуток был взят за начальную точку анализа формируемого накапливаемого эффекта, при добавлении различных вариантов исследуемых образцов.

Экспоненциальная фаза, характеризуемая интенсивным подъемом оптической плотности, прослеживалась на промежутке с 9-го по 13-й час. В окончании данного периода отмечалось достижение бактериальной популяцией ключевой точки оптической плотности, выраженной в максимальном значении оптического числа в окончании истинного логарифмического развития культуры (показатель α) — $3,5 \pm 0,3$ ед. МСФ (13 ч). Далее прослеживаемая тенденция к увеличению оптической плотности не характеризовалась взрывной генеративной активностью, и на протяжении 3 ч отмечался период торможения. Скорость размножения бактерий в данном случае снижалась, количество делющихся особей уменьшалось, а количество погибших клеток увеличивалось. К 16-му часу культивирования достигнут апогей бактериального прироста в данной пробирке, что отмечено вторым ключевым показателем — показателем β (максимальный показатель оптической плотности, соответствующий максимальной микробной концентрации, М-концентрация). Оптическое значение в данной точке — $3,9 \pm 0,3$ ед. МСФ (16 ч). Фаза динамического равновесия прослеживалась на протяжении 5 ч, без существенных колебаний оптического значения. В данный период число жизнеспособных клеток достигает максимума и не увеличивается, поскольку скорость размножения бактерий равна скорости их отмирания. Средний показатель оптической плотности в данной фазе — $3,9 \pm 0,3$ ед. МСФ (16–21 ч). С 21-го часа

эксперимента отмечалась фаза отмирания бактериальных популяций, характеризуемая аутолитическим растворением клеток, а также наличием оставшихся в живых особей в состоянии покоя.

Чистый лактоферрин

После первичного добавления к *S. aureus* чистого лактоферрина (6-й час эксперимента) отмечалось торможение бактериального развития с характерным формированием кинетики построения кривой развития культуры по линейному принципу. Данная пролонгация фазы ускоренного развития задерживала возможность бактериальных клеток к переходу в экспоненциальное увеличение микробного числа, тем самым до 9-го часа культивирования тенденции к логарифмическому скачку не наблюдалось. Увеличение оптической плотности после 9-го часа эксперимента характеризовалось стремлением бактериальной популяции к быстрому развитию, что также являлось условием к повторному добавлению лактоферрина. Средняя скорость бактериального прироста на промежутке 9–12 ч — $0,2 \pm 0,3$ ед. МСФ. Показатель оптической плотности на 12-й час культивирования — $1,2 \pm 0,3$ ед. МСФ. После повторного добавления чистого лактоферрина (12-й час эксперимента) отмечалось явное наличие диауксийного перехода в развитие культуры. Бактериальная задержка развития была минимальной (до 2 ч), с последующим, уже более длительным промежутком повторного интенсивного развитием клеточной популяции, при снижающейся скорости суммарного прироста биомассы. Средняя скорость бактериального прироста на промежутке 12–18 ч — $0,1 \pm 0,3$ ед. МСФ. Показатель оптической плотности на 18-й час культивирования — $2,2 \pm 0,3$ ед. МСФ. После последнего добавления исследуемого образца лактоферрина (18-й час), длительность пролонгации задержки бактериального развития была аналогична периоду на 12–14-й час эксперимента. Изменение оптической плотности при возобновлении способности к активному делению клеток не отражало картину логарифмического прироста и способствовало постепенному снижению генеративной скорости увеличения

клеток, имея при этом тенденцию отрицательного ускорения. Средняя скорость бактериального прироста на промежутке 18–23 ч являлась минимальной по сравнению с предыдущими показателями и составила $0,1 \pm 0,3$ ед. МСФ. Оптическая плотность при М-концентрации — $2,8 \pm 0,3$ ед. МСФ.

Эмдогаин

При культивировании *S. aureus* с Эмдогаином статистически достоверной разницы изменения оптической плотности относительно контрольного образца не наблюдалось.

