



Власов Р.А.¹✉, Крутько В.К.², Жукова Т.В.³, Мусская О.Н.², Глазов И.Е.², Козлов В.А.⁴

¹ Медицинский центр «Медандровит», Минск, Беларусь

² Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

³ Международный университет «МИТСО», Минск, Беларусь

⁴ Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия

Резистентность эпителиоцитов слизистой носа и щеки к композитам на основе гидроксиапатита и аутофибрина

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Крутько В.К., Власов Р.А.; сбор и обработка материала – Власов Р.А., Жукова Т.В., Глазов И.Е., Мусская О.Н.; статистическая обработка – Козлов В.А.; написание текста – Власов Р.А.; редактирование – Крутько В.К., Жукова Т.В.

Подана: 03.02.2023

Принята: 22.05.2023

Контакты: rvalekseevich@mail.ru

Резюме

Цель. Определить влияние синтетического гидроксиапатита в составе композита с аутофибрином на неспецифическую резистентность эпителиальных клеток слизистой носа и щеки.

Материалы и методы. Исследование проведено на основании соскобов со слизистой полости носа и щеки у 27 здоровых добровольцев. Сформировано 27·12=324 цитологических препарата. In vitro проведен эксперимент с микроскопией под иммерсионным увеличением, показывающий влияние экспериментальных агентов, таких как пероксид водорода и компоненты композита (на основе гидроксиапатита и аутофибрина), на эпителиальные клетки слизистой дна полости носа и щеки. In vitro установлено, что при контакте эпителиоцитов с дистиллированной водой значительно повреждаются клетки эпителия, поэтому 3% пероксид водорода разбавляли физиологическим раствором 1:10.

Результаты. Аутофибрин снижает деструктивное действие гидроксиапатита и повышает безопасность композита. Установлено, что степень негативного воздействия экспериментальных агентов на эпителий увеличивалась в ряду: аутофибрин > композит аутофибрин/гидроксиапатит > раствор пероксида водорода > гидроксиапатит > дистиллированная вода. При использовании аутофибрина в композите с гидроксиапатитом эпителиоциты носа и щеки имели более высокие показатели неспецифической резистентности по отношению к гидроксиапатиту.

Заключение. Установлено, что для улучшения показателей неспецифической резистентности необходимо использовать гибридные композиты аутофибрин/гидроксиапатит, в которых аутофибрин уменьшает негативное влияние гидроксиапатита на эпителиоциты слизистой оболочки носа и щеки.

Ключевые слова: аутофибрин, гидроксиапатит, композиты, эпителиальные клетки, неспецифическая резистентность

Vlasov R.¹ ✉, Krut'ko V.², Zhukova T.³, Musskaya O.², Glazov I.², Kozlov V.⁴

¹ Medical Center "Medandrovit", Minsk, Belarus

² Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

³ International University "MITSO", Minsk, Belarus

⁴ National Research University "Higher School of Economics", Moscow, Russia

Resistance of Nasal and Buccal Mucosa Epitheliocytes against Hydroxyapatite and Autofibrin Based Composites

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study concept and design – Krut'ko V., Vlasov R.; material collection and processing – Vlasov R., Zhukova T., Glazov I., Musskaya O.; statistical processing – Kozlov V.; text writing – Vlasov R.; editing – Krut'ko V., Zhukova T.

Submitted: 03.02.2023

Accepted: 22.05.2023

Contacts: rvalekseevich@mail.ru

Abstract

Purpose. To determine the effect of synthetic hydroxyapatite as part of a composite with autofibrin on the nonspecific resistance of epithelial cells of the nasal and buccal mucosa.

Materials and methods. The study was conducted on the basis of scrapings from the mucous membrane of the nasal cavity and cheeks in 27 healthy volunteers. 27·12=324 cytological preparations were formed. An in vitro experiment was carried out with microscopy under immersion magnification, showing the effect of experimental agents, such as hydrogen peroxide and composite components (based on hydroxyapatite and autofibrin) on the epithelial cells of the mucous membrane of the floor of the nasal cavity and cheek. In vitro, it was established that epitheliocytes were significantly damaged upon contact with distilled water, so 3% hydrogen peroxide was diluted by saline as 1:10.

Results. Autofibrin reduces hydroxyapatite destructive effect and increases the safety of the composite. It was established that the degree of negative impact of experimental agents on the epithelium increased in the following order: autofibrin > autofibrin/hydroxyapatite composite > hydrogen peroxide solution > hydroxyapatite > distilled water. When using autofibrin in a composite with hydroxyapatite, epithelial cells of the nose and cheeks had higher rates of nonspecific resistance against hydroxyapatite.

Conclusion. It has been established that in order to improve nonspecific resistance indicators, autofibrin/hydroxyapatite hybrid composites should be used, in which autofibrin reduces the negative effect of hydroxyapatite on the epithelial cells of the nasal and buccal mucosa.