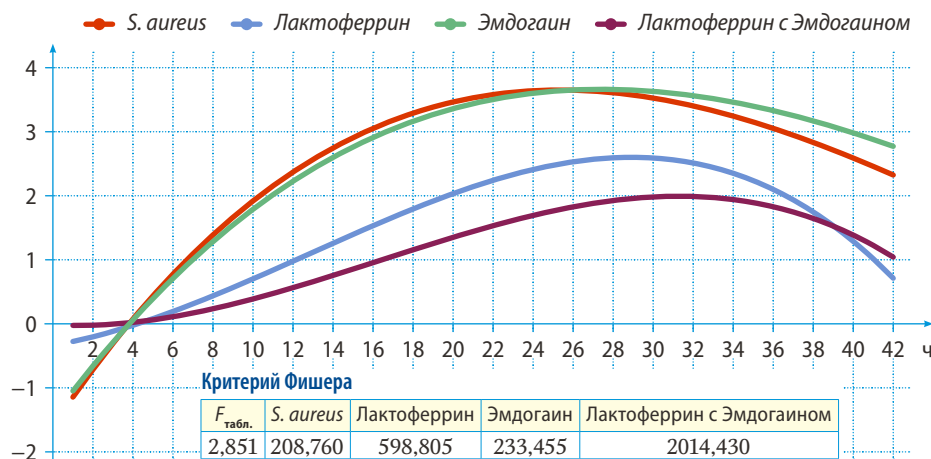


Рис. 2. Регрессионная зависимость (парабола третьего порядка)
Fig. 2. Regression dependence (third-order parabola)

Лактоферрин с Эмдогаином

При первичном добавлении данного комплекса препаратов отмечалось торможение клеточного развития с последующим длительным периодом его сохранения (до 10-го часа культивирования). Последующая скорость бактериального прироста, отраженная в виде изменения показателя оптической плотности, не совпала с показателем аналогичного параметра при культивировании клеток с образцом чистого лактоферрина и была значительно меньше ($0,8 \pm 0,3$ ед. MCF). При повторном добавлении исследуемого комплекса (на 12-й час эксперимента) отмечалась максимальная за все время эксперимента пролонгация периода задержки возобновления бактериального развития, которая превалировала в 2 раза по отношению к использованию чистого образца лактоферрина, и было заметно укорочение периода последующего бактериального прироста (16–18-й час). Однако генеративная скорость популяции при этом была сравнима с предыдущим образцом. К 18-му часу эксперимента, после заключительного добавления ингибирующего фактора, линейный тип развития кривой прослеживался на протяжении 3 ч, с последующим длительным увеличением биомассы и, как следствие, с более поздним достижением бактериальными клетками М-концентрации. Показатель оптической плотности в ключевой точке развития $\beta - 2,0 \pm 0,3$ ед. MCF. Средний показатель оптической плотности при стационарном равновесии культуры — $2,1 \pm 0,3$ ед. MCF (25–29 час), что на 27,1% ниже, чем в предыдущем образце.

Средний показатель оптической плотности при изменении бактериального прироста за весь период интенсивного развития клеток в образце с чистым

лактоферрином — 0,1 ед. MCF (6–23-й час), в образце с лактоферрином и Эмдогаином — 0,1 ед. MCF (6–25-й час).

Противомикробный депонирующий комплекс

Использование лактоферрина в комбинации с остеопластическим материалом Эмдогаином приводит к новому качеству комплекса — пролонгированному бактериостатическому действию в отношении исследованных микробных популяций и может быть рекомендовано для разработки лекарственной формы с регенерацией стимулирующих и антимикробных свойств. При применении лактоферрина в чистом виде отмечается более выраженное воздействие в отношении исследованного штамма. В то же время комбинация данного исследуемого образца лактоферрина с остеопластическим материалом, по-видимому, способствует дозированному выходу белка и его последующему взаимодействию с субстратом, отсрочивая периоды взрывного развития культуры стафилококка, т.е. оказывает пролонгированное антибактериальное действие (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, принципы лечения больных пародонтитом предусматривают одновременное решение нескольких задач: стабилизация воспалительно-деструктивных процессов в пародонте и предупреждение дальнейшего развития патологического процесса; сохранение и восстановление функции пародонта и зубов; предупреждение развития общих и местных осложнений, а также негативного влияния на общее здоровье и качество жизни

пациентов. Вместе с тем решение этих задач невозможно без проведения антимикробного (этиотропного) лечения [14].

Достаточно хорошо известны основные направления антибиотикотерапии при пародонтите. Это устранение острых воспалительных явлений, антимикробная санация пародонтального кармана, изменение соотношения между патогенной (вирулентной) и непатогенной (стабилизирующей) микрофлорой в сторону последней, профилактика системных и местных инфекционных осложнений, в том числе при инвазивных вмешательствах, предотвращение развития суперинфекции, включая грибковое поражение, снижение уровня микробной нагрузки, чтобы помочь организму в борьбе с инфекцией. При планировании антимикробной химиотерапии приоритет цели определяется характером течения процесса, риском местных и общих осложнений

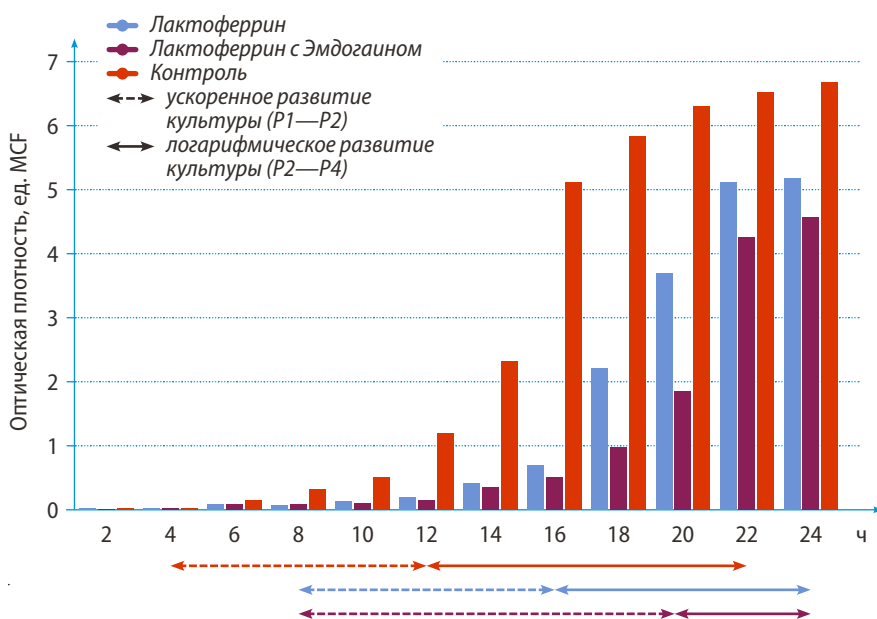


Рис. 3. Ключевые показатели оптической плотности и интервальная задержка экспоненциальной фазы при культивировании консорциума *S. sanguis*, *F. nucleatum* и *P. intermedia* и испытуемыми образцами

Fig. 3. Key optical density indices and interval exponential phase lag during cultivation of *S. sanguis*, *F. nucleatum*, and *P. intermedia* consortium with test specimens

(включая сопутствующие заболевания, возраст и т.д.), длительностью, ранее проводимым лечением и включает как системную, так и местную антимикробную терапию [15].

Именно вышеуказанные пункты, на наш взгляд, должно учитываться при создании лекарственных средств на основе белков и пептидов для лечения патологии пародонта. При этом исследователи должны выдвигать несколько специфических требований к качествам основного вещества, в частности биодоступность лекарственной формы в организме человека, высокая антимикробная активность против основных патогенов полости рта как в планктонном состоянии, так и в составе биопленки; противовоспалительное действие и способность повышать устойчивость к окислительному стрессу и его последствиям, наличие иммуномодулирующих свойств, направленных на коррекцию основных патогенетически значимых иммунных механизмов; минимальная активность в отношении представителей нормальной микробиоты и пробиотиков; предотвращение миграции основных патогенов за пределы полости рта (профилактика их системных эффектов) [4].