Keywords: autofibrin, hydroxyapatite, composites, epithelial cells, nonspecific resistance

■ ВВЕДЕНИЕ

Оценка местного иммунитета и экспресс-анализ влияния различных агентов, трансплантатов, а также гибридных материалов на клетки организма всегда представляют большой интерес [1]. Определение неспецифической резистентности (НР) *in vitro* позволяет оценить влияние различных факторов на эпителиальные клетки. При этом возможны предварительные эксперименты с новыми составами композитов без риска для организма человека [1–3]. Существует большой спектр гибридных биоматериалов на основе фосфатов кальция и компонентов крови [4–6, 8–10, 13]. Перспективными на данный момент являются биоматериалы на основе аутофибринового клея [4, 5]. Несмотря на всестороннее внимание ученых, до конца не изучено влияние гибридных композитов на эпителиальные клетки слизистой оболочки полости носа и рта. Гидроксиапатит (ГА), как один из активных компонентов современных композитов [1], влияет на эпителиальные клетки и адгезию микроорганизмов на эпителиоцитах. Под воздействием геля или пасты ГА происходит деструкция эпителиальных клеток, лизис цитоплазмы и изменение адгезии микроорганизмов на эпителиоцитах, что установлено в предыдущих исследованиях [1, 8]. Особый интерес вызывают компоненты композита, снижающие негативное влияние ГА на эпителий полости носа и рта. Изучение данного вопроса позволит создать предпосылки для разработки композита с минимальным негативным влиянием ГА [9, 10].

Неспецифическая резистентность – это устойчивость к повреждению эпителиоцитов, которая визуальнo проявляется изменением количества адгезированной и неадгезированной микрофлоры на эпителиоцитах (рис. 1) после какого-либо воздействия в динамике [3, 11, 14].

Известно, что механизм адгезии включает сложный комплекс процессов, влияющих на активность неспецифических рецепторов эпителиальных клеток и концентрацию сопутствующих веществ (лизоцим, талин, винкулина α -актининметаллосвязывающие белки, фибронектин, фибриноген и др.) [14, 16].

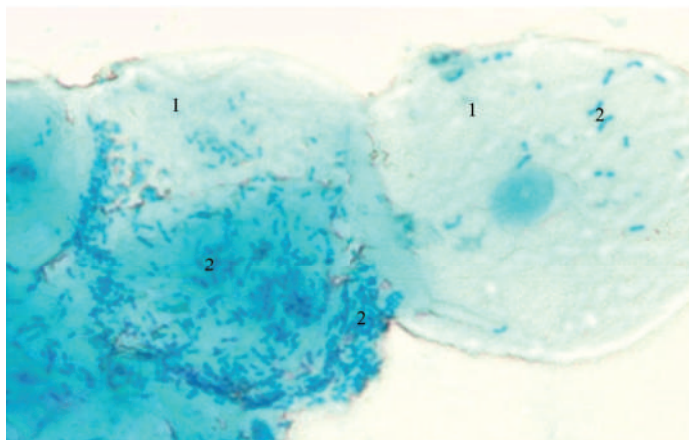


Рис. 1. Микроскопический снимок соскоба слизистой щеки. Эпителиоциты (1) (норма) с адгезированной микрофлорой (2). Увеличение $\times 800$

Fig. 1. Microscopic image of buccal mucosa scrapings. Epitheliocytes (1) (normal) with adherent microflora (2). Magnification $\times 800$

Например, от количества гликопротеидов на поверхности гликокаликса [18, 23] зависит адгезия микрофлоры на эпителиальных клетках.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить влияние синтетического гидроксиапатита в составе композита с аутофибрином на неспецифическую резистентность эпителиальных клеток слизистой носа и щеки.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили с участием 27 здоровых добровольцев на основании письменного согласия, согласно Закону о здравоохранении Республики Беларусь [15] и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации [22]. Соскоб слизистой щеки осуществляли стерильным шпателем, а со дна полости носа – стерильным ватным одноразовым тампоном. Производили забор у каждого пациента по 12 образцов, включающих 6 мазков-соскобов со слизистой носа и 6 мазков-соскобов со слизистой щеки. Влажные препараты мазков-соскобов *in vitro* наносили на предметные стекла, высушивали на воздухе в течение 5 мин. Наносили следующие экспериментальные агенты и выдерживали время экспозиции 5 мин:

- 5% гель ГА с рН 6,8 [1, 8–10];
- фибрино-пленочный композит, состоящий из аутофибриновой пленки и тонкого слоя ГА [20];
- фибрино-клеевой композит на основе клеящей субстанции аутофибрина, включающий аутоплазму крови с 5% гелем ГА после инициации коагуляционного каскада раствором кальция глюконата с адреналином [8–10];
- аутофибриновую пленку [20];
- H_2O_2 – 0,3% раствор пероксида водорода, полученный разбавлением стерильным 0,9% физиологическим раствором при объемном отношении H_2O_2 : физиологический раствор 1:10.

Оценивали результаты в 100 полях зрения под иммерсионным микроскопом, а также показатели количества ядер клеток, адгезированной микрофлоры на эпителиальных клетках, микрофлоры вне клеток (неадгезированной), лейкоцитов. Отдельно отмечали признаки дистрофии эпителия. Окрашивали образцы метиленовым синим в течение 3 мин и высушивали на воздухе в течение 5 мин. Подсчет данных показателей производили под иммерсионным микроскопом Nikon Eclipse E200 (Япония) с возможностями фото- и видеосъемки.

Для исследования влияния композитов использовали 4 образца цитологических препаратов (по 2 из носа и щеки); для контроля компонентов композитов (нативный; после контакта с аутофибриновой пленкой; после контакта с гелем ГА; после контакта с H_2O_2) – 8 образцов цитологических препаратов (по 4 из носа и щеки). Раствор 0,3% H_2O_2 использовали в качестве эталонного агента, обладающего бактерицидным действием, заведомо влияющего на НР и изменяющего количество микрофлоры. В итоге от каждого испытуемого получили по 12 образцов:

- эпителий носа (щеки) нативный;
- эпителий носа (щеки) с гелем ГА;
- эпителий носа (щеки) с аутофибриновой пленкой;
- эпителий носа (щеки) с фибрино-пленочным композитом;

- эпителий носа (щеки) с фибрино-клеевым композитом;
- эпителий носа (щеки) с H_2O_2 .