Естественная концентрация лактоферрина в слюне и жидкости из пародонтального кармана сильно колеблется — от 1,5 до 350 мкг/мл, при этом у пациентов с гингивитом или пародонтитом в фазе обострения определяются более высокие уровни лактоферрина по сравнению со здоровыми людьми [16]. Однако даже в низком диапазоне естественных концентраций лактоферрина уже выявляется его активность в отношении некоторых бактерий пародонта [17]. Это позволяет предполагать, что не только противомикробные эффекты, но и другие проявления биологической активности лактоферрина могут играть дополнительную важную роль в защите организма хозяина и регуляции воспаления [18], а уровень лактоферрина в слюне из-за его высокой корреляции со степенью поражения пародонта некоторые авторы рекомендуют в качестве биомаркера этого патологического состояния [19].

Для использования в стоматологии лактоферрин, как правило, извлекается из коровьего молока и впоследствии добавляется во многие коммерческие продукты: в пищевые добавки, детские смеси, косметику и зубную пасту. В последние годы для этой цели весьма перспективным считают получение рекомбинантных форм человеческого лактоферрина [20].

В научной литературе антибактериальная активность Эмдогаина описана неоднозначно [21]. В двух исследованиях отмечалась достоверная активность в отношении представителей грамотрицательной флоры

в монокультуре (снижение концентрации *A. actinomycescomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*) [22], а также при оценке жизнеспособности биопленки в сравнении с пропиленгликолем и 0,2% хлоргексидином (для Эмдогаина, пропиленгликоля и хлоргексидина на 19, 22 и 35% соответственно в сравнении с контрольными группами) [23]. В свою очередь, в исследовании С. Walter, при сравнении ингибирующего действия пропиленгликоля и Эмдогаина методикой диффузии в агар в отношении *P. gingivalis*, последний не выявил зоны ингибирования, однако пропиленгликоль продемонстрировал статистически значимые зоны ингибирования [24].

Также ни в одном приведенном исследовании на антимикробную активность не подтверждалось действие в отношении грамположительной флоры, в том числе на стафилококк, поэтому исходя из имеющихся результатов определенные выводы следует интерпретировать с большой осторожностью, так как общий эффект лечения может быть переоценен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты автоматического культивирования, полученные в нашем исследовании, с большей степенью достоверности подтверждают, что препарат Эмдогаин не оказывает антимикробного действия в отношении представителя грамположительной микробиоты (*S. aureus*), однако при добавлении лактоферрина эта активность выявляется и даже превосходит уровень активности только лактоферрина в той же дозе. Полученный результат усиления антимикробного эффекта может быть обусловлен особенностями эмалевого матрикса как депонирующего агента.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнялась с использованием Уникальной научной установки «Трансгенбанк» при финансовой поддержке Российской Федерацией в лице Минобрнауки России в рамках проекта (Соглашение № 075-15-2021-668 от 29.07.2021).

ACKNOWLEDGMENTS

The study was carried out using the unique scientific facility Transgenbank and supported by a grant no. 075-15-2021-668 of the Russian Federation represented by the Ministry of Education and Science of Russia.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 07.11.2022 **Принята в печать:** 15.11.2022

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 07.11.2022 **Accepted:** 15.11.2022

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Kao R.T., Nares S., Reynolds M.A. Periodontal regeneration — intrabony defects: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop. — *J Periodontol.* — 2015; 86 (2 Suppl): S77—104. [PMID: 25216204](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25216204/)
2. Needleman I.G., Worthington H.V., Giedrys-Leeper E., Tucker R.J. Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. — *Cochrane Database of Systematic Reviews.* — 2006, Issue 2. [PMID: 16625546](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16625546/)

3. Парахонский А.П., Перова Н.Ю. Роль цитокинов в патогенезе пародонтита. — *Естественно-гуманитарные исследования*. — 2015; 1 (7): 75—81.
[A.P. Parakhonsky, Perova N.Y. The role of cytokines in the pathogenesis of periodontitis. — *Natural-humanitarian studies*. — 2015; 1 (7): 75—81 (In Russ.)]. [eLibrary ID: 23024166](#)
4. Балмасова И.П., Царев В.Н., Янушевич О.О., Маев И.В., Мкртумян М.А., Арутюнов С.Д. Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов. — М.: Практическая медицина, 2021. — С. 264.
[Balmasova I.P., Tsarev V.N., Yanushevich O.O., Maev I.V., Mkrtyunyan M.A., Arutyunov S.D. Microecology of the periodontium. The relationship of local and systemic effects. — Moscow: Practical medicine, 2021. — P. 264. (In Russ.)].
5. Tan O.L., Safii S.H., Razali M. Commercial local pharmacotherapeutics and adjunctive agents for nonsurgical treatment of periodontitis: A contemporary review of clinical efficacies and challenges. — *Antibiotics (Basel)*. — 2019; 9 (1): 10. [PMID: 31905889](#)
6. Rojas M.A., Marini L., Piloni A., Sahrman P. Early wound healing outcomes after regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivatives or guided tissue regeneration: a systematic review. — *BMC Oral Health*. — 2019; 19 (1): 76. [PMID: 31064353](#)
7. Menicanin D., Hynes K., Han J., Gronthos S., Bartold P.M. Cementum and Periodontal Ligament Regeneration. — *Adv Exp Med Biol*. — 2015; 881: 207—36. [PMID: 26545752](#)
8. Xu X., Chen X., Li J. Natural protein bioinspired materials for regeneration of hard tissues. — *J Mater Chem B*. — 2020; 8 (11): 2199—2215. [PMID: 32091067](#)
9. Elzoghby A.O., Abdelmoneem M.A., Hassanin I.A., Abd Elwakil M.M., Elnaggar M.A., Mokhtar S., Fang J.Y., Elkhodairy K.A. Lactoferrin, a multi-functional glycoprotein: Active therapeutic, drug nanocarrier & targeting ligand. — *Biomaterials*. — 2020; 263: 120355. [PMID: 32932142](#)
10. Rosa L., Lepanto M.S., Cutone A., Ianiro G., Pernarella S., Sangermano R., Musci G., Ottolenghi L., Valenti P. Lactoferrin and oral pathologies: a therapeutic treatment. — *Biochem Cell Biol*. — 2021; 99 (1): 81—90. [PMID: 32213143](#)
11. Hwang S.A., Wilk K.M., Bangale Y.A., Kruzel M.L., Actor J.K. Lactoferrin modulation of IL-12 and IL-10 response from activated murine leukocytes. — *Med Microbiol Immunol*. — 2007; 196 (3): 171—80. [PMID: 17377816](#)
12. Kuhara T., Yamauchi K., Tamura Y., Okamura H. Oral administration of lactoferrin increases NK cell activity in mice via increased production of IL-18 and type I IFN in the small intestine. — *J Interferon Cytokine Res*. — 2006; 26 (7): 489—99. [PMID: 16800788](#)
13. Царев В.Н., Атрушкевич В.Г., Ипполитов Е.В., Подпорин М.С. Сравнительный анализ антимикробной активности пародонтальных антисептиков с использованием автоматизированной системы контроля роста микроорганизмов в режиме реального времени. — *Пародонтология*. — 2017; 1 (82): 4—10.
[Tsarev V.N., Atrushkevich V.G., Ippolitov E.V., Podporin M.S. Comparative analysis of periodontal antiseptic antimicrobial activity using the automated control of microbial growth in real-time. — *Parodontologiya*. — 2017; 1 (82): 4—10 (In Russ.)]. [eLibrary ID: 29233663](#)