Статистический анализ проводили с помощью программы Stata 14, использовали модель однофакторной линейной регрессии. В качестве зависимой переменной выступали показатели количества ядер клеток, микрофлоры на клетке, микрофлоры вне клетки, лейкоцитов. В качестве независимой переменной выбирали категориальную переменную экспериментальных агентов. Референтная группа показывала отсутствие любого использования веществ и сравнивалась с 5 другими категориями; показатели взяты усредненными для всех 27 наблюдаемых добровольцев.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что аппликация геля ГА на цитологический препарат соскоба щеки может вызывать деструкцию эпителиальных клеток и изменение численности микроорганизмов (рис. 2, 3), а также приводить к различным повреждениям эпителиоцитов, нарушать соотношения адгезированной и неадгезированной флоры (рис. 3). На микроскопическом снимке (рис. 2В) наблюдается обесцвечивание или деструкция ядра эпителиоцитов. После аппликации геля ГА эпителиоциты находились в состоянии дистрофии (с неровным контуром цитоплазматической мембраны). Микрофлоры, особенно адгезированной, становилось заметно меньше (рис. 2), и росло количество неадгезированной (рис. 3).

В соскобе слизистой щеки редко встречаются лейкоциты, на поверхности эпителиоцитов наблюдается адгезированная смешанная флора, чаще кокковая. С другой стороны, при аппликации геля ГА можно увидеть различные виды разрушений цитоплазматической мембраны и цитоплазмы (рис. 4, 5). После контакта с гелем ГА эпителиальные клетки разрушались частично или полностью (рис. 4).

При микроскопии образцов соскоба слизистой дна полости носа чаще встречались лейкоциты, микрофлора встречалась реже, чем на эпителиоцитах щеки (единичная). После аппликации геля ГА или фибрино-пленочного или фибрино-клеевого композита количество лейкоцитов снижалось, а эпителиоциты находились в состоянии дистрофии (рис. 5).

На рис. 6А представлены эпителиоциты (1) слизистой носа, лейкоциты (2), отмечается меньшее количество микрофлоры по сравнению с соскобом слизистой щеки. Аппликация аутофибриновой пленки на соскобе слизистой носа не приводит к заметным изменениям микроскопической картины (рис. 6В), эпителиоциты (3) остаются неизменными. На рис. 7 представлены эпителиоциты (1) слизистой щеки до аппликации аутофибриновой пленки и эпителиоциты (2) слизистой щеки после аппликации аутофибриновой пленки. Уменьшение количества адгезированной микрофлоры (3) на клетке наблюдается после контакта с аутофибриновой пленкой. Полученные данные свидетельствуют о незначительном влиянии аутофибриновой пленки на НР эпителиоцитов носа и щеки.

На рис. 8А–D представлены эпителиоциты щеки (1). Отмечается немногочисленная адгезированная флора (3) и единичная неадгезированная (4) не только на нативном (А) препарате, но и после аппликации в течение 5 мин фибрино-пленочного (В), фибрино-клеевого композита (С), H_2O_2 (D). В препаратах на рис. 8А–С не наблюдается существенных изменений. Однако после обработки препарата соскоба щеки H_2O_2 (рис. 8D) заметно уменьшение количества адгезированной микрофлоры.

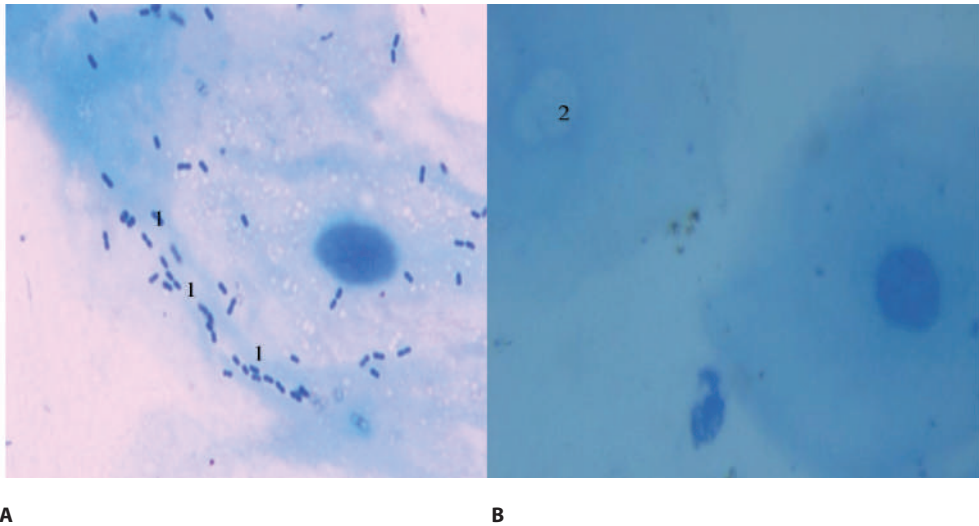


Рис. 2. Микроскопические снимки соскоба слизистой щеки. Эпителиоциты (норма (А)) с адгезированной микрофлорой (1); деструкция ядра эпителиоцита (2) и отсутствие микроорганизмов после аппликации геля ГА (В). Увеличение $\times 1000$
Fig. 2. Microscopic images of buccal mucosa scrapings. Epitheliocytes (normal (A)) with adherent microflora (1); destruction of the epithelial cell nucleus (2) and absence of microorganisms after application of the HA gel (B). Magnification $\times 1000$