14. Ушаков Р.В., Царев В.Н. Антимикробная терапия в стоматологии. Принципы и алгоритмы. — М.: Практическая медицина, 2019. — 240 с.
[Ushakov R.V., Tsarev V.N. Antimicrobial therapy in dentistry. Principles and algorithms. — Moscow: Practical medicine, 2019. — 240 p. (In Russ.)].
15. Царев В.Н., Дробышев А.Ю., Ипполитов Е.В., Лабазанов А.А., Подпорин М.С., Царева Т.В., Трефилова Ю.А. Комбинированная антибактериальная химиотерапия одонтогенной инфекции — почему ципрофлоксацин с тинидазолом?. — *Клиническая стоматология*. — 2020; 1 (93): 18—24.
[Tsarev V.N., Drobyshev A.Y., Ippolitov E.V., Labazanov A.A., Podporin M.S., Tsareva T.V., Trefilova Y.A. Combined antibacterial chemotherapy odontogenic infection-why Ciprofloxacin with Tinidazole?. — *Clinical Dentistry (Russia)*. — 2020; 1 (93): 18—24 (In Russ.)]. [eLibrary ID: 42846259](#)
16. Wang Y.C., Ma H.D., Yin X.Y., Wang Y.H., Liu Q.Z., Yang J.B., Shi Q.H., Sun B., Gershwin M.E., Lian Z.X. Forkhead box O1 regulates macrophage polarization following *Staphylococcus aureus* infection: Experimental murine data and review of the literature. — *Clin Rev Allergy Immunol*. — 2016; 51 (3): 353—369. [PMID: 26924010](#)
17. Enigk K., Jentsch H., Rodloff A.C., Eschrich K., Stingu C.S. Activity of five antimicrobial peptides against periodontal as well as non-periodontal pathogenic strains. — *J Oral Microbiol*. — 2020; 12 (1): 1829405. [PMID: 33133417](#)
18. Eberhard J., Jepsen S., Jervøe-Storm P.M., Needleman I., Worthington H.V. Full-mouth treatment modalities (within 24 hours) for chronic periodontitis in adults. — *Cochrane Database Syst Rev*. — 2015; 2015 (4): CD004622. [PMID: 25884249](#)
19. Karav S., German J.B., Rouquié C., Le Parc A., Barile D. Studying Lactoferrin N-Glycosylation. — *Int J Mol Sci*. — 2017; 18 (4): 10. [PMID: 28425960](#)
20. Spadaro M., Caorsi C., Ceruti P., Varadhachary A., Forni G., Pericle F., Giovarelli M. Lactoferrin, a major defense protein of innate immunity, is a novel maturation factor for human dendritic cells. — *FASEB J*. — 2008; 22 (8): 2747—57. [PMID: 18364398](#)
21. Esposito M., Grusovin M.G., Papanikolaou N., Coulthard P., Worthington H.V. Enamel matrix derivative (Emdogain (R)) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. — *Cochrane Database Syst Rev*. — 2009; 2009 (4): CD003875. [PMID: 19821315](#)
22. Wyganowska-Świątkowska M., Szkaradkiewicz A.K., Karpiński T.M., Marcinkowski J.T. The evaluation of enamel matrix derivative on subgingival microbial environment in non-surgical periodontal therapy. — *Ann Agric Environ Med*. — 2013; 20 (3): 431—5. [PMID: 24069844](#)
23. Najeed S., Khurshid Z., Sohail Zafar M., Zohaib S., Siddiqui F. Efficacy of enamel matrix derivative in vital pulp therapy: A review of literature. — *Iran Endod J*. — 2017; 12 (3): 269—275. [PMID: 28808449](#)
24. Walter C., Jawor P., Bernimoulin J.P., Hägewald S. Moderate effect of enamel matrix derivative (Emdogain Gel) on *Porphyromonas gingivalis* growth in vitro. — *Arch Oral Biol*. — 2006; 51 (3): 171—6. [PMID: 16137640](#)