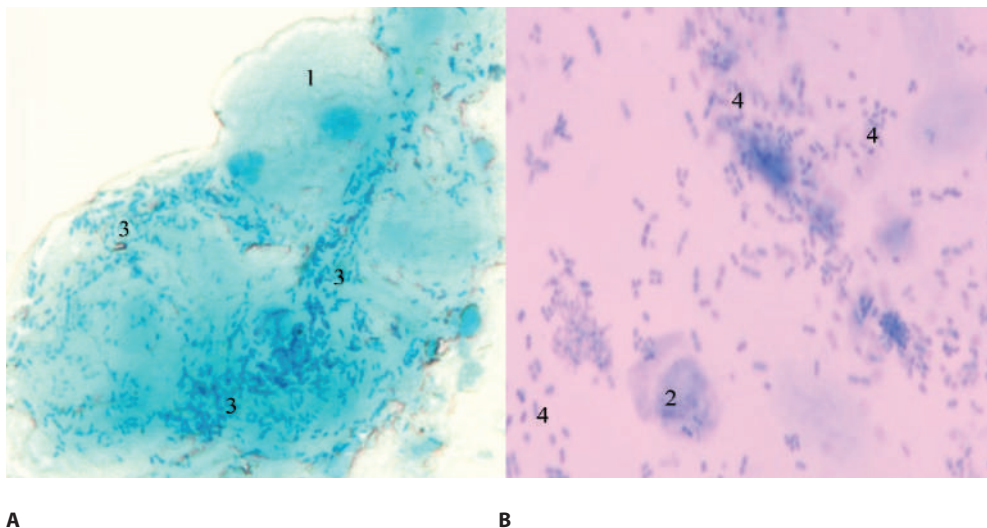


Рис. 3. Микроскопические снимки соскоба слизистой щеки. Эпителиоциты (1) (норма (А)) с адгезированной микрофлорой (3); дистрофия эпителиоцитов (2) и увеличение количества неадгезированной микрофлоры (4) после аппликации геля ГА (В). Увеличение $\times 1000$
Fig. 3. Microscopic images of buccal mucosa scrapings. Epitheliocytes (1) (normal (A)) with adherent microflora (3); degeneration of epitheliocytes (2) and increase in the amount of non-adherent microflora (4) after application of the HA gel (B). Magnification $\times 1000$

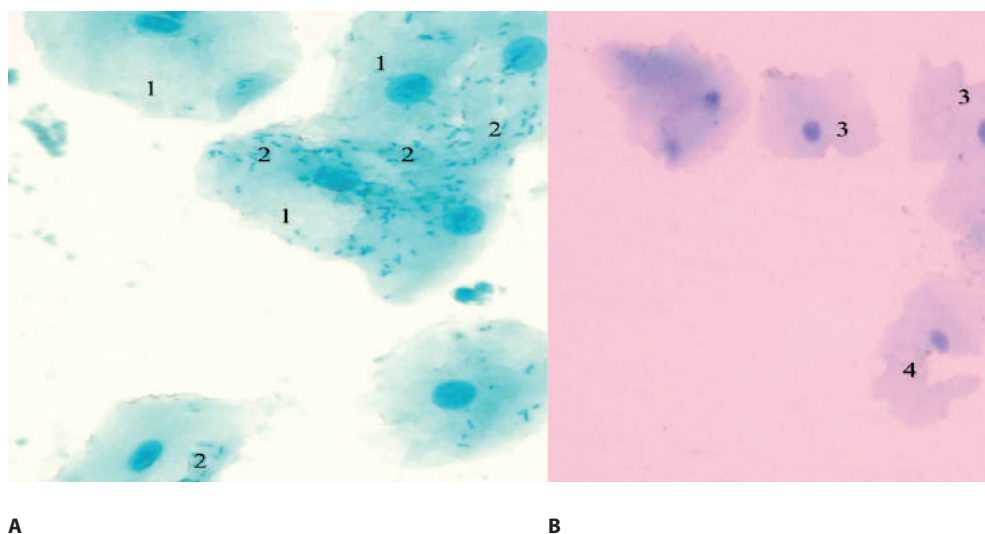


Рис. 4. Микроскопические снимки соскоба слизистой щеки. Эпителиоциты (1) (норма (А)) с адгезированной микрофлорой (2). Дефекты цитоплазматической мембраны (3) и цитоплазмы (4) после аппликации геля ГА (В). Увеличение $\times 400$

Fig. 4. Microscopic images of buccal mucosa scrapings. Epitheliocytes (1) (normal (A)) with adherent microflora (2). Defects in the cytoplasmic membrane (3) and cytoplasm (4) after application of HA gel (B). Magnification $\times 400$

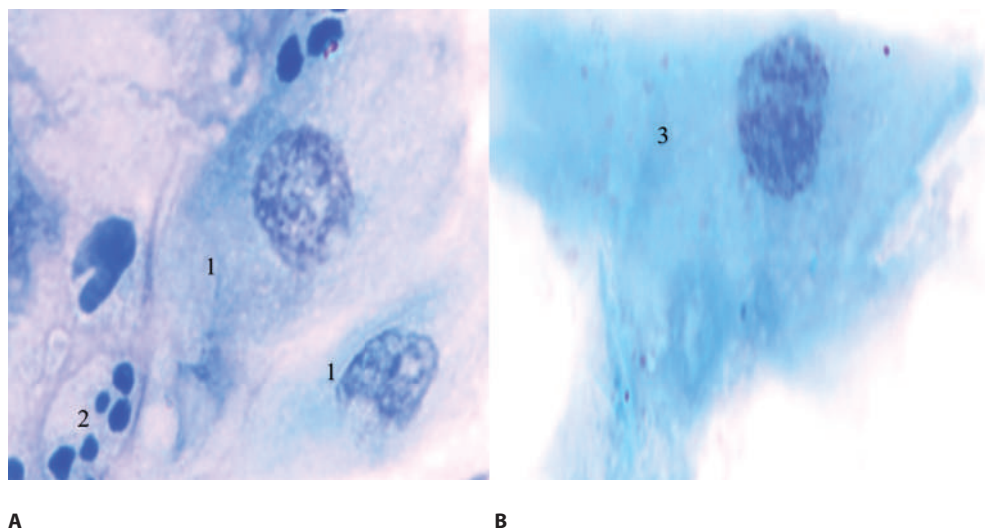


Рис. 5. Микроскопические снимки соскоба слизистой дна полости носа. Эпителиоциты (1) и лейкоциты (2) (норма (А)), эпителиоцит (3) после аппликации геля ГА (В). Увеличение $\times 1000$

Fig. 5. Microscopic images of scrapings of the mucous membrane of the bottom of the nasal cavity. Epitheliocytes (1) and leukocytes (2) (normal (A)), epitheliocytes (3) after application of the HA gel (B). Magnification $\times 1000$

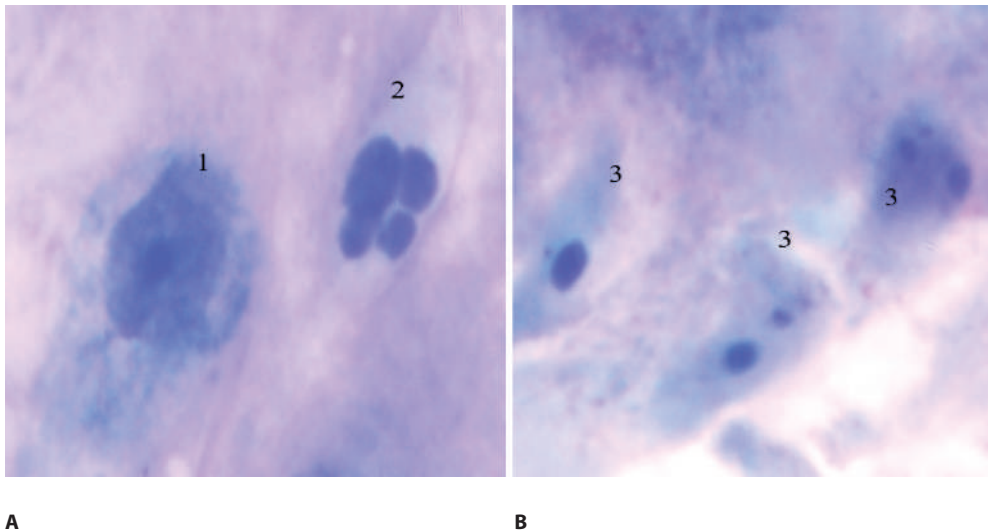


Рис. 6. Микроскопические снимки соскоба слизистой дна полости носа. Эпителиоцит (1), лейкоцит (2) (норма (А)). Эпителиоцит (3) после аппликации аутофибриновой пленки (В). Увеличение $\times 800$
Fig. 6. Microscopic images of scrapings of the mucous membrane of the bottom of the nasal cavity. Epitheliocyte (1), leukocyte (2) (normal (A)). Epithelial cells (3) after application of an autofibrin film (B). Magnification $\times 800$

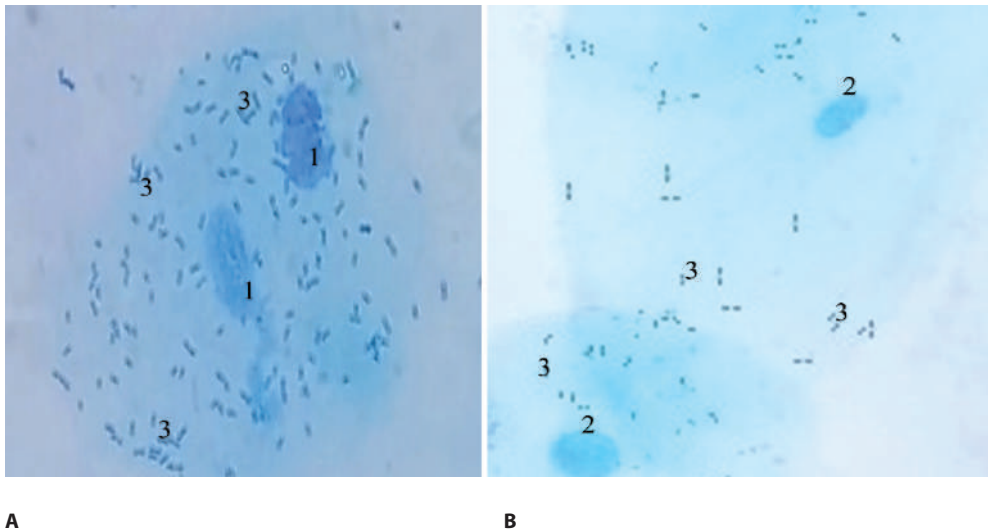


Рис. 7. Микроскопические снимки соскоба слизистой щеки. Эпителиоциты (1) (норма (А)). Эпителиоцит (2) после аппликации аутофибриновой пленки (В). Адгезированная кокковая микрофлора (3). Увеличение $\times 800$
Fig. 7. Microscopic images of buccal mucosa scrapings. Epithelial cells (1) (normal (A)). Epitheliocyte (2) after application of the autofibrin film (B). Adhered coccal microflora (3). Magnification $\times 800$

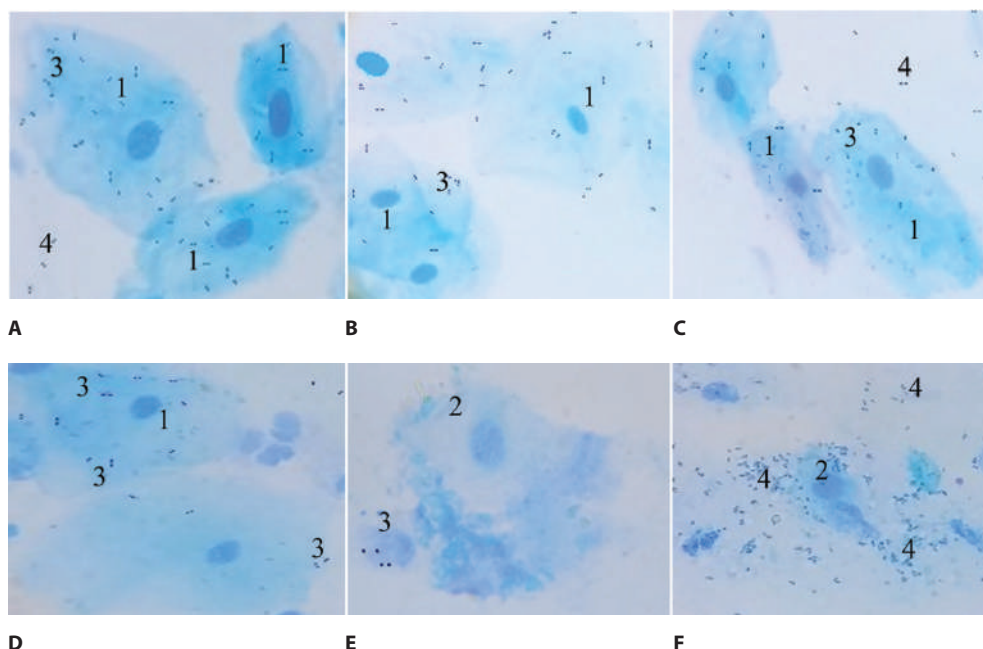


Рис. 8. Микроскопические снимки соскоба слизистой щеки (А–D) и носа (Е, F). Эпителиоциты щеки (1) после аппликации фибрино-пленочного (В), фибрино-клеявого композита (С), H_2O_2 (D). Эпителиоциты слизистой носа (2) после H_2O_2 (Е, F). Адгезированная микрофлора (3). Неадгезированная микрофлора (4). Увеличение $\times 800$
Fig. 8. Microscopic images of buccal mucosa scraping (A–D) and nose (E, F). Buccal epitheliocytes (1) after application of fibrin-film composite (B), fibrin-adhesive composite (C), H_2O_2 (D). Epitheliocytes of the nasal mucosa (2) after H_2O_2 (E, F). Adhered microflora (3). Non-adherent microflora (4). Magnification $\times 800$

В препаратах соскобов слизистой дна полости носа после воздействия H_2O_2 (рис. 8Е, F) отмечается деформация клеточной стенки эпителиоцита (2). Адгезированная микрофлора (3) не изменяется (рис. 8А–D), а после воздействия H_2O_2 уменьшается (рис. 8Е, F). При этом количество неадгезированной (4) микрофлоры варьировало: уменьшалось (рис. 8Е), увеличивалось (рис. 8F), не изменялось (рис. 8А–D). Все это демонстрирует значительное влияние H_2O_2 на НР эпителиоцитов носа и щеки.

Результаты после анализа данных цитологической картины эпителия слизистой полости носа и щеки до и после воздействия геля ГА в сочетаниях с фибрином в виде композитов (фибрино-пленочного или фибрино-клеявого) и статистического анализа представлены в табл. 1, 2.

Несмотря на то, что визуально аппликация фибриновой пленки видимого существенного дистрофического влияния на эпителиоциты не оказывала, однако из табл. 1 следует, что воздействие аутофибриновой пленки значительно уменьшает количество ядер ($-0,378$), микрофлоры на клетках ($-3,38$) и лейкоцитов ($-0,243$). Изменения показателей микрофлоры вне клеток (неадсорбированной) оставались статистически незначимыми, т. е. аутофибриновая пленка практически не оказывала влияния на эпителиоциты. Возможно, изменения НР после аутофибриновой пленки больше

Таблица 1

Характеристика НР в мазках-соскобах слизистой оболочки дна полости носа при аппликации различных экспериментальных агентов в течение 5 мин

Table 1

Characteristics of nonspecific resistance in smears-scrapings of the mucous membrane of the bottom of the nasal cavity during various experimental agents' applications for 5 minutes

Экспериментальные агенты	Количество показателей в поле зрения			
	Ядра	Микрофлора на клетке	Микрофлора вне клетки	Лейкоциты
Гель ГА	-0,885* (0)	-3,602* (0)	16,50* (0)	-0,358* (0)
Аутофибриновая пленка	-0,378* (0)	-3,380* (0)	-1,042 (0,128)	-0,243* (0)
Фибрино-пленочный композит	-0,183* (1,00e-05)	-1,441* (1,11e-05)	10,00* (0)	-0,466* (0)
Фибрино-клеевой композит	-0,460* (0)	-2,321* (0)	6,961* (0)	-0,433* (0)
H ₂ O ₂	-0,622* (0)	-2,650* (0)	9,410* (0)	-0,509* (0)

Примечания: Р (в скобках); * р<0,01.

связаны с воздействием дистиллированной водой (так как в процессе отмывания фибринового сгустка сначала используется дистиллированная вода и только на последнем этапе физиологический раствор). Из табл. 2 следует, что в образцах соскоба слизистой дна полости носа после аппликации аутофибриновой пленки наблюдается значимое снижение количества ядер (-1,393), адгезированной (-47,75) и неадгезированной (-0,715) микрофлоры, лейкоцитов (-0,243) в поле зрения.

Визуально фибрино-пленочный композит приблизительно одинаково воздействует на эпителиальные клетки, как и аутофибриновая пленка. Но из табл. 1 следует, что воздействие фибрино-пленочного композита значимо уменьшает количество ядер (-0,183), микрофлоры на клетках (-1,441), лейкоцитов (-0,466). Изменение микрофлоры вне клеток (неадгезированной) статистически возросло (10,00).

Аппликации фибрино-клеевого композита вызывают видимые изменения факторов НР. Анализ цитологической картины после аппликации фибрино-клеевого композита показывает, что фибрино-клеевой композит ближе по воздействию к гелю ГА, т. е. вызывает более значимую деструкцию, чем аутофибриновая пленка или фибрино-пленочный композит. Из табл. 1 следует, что воздействие фибрино-клеевого композита значимо уменьшает количество ядер (-0,460), уменьшает (-2,321) количество микрофлоры на клетках (адгезированной), а количество микрофлоры вне клеток (неадгезированной) возрастает (6,961).

При сравнении показатели НР в мазках слизистой оболочки носа при применении аутофибриновой пленки, геля ГА, фибрино-пленочного композита, фибрино-клеевого композита и H₂O₂ имели статистически значимые изменения. Как видно из табл. 2, количество ядер значимо снижается при использовании всех экспериментальных агентов, в большей степени для геля ГА. Аналогичная ситуация наблюдается с количеством микрофлоры на клетке и вне клетки при аппликации аутофибриновой пленки (снижение микрофлоры вне клетки является статистически незначимым). Количество лейкоцитов снижается для всех веществ, но сильнее всего в случае применения H₂O₂.

Таблица 2
Характеристика НР в мазках-соскобах слизистой оболочки щеки при аппликации различных экспериментальных агентов в течение 5 мин
Table 2
Characteristics of nonspecific resistance in smears-scrapings of the buccal mucosa during various experimental agents' applications for 5 minutes

Экспериментальные агенты	Количество показателей в поле зрения			
	Ядра	Микрофлора на клетке	Микрофлора вне клетки	Лейкоциты
Гель ГА	-2,109* (0)	-52,00* (0)	3,244* (9,86e-10)	-0,00270 (0,141)
Аутофибриновая пленка	-1,393* (0)	-47,75* (0)	-0,715 (0,172)	-0,0534* (0,00370)
Фибрино-пленочный композит	-1,272* (0)	-53,67* (0)	1,402* (0,00748)	-0,00190 (0,301)
Фибрино-клеевой композит	-1,443* (0)	-48,50* (0)	2,041* (0,000104)	-0,00124 (0,500)
H ₂ O ₂	-0,256* (2,74e-06)	-45,83* (0)	5,839* (0)	-0,00300 (0,103)

Примечания: Р (в скобках); * р<0,01.

В случае использования соскоба со щеки показатели количества ядер и микрофлоры на клетках аналогичны показателям соскоба из носа. Для микрофлоры вне клетки после экспозиции аутофибриновой пленки снижение также незначимое. Наибольшие изменения показателей наблюдаются для H₂O₂, для количества лейкоцитов статистически значимых различий между экспериментальными агентами нет, кроме данных образцов после аутофибриновой пленки, где есть статистически значимое снижение.

■ **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Результаты регрессионного анализа и наблюдений свидетельствуют о том, что из всех экспериментальных агентов наибольшее повреждающее действие на эпителиальные клетки слизистой носа и щеки оказывает дистиллированная вода, затем 5% гель ГА и раствор 0,3% пероксида водорода. Фибрино-пленочный композит и аутофибриновая пленка оказывают минимальное влияние на эпителиоциты слизистой оболочки полости носа и щеки. Фибрино-клеевой композит имеет средние характеристики влияния на неспецифическую резистентность. Поэтому для улучшения показателей неспецифической резистентности необходимо использовать гибридные композиты аутофибрин/гидроксиапатит, в которых аутофибрин уменьшает негативное влияние гидроксиапатита на эпителиоциты слизистой оболочки носа и щеки. Полученные результаты подтверждают необходимость использования композитов на основе гидроксиапатита в сочетании с компонентами крови (фибрин, плазма), исключающими прямой контакт гидроксиапатита со слизистыми оболочками. Следовательно, целесообразно использование аутофибрина в композите с гидроксиапатитом, так как при этом возрастают показатели неспецифической резистентности по отношению к гидроксиапатиту.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Vlasov R.A., Krut'ko V.K., Mel'nik V.F., Kulak A.I., Musskaya O.N., Moskaleva N.V. Non-specific hydroxyapatite resistance of epithelial cells. *Otorinolaringologiya. Vostochnaya Evropa*. 2016;6(4):579–586. (in Russian)
2. Danilevsky N.F., Borisenko A.V. Periodontal diseases. *Tutorial*. 2000:101–103.
3. Elovikova T.M., Karaseva V.V., Skurikhina Y.S., Koshcheev A.S., Epishova A.A. Assessment of non-specific resistance of the oral mucosa in smokers. *Problems of dentistry*. 2020;16(1):30–34.
4. Nihouannen D. Le, Guehenne L. Le, Rouillon T., Pilet P., Bilban M., Layrolle P., Daculsi G. Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 27(13):2716–22. DOI:10.1016/j.biomaterials.2005.11.038
5. Matsumoto K., Kohmura E., Kato A., Hayakawa T. Restoration of small bone defects at craniotomy using autologous bone dust and fibrin glue. *Surg. Neurol.* 1998;50(4):44–346.
6. Pradeep A.R., Bajaj P., Rao N.S., Agarwal E., Naik S.B. Platelet-rich fibrin combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled Clinical Trial. *J Periodontol*. 2017;88(12):1288–1296. DOI:10.1902/jop.2012.110722
7. Bogdanova E.A. Physical and chemical properties of bioactive composite materials based on calcium phosphates and organosilicon compounds [dissertation]. 02.00.04. Yekaterinburg; 2017(12):92–130.
8. Glazov I.E., Krut'ko V.K., Vlasov R.A., Musskaya O.N., Kulak A.I. Nanocomposites based on apatitic tricalcium phosphate and autofibrin. *News of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Sciences Series*. 2021;57(4):413–423. (in Russian)
9. Krut'ko V.K., Vlasov R.A., Musskaya O.N., Glazov I.E., Kulak A.I. Hybrid biomaterials based on hydroxyapatite and blood components. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series*. 2019;55(3):299–308. (in Russian)
10. Glazov I.E., Krut'ko V.K., Kulak A.I., Musskaya O.N., Vlasov R.A., Malachovsky P.O., Dileep Kumar V.G., Surya P.S., Mysore Sridhar Santosh, Narendra Reddy. Effect of platelet-poor plasma additive on the formation of biocompatible calcium phosphates. *Materials Today Communications*. 2021;12:10224. DOI:10.1016/j.mtcomm.2021.102224.
11. Gasparyan A.A. Features of the vaginal biocenosis during glucocorticoid therapy. *Obstetrics and gynecology*. 2015;(4):29–32. (in Russian)
12. Matveychuk I.V., Rozanov V.V., Litvinov Yu.Yu. Studying the biophysical properties of bone tissue for medical biological applications. *Almanac of clinical medicine*. 2016;44(2):193–202. Available at: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-2-193-202>.
13. Nazarov S.G., Grigoryan A.S. Effect of biogenic paste containing hydroxyapatite on the dynamics of osseointegration of direct implants. *Dentistry*. 2010;3:14–16.
14. Lu L., Walker W.A. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;73(Suppl):1124S–30S.
15. Law of the Republic of Belarus on medicines No 161-3 July 20, 2006. National Register of Legal Acts of the Republic of Belarus. Adopted by the House of Representatives on June 23, 2006.
16. Boytsov A.G., S.V. Rishchuk, Yu.Yu. Ilyasov, T.A. Grechaninov. Adhesion of lactobacilli to cells of the vaginal and buccal epithelium. *Bulletin of the St. Petersburg Medical Academy. I.I. Mechnikov*. 2004;4(5):191–193.
17. Pavlenko V.I. Diagnosis and treatment of immunodeficiency states: a textbook. Blagoveshchensk; 2017. P. 8–10.
18. Yudina Yu.V., Korsunsky A.A., Aminova A.I., Abdullaeva G.D., Prodeus A.P. Gut microbiota as a separate body system. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2019;8(4):36–43. Available at: <https://doi.org/10.17116/dokgastro2019804-05136>. (in Russian)
19. Ippolitov E.V. Monitoring the formation of microbial biofilm and optimizing the diagnosis of inflammatory periodontal diseases. 2016. 166 p. (in Russian)
20. Vlasov R.A., Melnik V.F., Merkulova E.P., Krutko V.K., Musskaya O.N., Fist A.I., Lesnikov L.A., Ulasevich S.A. Application of composite materials based on fibrin and hydroxyapatite hydrogel in rhinoseptoplasty *Otorhinolaryngology. Eastern Europe*. 2013;12(3):29–32. (in Russian)
21. Gurin A.N., Komlev V.S., Fedotov A.Yu., Berkovsky A.L., Mamonov V.E., Grigoryan A.S. Comparative characteristics of materials based on chitosan, alginate and fibrin in combination with β -tricalcium phosphate for osteoplasty (experimental morphological study) *Stomatology*. 2014;1:1–9. (in Russian)
22. WMA Declaration of Helsinki – a set of ethical principles for the medical community regarding research ethics and human experimentation. September 6, 2022 Available at: <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>.
23. Sokolovskiy S.V. Glycocalyx — birth of a new clinical paradigm. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2018;(4):22–29. Available at: <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology201804122>. (in Russian)